

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

LEHOCZKY ISTVÁN

**KAPOSVÁRI EGYETEM
ÁLLATTUDOMÁNYI KAR**

2006

Tartalomjegyzék

.....	1
1. Bevezetés.....	2
1.1. Előzmények.....	4
2. Célkitűzések.....	6
3. Szakirodalmi áttekintés.....	7
3.1.1. A ponty elterjedése, származása, alfajai és leírása.....	7
3.1.2. A ponty nemesítése, tógazdasági pontyfajták leírása és szaporítása.....	10
3.1.3. A ponty főbb genetikai jellemzői.....	14
3.2. A ponty gazdasági jelentősége.....	16
3.3. Hal génbankok a világban, ponty génbank Szarvason.....	19
3.4. A ponty molekuláris genetikai vizsgálatai.....	26
4. Anyag és módszer.....	35
4.1. A vizsgálatba vont génbanki fajták rövid leírása.....	35
4.2. DNS kivonás és tisztítás.....	41
4.3 A mikroszatellit DNS markerek vizsgálatának módszere.....	43
4.4. Az ND-3/4 és az ND-5/6 mitokondriális gének PCR-RFLP alapú vizsgálatának módszere.....	45
4.5. Adatelemzés.....	47
5. Eredmények.....	49
5.1. A mikroszatellit DNS markerek vizsgálatának eredményei.....	49
5.1.1. A fajtákon belüli genetikai változatosság leírása.....	49
5.1.2. A fajták közötti genetikai különbségek leírása.....	63
5.2. Az ND-3/4 és az ND-5/6 mitokondriális gének PCR-RFLP alapú vizsgálatának eredményei.....	70
6. Következtetések és javaslatok.....	72
7. Új tudományos eredmények.....	74
8. Összefoglalás.....	75
9. Summary.....	77
10. Köszönetnyilvánítás.....	79
11. Irodalomjegyzék.....	80
12. A témában megjelent publikációk listája.....	97
13. A témakörön kívül megjelent egyéb publikációk.....	102
14. Szakmai önéletrajz.....	105
15. Glosszárium.....	106
16. Mellékletek.....	108

mottó:

”... *semmi sem gyönyörködteti jobban a szemet, mint az ide-oda cikázó halak látványa; semmi sem frissíti fel jobban a nyári hőség által elcsigázott testet, mint a vizekben való járkálás; semmi sem üdíti jobban az elmét, mint az ott szembetűnő halak annyi sok fajának leírása...*”

(Bél Mátyás: *Tractatus de re rustica Hungarorum*)

1. Bevezetés

A ponty vad őse a Fekete-tenger, a Kaszpi-tenger, valamint az Aral-tó vízgyűjtő területein volt őshonos. Innen terjedt el azután keletre Szibériáig és Kínáig, valamint nyugatra a Duna vízgyűjtő területéig.

A faj tenyésztése és tartása több mint kétezer éves múltra tekint vissza. Házasítása két helyszínen egymástól függetlenül, az ókori Római Birodalom területén és Kínában zajlott le. Azóta elterjedt egész Európában és Ázsiában. Afrikába, Észak- és Dél-Amerikába, Ausztráliába és Óceániába az ember telepítette be.

Bár a ponty, mint áruhal jelentőségét sokan alábecsülik, tudnunk kell, hogy a pontytermelés nemcsak Magyarországon és a többi európai tradicionálisan pontyfogyasztó országban jelentős, hanem olyan hatalmas akvakultúrával rendelkező földrészen is, mint Ázsia, kiemelten Kína. Európában a második legnagyobb volumenben termelt édesvízi hal, a pisztráng után.

Legfontosabb étkezési halfajunk, a ponty tenyésztése Magyarországon évszázados hagyományokra tekint vissza. Gazdasági jelentősége messze felülmúlja az összes többi tenyésztett halfajunkét, bár a geotermikus vizeinkben tenyésztett halfajok tenyésztése is rohamosan fejlődik. Hazánkban a fogyasztói szokások is a pontynak kedveznek. Mivel belátható időn belül a ponty marad a magyar haltermelés központi halfaja és ezen faj tenyésztéséhez rendelkezünk a legtöbb tenyésztési tapasztalattal, valamint ehhez megfelelőek a természeti adottságaink is, fontos a faj minél jobb megismerése, beleértve genetikai tartalékainak felmérését is. Hazánk jelentős géntartalékokkal rendelkezik, amit a különböző hazai tájfajták kiváló tulajdonságai és a tenyésztőmunka során előállított hibridek kimagasló eredményei is mutatnak. A tájfajták megőrzése fontos feladat, mert a tenyésztői munka során mindig szükség lehet az eredeti fajtákhoz való „visszanyúlásra”. A tájfajták megőrzésében és a nemesítésben kulcsfontosságú szerepet játszik a Halászati és Öntözési Kutatóintézet (HAKI), mely szarvasi élő génbankjában több mint harminc hazai és külföldi pontyfajtát tart fent tiszta vonalban. Ezen fajtagyűjtemény a világ legnagyobb méretű ilyen jellegű intézménye.

A molekuláris biológia módszereinek fejlődése következtében ma már lehetőségünk nyílik arra, hogy a tájfajtákban rejlő jelentős génkincset pontosan felmérjük és az eredmények alapján megpróbáljunk olyan új hibrideket előállítani, melyek teljesítményükkel felülmúlják elődeiket. A génbank fajtakészletének nemzetközi jellegéből adódóan (ázsiai és európai fajták) a faj evolúciójának kutatásához is jó alapot nyújthat. Az unikális genetikai háttér (és annak ismerete) lehetőséget ad a betegségeknek ellenálló ponty változatok kialakítására egyszerű kiválasztással, vagy hagyományos genetikai módszerekkel. A DNS szintű vizsgálatok segítséget nyújtanak a génmegőrzési, természetvédelmi biológiai (konzervációbiológiai) munkában

is. Ezen új eszköztárral a kezünkben és felhasználva régi, hatékony módszereket, új, hatékonyabb szakasz kezdődhet a magyar pontytenyésztésben.

1.1. Előzmények

A Halászati és Öntözési Kutatóintézet (HAKI) ponty élő génbankjában **(Bakos, 1975; Gorda és mtsai., 1995)** található ponty tájfajtákat **Márián és mtsai. (1984)** vizsgálták fehérje (transzferrin) polimorfizmus segítségével, melynek során a vizsgált populációkban 4 allél jelenlétét mutatták ki. **Szerencsés és mtsai. (1990)** 10 génbanki populációt vizsgáltak hasonló módszerrel (transzferrin polimorfizmus) és 7 allél jelenlétét írták le. **Csizmadia és mtsai. (1993 és 1995)** ugyancsak transzferrin polimorfizmus segítségével vizsgáltak génbanki pontyfajtákat. A kutatók a 15 magyar és külföldi (köztük távol-keleti) pontyfajtában hét transzferrin allél jelenlétét mutatták ki. A magyar tájfajtákban ezek közül 6 (A, B, D, E, F és G) volt jelen, míg az egyéb európai fajtákban 5 (A, D, E, F és G) allélt tudtak kimutatni. Az ázsiai fajtákban mind a 7 allél (A, B, D, E, F, G és H) jelenlétét bizonyították. Jelen kutatás előzményeként **(Lehoczky és mtsai., 2002; Lehoczky és mtsai., 2005a)** az OMMI korábbi ponty fajtatesztjeiben részt vett öt tenyésztett hazai pontyfajta (tatai hátpikkelyes tükrősponty, biharugrai tükrősponty, szarvasi 215 tükrös hibrid ponty, tiszai nyurgaponty, dunai vadponty) és egy eredeti élőhelyén befogott kis-balatoni vadponty populáció egyedeinek genetikai variabilitását vizsgálták mikroszatellit DNS markerek alkalmazásával a Bécsi Állatorvostudományi Egyetemen.

A mikroszatellit lókuszok elemzése során nyert adatok szerint az átlagos megfigyelt heterozigotitás alacsonyabb volt ($H_o=0,557-0,764$), mint az átlagos várt heterozigotitás ($H_e=0,642-0,737$). Az egyetlen kivétel a Dunai vadponty populáció volt, ahol az átlagos H_o ($H_o=0,764$) meghaladta

az átlagos H_e -t ($H_e=0,642$). Öt lókusz esetében ugyanez a populáció rendkívül magas H_o értékeket mutatott ($H_o=1,00$).

A kapott F_{st} értékek ugyan nem bizonyultak magasnak (0,013-0,161), de statisztikailag erősen szignifikánsak voltak ($p<0,05$), lehetővé téve ezzel a fajták közötti különbségtételt.

A heterozigóták deficitjének valószínűségi értékei (p) a házasított állományok esetében többször voltak szignifikánsak.

2. Célkitűzések

A disszertáció tárgyát képező vizsgálatok főbb célkitűzéseit röviden az alábbiakban foglalom össze:

- A szarvasi Halászati és Öntözési Kutatóintézet (HAKI) génbankjából származó 15 hazai és külföldi pontyfajta genetikai változatosságának leírása mikroszatellit DNS markerek segítségével.
- A mikroszatellit lókuszokon az allélok számának és frekvenciájának leírása, egyedi allélok keresése.
- A fajták közötti genetikai távolság felmérése.
- Beltenyésztettségre utaló jelek vizsgálata.
- A Dunai és Tiszai vadponty génbanki állományainak vizsgálata a mitokondriális DNS változatosságának leírásával.

3. Szakirodalmi áttekintés

3.1.1. A ponty elterjedése, származása, alfajai és leírása

A ponty (*Cyprinus carpio* L.) a pontyfélék családjának (Cyprinidae) talán legismertebb faja. Napjainkban Európában és Ázsiában részben természetes elterjedésének, részben az ember tudatos telepítő tevékenységének köszönhetően, a legészakibb területek kivételével, gyakorlatilag mindenütt megtalálható. A ponty eredete mind a mai napig vitatott a hiányos őslénytani leletek miatt. **Komen (1990)** szerint igen keveset tudunk a vadponty eredeti elterjedéséről, ami nagymértékben köszönhető annak a ténynek, hogy nemesített változatok gyakran kijutottak a természetes vizekbe. Egyes szerzők - többek között **Kirpitchnikov (1999)** - szerint már a földtörténeti harmadkorban elterjedt volt az Eurázsiai kontinens vizeiben, de a jégkorszakok miatt az előfordulási területe keleti és nyugati részre szakadhatott. **Froufe és mtsai. (2002)** szerint a ponty Ázsiából származik, azonban jelenlegi ismereteink alapján nem állíthatjuk, de nem is zárhatjuk ki a ponty őshonos mivoltát a Duna vízrendszerében.

Balon (1974 és 1995) szerint a ponty eredeti, szűkebb őshazája Közép-Ázsia, ahonnan természetes úton terjedt el keleten Kínáig, nyugaton a Duna vízrendszeréig. Balon a régészeti leletek alapján kizárta előfordulását a jégkorszak előtti Európában.

A ponty későbbi kialakulását bizonyítja, hogy a pleisztocénben más halfajoktól eltérően nem jutott fel Skandináviába és a Brit-szigetekre és nem vándorolt át Észak-Amerikába, tehát a Távols-Keletre a két kontinens szétválása után juthatott el.

A ponty őse a Kaszpi-tenger térségében alakulhatott ki a pleisztocénben. A jégkorszak utáni hőmérsékleti optimum hatására egyes pontytörzsek eljuthattak Kelet-Ázsiába, az Aral-tó vízrendszerébe és a Fekete-tenger környékére.

Az eurázsiai vadon élő pontypopulációt (**Pintér, 1989**) az alábbiak szerint osztályozta:

1. Az európai vadponty (*C. carpio carpio*)
2. A kelet-ázsiai vadponty (*C. carpio haematopterus*)
3. Az Aral-tó és más közép-ázsiai vizek vadpontyai, amelyek átmeneti formát képeznek

Később **Kirpitschnikov (1999)** a hátúszóban található lágy úszósugarak, az oldalvonal mentén található pikkelyek száma, valamint a csigolyák és kopolyúívek varsafogainak száma alapján 5 alfajt határozott meg:

- európai-transzkaukázusi ponty (*C. carpio carpio*)
- közép-ázsiai-ponty (*C. carpio aralensis*)
- távol-keleti-ponty (*C. carpio haematopterus*)
- észak-vietnami ponty (*C. carpio viridiviolaceus*)
- indonéziai ponty.

A faj egyedeinek szája csúcsba nyíló, harmonikaszzerűen kitolható. Négy bajuszszála közül 2 rövidebb a felső ajkon, 1-1 hosszabb pedig a száj szegleteinél található. Hosszú alapú hátúszójában III-IV kemény és 16-22 osztott sugár található. Az utolsó kemény sugár a hátsó részén fogazott, ezt a sugarat hívja a köznyelv bognártüskének. A rövid farok alatti úszóban III kemény és 5-6 osztott sugár van. Az utolsó kemény sugár tüskeszerű, hátsó részén fogazott. Jól fejlett farokúszója mélyen kivágott. Pikkelyei nagyok. A teljes pikkelyzetű vad- és tógazdasági pontyoknál az oldalvonal

pikkelyeinek száma 33 és 40 között változik. Az oldalvonal alatt és felett egyaránt 5-6 pikkelysor található **(Pintér, 1989)**.

A ponty színe nagy változatosságot mutat. A hát legtöbbször sötét olajzöld, vagy olajbarna. A test két oldalán a zöldessárga szín dominál, míg a has sárgásfehér vagy fehér. Előfordulnak albínó, kékes alapszínű és narancsvörös példányok is. Ez utóbbiak szórványos előfordulása tógazdasági pontyaink között egy 1910-ben Japánból történt importtal volt magyarázható. Mivel a távol-keleti származású színes díszponty (koi) tenyésztése hazánkban is teret hódított, természetes vizeinkben is megjelentek és elterjedtek a piros vagy tarka színezetű pontyok. Az úszók szürkés színűek, a páros úszók és farok alatti úszó vörhenyes **(Pintér, 1989)**.

3.1.2. A ponty nemesítése, tógazdasági pontyfajták leírása és szaporítása

Kirpitchikov felosztásának megfelelően az európai-transzkaukázusi alfajból vezethetők le az európai vizekben élő vadpontyok és a tógazdasági nemes pontyok az ember domesztikációs tevékenysége eredményeként.

Mivel a ma tenyésztett pontyfajtáink jelentős része a nyugat- és közép-európai tenyésztett fajtákból, valamint a magyarországi vadon élő populációkból ered, fontosnak tartom a ponty tenyésztéstörténetének ismertetését.

A ponty tudatos szelekciója a XIV-XV. században kezdődött. Ekkor mutáció útján létrejöttek a hiányos pikkelyzetű tükrös fajták, melyeket később tovább tenyésztettek. Ekkoriban az európai pontynemesítésben a cseh és lengyel tenyésztők jártak az élen, akik négy-öt éven keresztül mély tavakban nevelték a pontyot (**Bakos, 1968a**).

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. Dubics módszere szerint a halakat kis ívató tavakban szaporították, majd az ivadékot fokozatosan egyre nagyobb tavakba helyezték át.

Magyarországon a XIX. század végén Herman Ottó segítségével Corchus Béla a pontyra alapozva létrehozta az első tógazdaságot Simontornyán. A századfordulóra már különböző pontyfajták találhatóak az országban, melyek eltérő testformájúak, színezetük és pikkelyzetük különböző. Ilyen klasszikus fajták az aischgrundi, a csehországi, a frankóniai, a luzsikai és a galíciai pontyok (**Pintér, 1989**). Ezek közül a legnagyobb tenyésztői múltra az aischgrundi ponty tekint vissza, melyet 300 éven keresztül szelektáltak, mire kialakult a mai magashátú, nagyranövő tükrös változat. Ez a ponty

eredeti tenyésztési helyéről eltűnt, ma a dinkelsbühli pontyot tenyésztik, mint közvetlen leszármazottját. A csehországi, vagy bohémiai ponty szabályos pikkelyzetű, megnyúltabb testformájú, a magasabb régiókban fekvő, hegyi patakok által táplált enyhén savas vizű tavakban való tenyésztésre és tartásra nemesítették. A galíciai pontyot a század elején A. Gasch nemesítette. Jellemző volt rá a helyi fajtáknál nagyobb növekedési erély, ezért szívesen használták keresztezésekhez (**Bercsényi, 1997**).

Az 1950-es évek végére már a hazai pontytenyésztésben is kialakultak az önálló tájfajták, melyek a nagyobb tógazdaságok reprezentánsai. Kialakulásukban jelentős szerepe volt a röghatásnak, illetve az eltérő szelekciós és tenyésztési szempontoknak, melyek minden esetben a helyi tenyésztésvezető elképzeléseinek, valamint a piac igényeinek megfelelően változtak (**Bakos és mtsai., 1997**).

A ponty testalakja örökletes alapon és környezeti tényezők hatására jelentős változékonyságot mutat. E változékonyság a természetes vizekben élő vadpontyokra és a háziasított tógazdasági pontyokra egyaránt jellemző. A test magasságának, szélességének és hosszúságának jellemzésére a pontynál négy mutató használatos: a profilindex (a testhosszúság és a testmagasság hányadosa), a keresztmetszetindex (a testmagasság és a testszélesség hányadosa), a fejindex (a testhosszúság és a fejhosszúság hányadosa) és a faroknyélindex (testmagasság és a faroknyélhossz hányadosa). A vizeinkben élő vadpontyok két formáját különböztetjük (**Schäperclaus, 1961**) meg: a nyurga pontyot (*C.c. morpha hungaricus*) és a tőpontyot (*C.c. morpha acuminatus*). A nyurgaponty teste nyújtott, hengeres. Profilindexe 3,5-4,5, keresztmetszetindexe 1,4-1,8; fejindexe 3,8-4,3; faroknyélindexe 1,4-2,0 értékhatárok között változik. A tőponty a magasabb hátú, rövidebb testhosszúságú, oldalról viszonylag lapítottabb forma. E formánál a profilindex 2,8-3,5; a keresztmetszetindex 1,5-2,0; a

fejindex 3,6-4,1; a faroknyélindeks 1,6-2,2 között van. Az európai pontynemesítés alapját képező, ún. klasszikus tógazdasági pontyfajtákat **Jászfalusi (1954)** két csoportba sorolta. Véleménye szerint az egyenes hátívelésű pontyok közé tartoznak a Frank, a Lausitzi, a Wittingauai és az Ukrajnai fajták (profilindex: 2,6-3,0; keresztmetszetindex: 1,5-1,8), a hirtelen hátívelésű pontyok körébe pedig az Aischgründi és Galíciai pontyok (profilindex: 2,0-2,6; keresztmetszetindex: 1,8-2,2). A magyar tógazdaságokban az utóbbi évtizedekben a 2,2-2,4 közötti profilindexű tájfajták és nemesített fajták tenyésztése vált általánossá (**Pintér, 1989**).

A tógazdasági pontyok négy pikkelyezettségi típusát különböztetjük meg, úgymint a pikkelyes, a tükrös, az oldalsoros és a csupasz (bőr-) pontyot. A pikkelyes ponty pikkelyzete teljesen zárt, testét a fej és az uszonyok kivételével mintegy 1300 darab pikkely összefüggő, szabályos sorokba rendeződő takarója borítja. A tükrös ponty klasszikus jellemzése szerint testén szabálytalanul elszórt pikkelyek találhatók. Ezek gyakran bizonyos rendszer szerint csoportosulnak és a különböző változatok, átmeneti formákkal többé-kevésbé megbízható módon öröklődnek. Tógazdaságainkban a tükrös ponty hátsoros változatát tenyésztik. Az oldalsoros ponty nevét onnan kapta, hogy teste két oldalán az oldalon mentén nagy pikkelyekből álló pikkelysor húzódik a fejtől a farokúszóig, ezen kívül a hát felső élvonalát és a has alsó élet is pikkelysor takarja. A csupasz ponty testén nem visel pikkelyeket, de ritkán előfordul, hogy az úszók tövében elszórva, sőt a hátúszó két oldalán szabályos sorba rendeződve is találunk rajta (**Bakos, 1968b**).

A ponty szaporodása minden olyan területen bekövetkezhet, ahol a víz hőmérséklete 3-4 hónapon keresztül eléri a 20°C-ot és az egyéb környezeti tényezők is megfelelőek. A fent említett környezeti tényezők a lassú tavaszi felmelegedés, valamint a megfelelő oxigéntartalom. Fontos

még, hogy a halak frissen elöntött füves területeket találjanak és mindkét ivar egyedei jelen legyenek (**Horváth és mtsai., 1984**). Korábban a ponty szaporítása ellenőrzés nélkül, spontán történt, vagy a felnevelésre szánt természetes szaporulatból származó lárvákat folyókból, tavakból gyűjtötték össze (**Billard és mtsai., 1995**). A kistavas pontyívatás módszere a XIX. század második felében terjedt el. Ekkoriban füves aljzatú néhány száz négyzetméteres tavakban ívatták a pontyot. A kikelt lárvát az ívást követő néhány nap elmúltával áthelyezték a termelő tavakba (**Herman, 1887**). Az időjárás nagymértékben befolyásolta az eljárás sikerességét, ezért az északi országokban gyakran teljesen kudarcba fulladtak az ilyen jellegű próbálkozások (**Billard és mtsai., 1995**).

A mesterséges pontyszaporítás technológiájának kidolgozásához a magyar kutatók külföldi kutatók módszereit (hormonindukció) használták fel, ezzel kiküszöbölhető a parciális ovulációból adódó részleges ikranyerés (**Pintér, 1989**). A szaporodásbiológiai adatok begyűjtése és leírása a mai modern módszerekkel végzett pontyszaporítások során már nem jelent problémát (**Horváth, 1980**). Manapság több módszerrel is folyik a ponty szaporítása: természetes vízi ívatás, hormonkezelés utáni ívatás, valamint a keltetőházi szaporítás (**Horváth és mtsai., 1984**). A mesterséges pontyszaporítás módszerét **Woyarovich (1954; 1962)** dolgozta ki. Az ikra ragadósságát száraz termékenyítés után sós-karbamidos oldattal közömbösítette, majd az így kapott különálló ikraszemeket Zuger üvegekben érlelte. Az ikra ragadósság elvételének módszere nagyon hosszú időt vett igénybe, ezért a módszert később továbbfejlesztették és a szükséges kezelési időt lerövidítették (**Woyarovich és Woyarovich, 1980**). Fontos megemlíteni, hogy a ponty keltetőházi mesterséges szaporítása, ha azt szakszerűtlenül, alacsony számú szülőállománnyal végzik, magában hordozza annak a lehetőségét, hogy az adott fajta genetikai változatossága

beszűkül, egyes allélok elvesznek, másoknak nagymértékben megváltozik a populációban a gyakorisága. Rossz szaporítási gyakorlattal ilyenformán nagyon könnyű populációs palacknyak (bottleneck) jelenséget létrehozni, ami mindenképpen kerülendő.

3.1.3. A ponty főbb genetikai jellemzői

A pontyfélék családjában a legelterjedtebb diploid kromoszómaszám az 50. Az 52, 48, 46 vagy 44 kromoszómával rendelkező fajok száma sokkal kevesebb (**Kirpitschnikov, 1999**). A pontyot, melynek diploid kromoszómaszáma 100 és sejtjei DNS tartalma jóval magasabb a rokon fajokénál, a genomduplikáción átesett fajok közé sorolják (**Makino, 1939**). Ezt támasztja alá **Várad** (**2000**) későbbi vizsgálata is, miszerint a magasabb rendű taxonómiai csoportokba tartozó halak esetén nemzetségen belül, illetve fajok között is lehetnek eltérések a kromoszómaszámot illetően. A kutatók a ponty genomjának duplikálódását mintegy 12 millió évvel ezelőttre teszik (**David és mtsai., 2003; Kirpitschnikov, 1999**). A genomduplikáció szerepet játszhat a ponty rendkívüli alkalmazkodóképességében is (**Horváth és Urbányi, 2000**).

Korábbi nézetek szerint a ponty nem rendelkezik szex-kromoszómával (**Makino, 1939; Ojima és Hitotsumachi, 1969**), de ez a feltételezés mára megdőlt, mivel az ivari öröklődés vizsgálatánál a későbbiekben bebizonyosodott, hogy a ponty esetében is léteznek ivari kromoszómák, melyek hasonlóan az ember ivari öröklődéséhez X és Y kromoszómák által örökítettek. Az is bizonyítottá vált, hogy a női ivarsejtek csak X, míg a hím ivarsejtek X vagy Y kromoszómát hordoznak, így az utódok nemének meghatározása a spermium sejtektől, azaz a hím egyedektől függ (**Nagy és mtsai., 1981**). Ezt bizonyítják a gynogenezissel

folytatott kísérletek is, amikor az inaktivált genetikai állományú spermiumokkal történt termékenyítés után meiotikus gynogenezis esetén az utódok 100 %-ban nőivarúak lettek (**Nagy és mtsai., 1978; Sumantadina és mtsai., 1990**). Az androgenézis alkalmazása XY típusú ivaröröklődésnél az első nemzedékben 50 % XX genotípusú és 50% YY genotípusú utódot eredményez, amely hímek további szaporításakor az utódok már 100 %-ban XY genotípusú hím egyedek lesznek (**Horváth és Orbán, 1995**).

3.2. A ponty gazdasági jelentősége

A világ tengerei és óceánjai véges erőforrást jelentenek. A halászat nem fokozható a végletekig. Az akvakultúra szerepe ezért a jövőben várhatóan nőni fog. A FAO 2002-es jelentésében jól (FAO, 2002) látszik ez a folyamat. Az **1. táblázatban** található adatokból láthatjuk, hogy míg a tengeri és természetes vízi halászsákmány csökken, vagy stagnál (a teljes halfogás 93,5 millió tonnáról 91,3 millió tonnára csökkent 1996 és 2001 között), addig az akvakultúrával megtermelt halmennyiség 26,7 millió tonnáról 37,5 millió tonnára emelkedett. Mindeközben az egy főre jutó halmennyiség 15,3 kg-ról 16,2 kg-ra nőtt.

A világon évente akvakultúrával előállított ponty mennyisége megközelíti a 3 millió tonnát, amivel az ötödik helyet foglalja el a rangsorban. Ezzel a mennyiséggel olyan fajokat előz meg, mint a ma a világon széles körben tenyésztett nílusi tilápia és az atlanti lazac. A két faj 1 millió tonna körüli megtermelt mennyiségével csak a 9. és a 10. helyet foglalja el a rangsorban (FAO, 2002).

1. táblázat A világ halászsákmánya, haltermelése és fogyasztása (FAO, 2002)

	1996	1997	1998	1999	2000	2001
(millió tonna)						
Produkción						
Édesvíz						
Term.vízi fogások	7,4	7,5	8	8,5	8,8	8,8
Akvakultúra	15,9	17,5	18,5	20,1	21,4	22,4
Édesvízi összesen	23,3	25	26,5	28,6	30,2	31,2
Tengeri						
Halászat	86,1	86,4	79,3	84,7	86	82,5
Akvakultúra	10,8	11,1	12	13,3	14,2	15,1
Tengeri összesen	96,9	97,5	91,3	98	100,2	97,6
Halászat összesen	93,5	93,9	87,3	93,2	94,8	91,3
Akvakultúra összesen	26,7	28,6	30,5	33,4	35,6	37,5
A világ teljes halprodukciója	120,2	122,5	117,8	126,6	130,4	128,8
Felhasználás						
Emberi fogyasztás	88	90,8	92,7	94,4	96,7	99,4
Nem étkezési célú	32,2	31,7	25,1	32,2	33,7	29,4
A világ lakossága (milliárd fő)	5,7	5,8	5,9	6	6,1	6,1
Egy főre jutó halmennyiség (kg)	15,3	15,6	15,7	15,8	16	16,2

2. táblázat Magyarország teljes haltermelése 1999 és 2004 között (Pintér, 2001, 2002, 2003, 2004 és 2005)

Év	Tógazdasági és intenzív üzemi termelés (t)		Természetes vízi halászat (t)		Összesen	
	bruttó	étkezési	bruttó	étkezési	bruttó	étkezési
1999	19123	11947	7514	7105	26637	19052
2000	19904	12852	7101	6810	27005	19662
2001	19116	11574	6750	6438	25866	18012
2002	19442	13050	6638	6138	26080	19188
2003	19003	11574	6536	6118	25539	17986
2004	20513	12744	7242	6817	27755	19561

A világon tapasztalható trendhez hasonlóan a ponty Magyarországon is elsősorban tógazdasági termelésből származik és csak kisebb része a természetesvízi fogásból. Az összes pontytermelésen belül a természetesvízi fogás 18-19 %, míg a tógazdasági termelés részaránya 81-82 %. Más oldalról megközelítve a kérdéskört láthatjuk, hogy a természetes vizeinkből és víztározóinkból kikerülő halászszákmány 39-45 %-át a ponty teszi ki, míg a tógazdasági termelésben 70 %-ot meghaladó részarányt képvisel **(Pintér, 2001, 2002, 2003, 2004 és 2005)**.

A magyarországi pontytermelés gazdasági jelentőségének értékelésekor fontos figyelembe venni azt is, hogy bár Magyarország bőven elegendő mennyiségű pontyot termel a belső szükséglet kielégítésére, a 2000-ben regisztrált 28,5 tonnás importhoz képest a behozott élő ponty mennyisége 2003-ban már meghaladta a 442 tonnát, ami tizenötszörös importnövekedést jelent 3 éven belül miközben exportunk nem növekedett jelentősen 2005-ig **(Pintér, 2001, 2002, 2003, 2004 és 2005)**.

A fentebb leírtakból jól látszik, hogy a ponty gazdaságilag jelentős halfaj a világon, Magyarországon pedig elsődleges a szerepe a haltermelésben.

3.3. Hal génbankok a világban, ponty génbank Szarvason

A biológiai sokféleség megőrzésének szükséges voltát már nagyon sokan felismerték, ami a halak esetében legalább annyira fontos, mint az egyéb gerincesek esetében (**Wheeler és Sutcliffe, 1990**). A halak biológiai sokféleségének megőrzését olyan tényezők nehezítik, mint az ismeretek hiánya, a fajgazdagság, valamint a halak hátrányos helyzete a prioritási listán. Ismereteink zöme a nagy mennyiségben tenyésztett és világszerte elterjedt fajokra (lazacfélék, tilápia, ponty) korlátozódik (**Thorpe és mtsai., 1995**). A fajmegőrzés szükséges voltát az embernek a természetbe való durva beavatkozásai indokolják, melyek megváltoztatják a környezeti tényezőket. A leglátványosabb példák az ilyen jellegű beavatkozásokra a duzzasztógátak, vízi-erőművek, kikötők építése, valamint a folyószabályozás. Kevésbé feltűnő, de ugyancsak fontos hatásként jelentkezik a növényzet faji összetételének megváltozása, a vízben lévő táplálékszervezetek cserélődése, a hőviszonyok átalakulása és a megvilágítottság fokozódása vagy mérséklődése (**Zalewski és mtsai., 1991**). Jelentősen megváltozhat a vízmennyiség is valamely területen az ipar, az öntözés vagy a háztartások számára történő vízkivétel miatt (**Peters, 1982**). A biotikus tényezők és a kémiai paraméterek hirtelen változásai is okozói lehetnek az egyes fajok eltűnésének (**Li és mtsai., 1987**). Az ember a környezeti tényezők megváltoztatásán kívül a halászattal és a haltenyésztéssel is jelentősen befolyásolja egyes halfajok természetes populációit. A halak közül viszonylagos fajgazdagságukhoz (kb. 20.000 ismert faj) képest csak néhány fajt vontak eddig sikeresen tenyésztésbe. A többi fajt természetes környezetében halásszák és a teljes halfogyasztás jelentős része még ma is a természetes vízi halászaton alapul (**Thorpe és**

mtsai., 1995). A szelektív halászat, amelynek során csak a piaci szempontból értékes halakat fogják ki, olyan szelekciós nyomást hoz létre, amely veszélyezteti a genetikai változatosságot is (**Law, 1991**).

Az akvakultúra helyzete és szerepe a génmegőrzés terén speciális. Mivel a legtöbb faj az elmúlt 30 év során került a tenyésztésbe és a tenyésztés alapját vad populációk képezték, így a genetikai anyag forrása a természetben mind a mai napig fellelhető. Ugyanakkor a legtöbb tenyésztett halfaj természetesvízi populációi még mindig a halászat célpontjai is. Ily módon gyakran előfordul, hogy a vad populációkba a tenyésztésből származó egyedek kerülnek be, melyek gyakran megváltoztatják az adott populáció genetikai összetételét (**Hansen és mtsai., 1991**). Ha ellenkező oldalról vizsgáljuk a problémát, azt látjuk, hogy a befogott és tenyésztésre szánt egyedek csak kis részét képezik a vadon élő populációnak, így genetikai állományuk nem reprezentálja a teljes populáció genetikai állományát. Ilyen esetekben sokszor komoly problémát okozhat a beltenyésztés, valamint a magas szintű genetikai sodródás. Tovább rontja a helyzetet, hogy gazdasági megfontolásból csak viszonylag alacsony számú szaporító állományt tartanak fent. Ráadásul a betegségek behurcolását gyakran úgy akadályozzák meg, hogy az egyes tenyészetek között nem vagy csak minimális szinten cserélnek állományokat. A fent leírtak mind a genetikai változatosság csökkenését, valamint génsodródást és a beltenyésztettség növekedését idézik elő (**Thorpe és mtsai., 1995**). A genetikai változatosság megőrzésének több módszere ismert. A fenntartási forma szerint beszélhetünk *in-situ* és *ex-situ* megőrzésről. Az *in-situ* megőrzés az adott faj eredeti élőhelyén való fenntartását jelenti, mely lehetséges például az ökoszisztéma megőrzésével vagy a faj védelmével. Az ökoszisztéma megőrizhető nemzeti parkok területén, érintetlen védett területeken vagy tengeri kíméleti szakaszokon, ahol a faj és az egész

rendszer elkülöníthető és megvédhető a káros külső hatásoktól. A módszer hátránya, hogy területigénye nagy és nem védett a természeti katasztrófáktól (árvíz, tűz, földrengés). A faj konzerválása elérhető kéméleti területek létrehozásával az életterén, mesterséges szaporítással vagy a halászat (általában túlhalászás) mértékének drasztikus csökkentésével.

Az *ex-situ* megőrzés mindig mesterséges körülmények közötti fenntartást és megőrzést jelent, mely elvégezhető az élő egyedek begyűjtésével vagy az ivartermékek gyűjtésével és konzerválásával. Az élő egyedek lehetnek a természetből befogott állatok fogságban tartott leszármazottai vagy maguk a szabad természetből befogott tenyészegyedek. A konzerválni kívánt genetikai anyag megőrzése történhet spermatárolással, valamint embriókonzerválással (**Thorpe és mtsai., 1995**).

A világ számos országában alakítottak ki a gazdaságilag fontos halfajok genetikai változatosságának megőrzésére mind *ex-*, mind *in-situ* génbankokat. Ezek a génbankok főképp fajtamegőrzésre szolgálnak, hiszen a tenyésztett halfajokat nem fenyegeti a kipusztulás veszélye, sokkal inkább az egyes fajták genetikai állományának beszűkülése (bottleneck jelenség), valamint a génsodródás (genetikai drift).

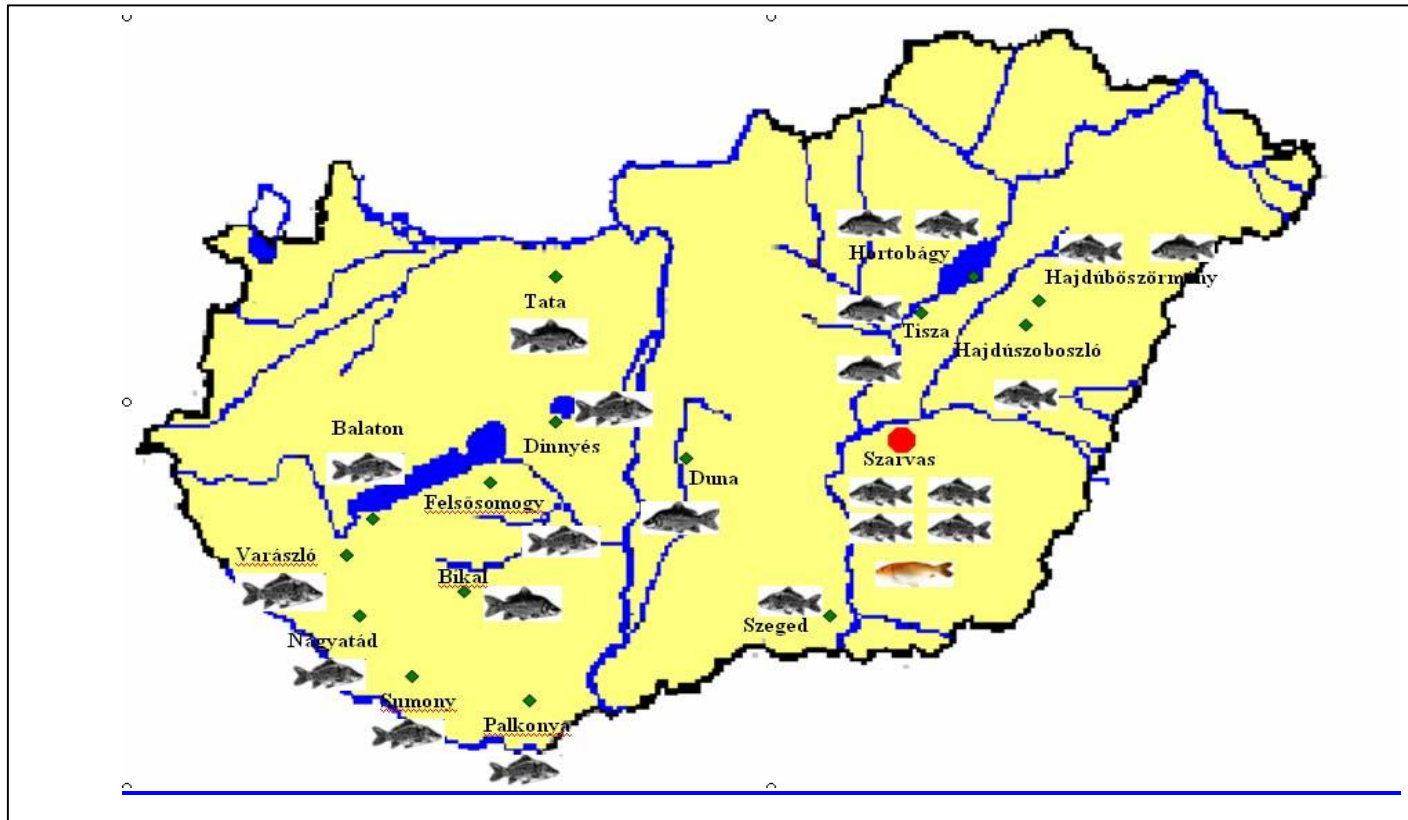
Indonéziában két helyi, négy kínai, két tajvani, egy holland és egy japán ponty változatot tartanak fenn *ex-situ* élő génbankban (**Sumantadina, 1995**). A vietnami RIA No1. (Research Institute for Aquaculture) intézetben nyolc helyi fajta mellett cseh, magyar, ukrán és indonéz fajtákat is fenntartanak (**Thien és Trong, 1995**). Indiában a hal génbankok főként tenyésztési, fajtajavítási célokat szolgálnak mind a ponty, mind pedig az indiai pontyok esetében (**Ayyappan és mtsai., 2001**). Kínában is jelentős méretű génbankokat állítottak fel, egyrészt az őshonos ponty és egyéb kínai növényevő halfajok megőrzésére, másrészt a behozott tilápia változatok

fenntartására is (Li, 2001). A fülöp-szigeteki ICLARM- ban (The International Center for Living Aquatic Resources Management), mai nevén WorldFish Center, Penang, Malaysia, miközben új tilápia (*Oreochromis niloticus*) fajtákat hoztak létre és nemesítettek, létrehoztak egy jelentős tilápia génbankot is, melynek segítségével bármikor reprodukálható az eredeti genetikai állomány, emellett a SEAFDEC (Southeast Asian Fisheries Development Center) központban garnélarák génbankot is létrehozta (Basiao, 2001).

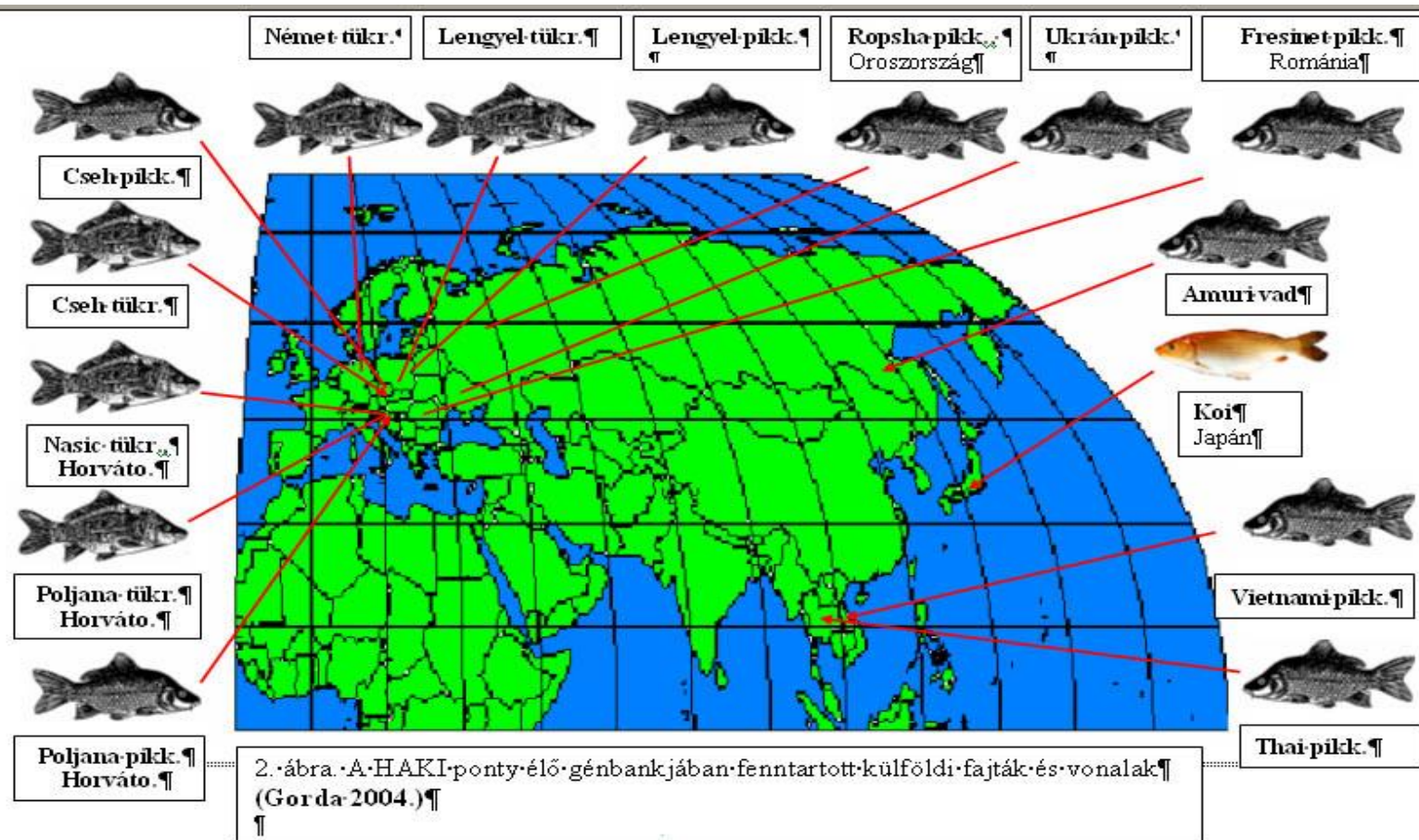
Európában minden jelentős pontytenyésztő ország tart fenn génbankot. Csehországban az in-situ megőrzésre helyezték a fő hangsúlyt. Az egyes halfajok, fajták, tájfajták megőrzési és fenntartási helyeül a nemesítő, valamint a tenyésztő gazdaságokat jelölték ki (Flajshans és mtsai., 1998; Flajshans és mtsai., 1999). Mindemellett a genetikai változatosság megőrzése érdekében kialakítottak egy ex-situ génbankot is, ahol több faj spermáját konzerválták. Lengyelországban (Irnazarow, 1995), Ukrajnában (Serman és mtsai., 1999) és Oroszországban (Kirpitchenkov, 1999) szintén fenntartanak ponty génbankokat, ahol hazai és külföldi fajtákat őriznek.

Magyarországon a nemesítők munkája, valamint a „röghatás” miatt a tógazdaságok jelentős része az 1950-es években már rendelkezett saját tájfajtával (sumonyi, bikali, tatai, stb.). A 60-as években megjelentek az első hazai pontyhibridek, melyek 15-20%-al jobb eredményt értek el a termelésben, mint a létrehozásukhoz használt eredeti fajták. A halak élve szállítása is leegyszerűsödött ebben az időszakban, aminek következtében az addig egymástól elzárt populációk keveredése is megindult. A hibridek megjelenése ugyancsak segítette a tájfajták kiszorulását a termelésből, és ezzel együtt létüket is fenyegette. A keveredési, kiszorulási folyamat megindulása előtt vetődött fel egy ponty élő-génbank létrehozásának

gondolata. A feladatot Dr. Bakos János végezte el, aki a szarvasi Halászati és Öntözési Kutató Intézetben (HAKI) összegyűjtötte a Magyarországon fellelhető tájfajtákat (**Bakos, 1975**). Később a génbank további magyar és külföldi tájfajtákkal, fajtákkal bővült. A génbank elsődleges feladata kezdetben a különböző 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, a génbank szerepe is megváltozott. Fő feladatává a megőrzés, a különböző pontyfajták, tájfajták eredeti genetikai háttérrel való fenntartása vált. A génbankban ma 17 hazai és 15 külföldi pontyfajtát őriznek. Ezek közül néhány az eredeti kialakulási, tenyésztési helyén ma már nem található meg. Ilyenek a hazai tájfajták közül a palkonyai, a sumonyi, míg a külföldi fajták közül a nasici és a poljanai fajták. A hazai tájfajták származási helyét az **1. ábra** mutatja be. A külföldi fajták és tájfajták eredete a **2. ábrán** látható. A génbank létrehozásának eredeti célja szerinti keresztezési és hibridizációs kísérletek eredményként 1993-ig 3 államilag elismert ponty hibridet hoztak létre az intézetben. Ezek a hibridek a 80-as évek közepén a magyar pontytermelés 80 %-át adták (**Bakos és Gorda 1995; Gorda és mtsai 1995; Bakos és Gorda, 2001**).



1. ábra A HAKI ponty élő génbankjában fenntartott hazai fajták és vonalak
(Gorda, 2004)



3.4. A ponty molekuláris genetikai vizsgálatai

A genetikai változatosság megőrzése alapvető fontosságú mind az állattenyésztésben, mind pedig a vadon élő állat és növényfajok esetében. Ez a változatosság teszi lehetővé az élőlények alkalmazkodását a változó környezeti tényezőkhez, valamint az állattenyésztésben biztosítja azt az alapot, amire a különböző tenyésztési és szelekciós programok épülnek.

A vadon élő és tenyésztett állatfajok populációi - köztük számos halfaj - genetikai változatosságának tanulmányozására többféle módszert dolgoztak ki. Kezdetben vércsoportvizsgálatokat alkalmaztak területileg elkülönült halpopulációk vizsgálatára (**Sick, 1961**). A módszer gyenge pontja az volt, hogy az eredményeket nehezen lehetett megmagyarázni és a megfigyelt változatosságot nem lehetett egy adott lókuszhoz kötni. A kutatók ezután különféle allozim- és izoenzimrendszerek vizsgálatát alkalmazták genetikai változatosság felmérésére (**Hunter és Markert, 1957**). A halászati kutatásokkal foglalkozók főleg halpopulációk szerkezetét vizsgálták ezzel a módszerrel (**Moller, 1970; Avise és Smith, 1974; McElligott és Cross, 1991**). **Sumantadina és Taniguchi (1990)** 6 indonéz és 3 japán ponty fajtát vizsgált. 11 izoenzim és allozim polimorfizmus vizsgálata során 23 lókuszt azonosítottak. A vizsgált lókuszek közül csak öt volt polimorf az indonéz és 8 a japán fajták esetében. Az allélok átlagos száma lókuszonként nem haladta meg az 1,39-et. **Irizarow (1995)** 7 beltenyésztett magyar és lengyel pontyvonal genetikai variabilitását vizsgálta allozimrendszerek és vörös vérsajt izoenzimek segítségével. A polimorfizmus nem volt nagymértékű. Az allélok átlagos száma 1,41 és 1,58 között mozgott. Hazánkban először a Halászati és Öntözési Kutatóintézet (HAKI) ponty élő génbankjában (**Bakos, 1975; Gorda és mtsai., 1995**) található pontyfajtákat

vizsgálták fehérje (transzferrin) polimorfizmus segítségével (**Márián és mtsai., 1984**), melynek során a vizsgált populációkban 4 allél jelenlétét mutatták ki. **Szerencsés és mtsai. (1990)** 10 génbanki populációt vizsgáltak hasonló módszerrel (transzferrin polimorfizmus) és 7 allél jelenlétét írták le. **Váradai és munkatársai (1993)** a Dinnyési Ivadéknevelő Tógazdaság egynyaras pontyállományának genetikai struktúráját vizsgálták és jellemezték kodomináns öröklődésű polimorf enzimekkel és fehérjékkel (transzferrin, észteráz, albumin). **Csizmadia és munkatársai (1995)** 15 -a szarvasi génbankból származó- pontypopuláció genetikai variabilitását vizsgálták transzferrin polimorfizmus felhasználásával. A kutatók 7 allél jelenlétét figyelték meg. A 15 populációban a 7 allél húszféle variációját, vagyis 20 különböző „transzferrin-genotípust” detektáltak.

Annak érdekében, hogy a variábilis genetikai markerek számát növeljék, a kutatók a 80-as évek elején a DNS szekvencia közvetlen vizsgálatával kezdtek el foglalkozni. Eleinte a mitokondriális DNS-t (**Lansman és mtsai., 1981; Bermingham és mtsai., 1991**) valamint az ugyancsak mitokondriális eredetű riboszomális RNS-t (**Cutler és mtsai., 1991**) vizsgálták RFLP (restriction fragment length polymorphism) módszerrel. A mitokondriális DNS polimorfizmusai a későbbiekben is hasznos eszköznek bizonyultak az édesvízi és tengeri halak filogenezisének vizsgálata során (**Avise, 1994; Bernatchez és Wilson, 1998**). **Bermingham és munkatársai (1991)** amerikai és európai eredetű atlanti lazac (*Salmo salar* L.) populációk között kerestek különbségeket a mitokondriális DNS RFLP vizsgálatával. Húsz restriktív enzimet használtak a mtDNS emésztésére, 7 olyan restriktív helyet találtak, amely lehetővé teszi a különböző eredetű halak megkülönböztetését. Később a kutatás a DNS molekula specifikus területeinek szekvenálása (**Bernatchez és mtsai., 1992**) irányába mozdult el.

Ezután RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) (Welsh és McClelland, 1990; Dong és Zhou, 1998) és RFLP módszerekkel (Pogson és mtsai., 1995) a genomikus DNS-t vizsgálták. Gross és munkatársai (2002) európai és kelet ázsiai pontyfajták mitokondriális NADH dehidrogenáz enzimjének 3., 4. és 5., 6. alegységeinek génjeit vizsgálták PCR-RFLP módszerrel. A vizsgált 8, illetve 6 restrikciós endonukleáz enzim közül a NADH-3,4 gén esetében négy, míg a NADH-5,6 gén esetében kettő alkalmas az európai és a kelet-ázsiai fajták elkülönítésére.

A fent említett markerek nem nyújtottak elég információt, vagy kiértékelésük volt bonyolult, ezért a későbbi vizsgálatok inkább a VNTR-ekre (variable number tandem repeats = változó számú tandemismétlődések) összpontosítottak. Kezdetben a multilókuszos miniszatellit "ujjlenyomatokat" (fingerprint) alkalmazták az atlanti lazac (Taggart és Fergusson, 1990a) és a nílusi tilápia (Carter és mtsai., 1991; Harris és mtsai., 1991) fajok esetében, de ezek erősen összetett mintázatot mutattak, amit nagyon nehéz volt elemezni (O'Connell és Wright 1997). Ráadásul a különböző gélek sem voltak összevethetőek. Ezen nehézségek kiküszöbölésének érdekében a kutatók az egy lókuszos miniszatellit DNS próbák (Taggart és Ferguson, 1990b; Bentzen és mtsai., 1991) felé fordították figyelmüket. Ezek a próbák már alkalmasak olyan adatok gyűjtésére, amelyek felhasználhatóak populációgenetikai és szülőazonosítási vizsgálatok lefolytatására, de nehézségekkel terheltek (pl. nehéz az allélek méretének pontos azonosítása) (O'Connell és Wright, 1997).

A kutatók ezért megpróbálták egy használhatóbb eszközt találni a genetikai variabilitás detektálására. Ezen eszköz a VNTR-ek másik osztálya, az úgynevezett mikroszatellit markerek (Tautz és Renz, 1984; Litt és Luty, 1989; Tautz, 1989). A mikroszatellitek, vagy egyszerű szekvencia ismétlődések (simple sequence repeats = SSR's) rövid (1-4 bázispár)

tandem-ismétlődő DNS szekvenciákat tartalmaznak, amelyeket mindkét oldalról egyedi DNS szekvenciák határolnak (flanking region), melyek lehetővé teszik a mikroszatellit marker PCR (polymerase chain reaction = polimeráz láncreakció) segítségével történő megsokszorozását. A mikroszatellitek az eukarióta genomban átlagosan minden 10kb-nyi DNS szakaszban egyszer fordulnak elő, de eloszlásuk nem egyenletes. Szerepük még mindig nem teljesen tisztázott. A kutatások azt bizonyítják, hogy míg egyes mikroszatellitek kódoló szekvenciaként működnek (homopolimer aminosavak), addig mások szabályozó szerepet töltenek be az eukarióta genomban (a kódoló szekvenciák promóter régióiban) vagy egyszerűen „távtartó” (spacer) szekvenciaként működnek. Öröklődésük kodomináns **(Kashi és Soller, 1998)**.

A mikroszatelliteket kezdetben főleg radioaktív végjelöléssel ellátott primerek segítségével vizsgálták, amikor is a primerek közül az egyiket például P₃₂ izotóppal jelölték. A PCR termékeit ezután poli-akril-amid géleken futtatták, mely során az egyes allélek közötti hosszkülönbség miatt a PCR termékek elválnak egymástól. Ahhoz, hogy az allélok láthatóvá váljanak, a géleket megszáritották, majd röntgen filmet helyeztek rájuk. Másnap a filmet előhívva vált láthatóvá és értékelhetővé a munka eredménye. Az allélok méretét allélikus létra és/vagy méreztenderdek alapján számították ki **(Schlötterer, 1998)**. Manapság az előző módszernél sokkal pontosabb fluoreszcens végjelöléssel működő automata szekvenáló berendezések a legelterjedtebbek a világon **(O`Connell és Wright, 1997)**.

Pontynál először **Crooijmans és munkatársai (1997)** izoláltak és elemeztek mikroszatellit DNS markereket. Az általuk izolált markerek a (CA)_n típusba tartoznak. A kutatóknak 32 polimorf lókuszt sikerült találniuk. A markerek kipróbálásához egy 8 egyedből álló tesztpanelt alkalmaztak, melyen belül az egyedeket beltenyésztett, nem beltenyésztett

és gynogenetikus klón csoportokba sorolták be. A heterozigotitás a beltenyésztett állatok esetében 51,1 %, míg a nem beltenyésztett egyedek esetében 60,4 % volt. A gynogenetikus klónok esetében a heterozigotitás 0%-nak bizonyult. Az allélok átlagos száma lókuszonként 4,7 volt, mind a nyolc állatot figyelembe véve. Hat marker esetében a várt polimorf terméken kívül még egy polimorf termék jelenlétét figyelték meg a kutatók. Ezt a jelenséget a ponty tetraploiditásával magyarázzák. Újabb mikroszatellit markereket **Aliah és munkatársai (1999)** izoláltak ponty fajban. Egy részleges genomkönyvtárból izolálták a 3 új markert. Koi (japán díszponty) (n=10egyed) és vad típusú ponty egyedeken (n=24 egyed) kipróbálva a markereket 5, 6 és 9 allél jelenlétét figyelték meg. Anyahalakat és ivadékaikat megvizsgálva a kutatók igazolták a mikroszatellitek mendeli öröklődését. Az átlagos megfigyelt heterozigotitás értékek a koi esetében ($H_o=0,423$) sokkal alacsonyabbnak bizonyultak, mint a vad típusú ponty egyedek esetében ($H_o=0,778$). Az allélok átlagos száma lókuszonként a koi ponty esetében 2,9, míg a vad típusú egyedek esetében 6,0 volt. Kilenc indonéz pontyfajta genetikai változatosságát vizsgálta **Aliah és Taniguchi (1999)** négy mikroszatellit marker segítségével. Az allélok száma 5 és 6,5 között változott a kilenc fajta esetében. Az effektív allélok száma nagyon alacsonynak bizonyult az összes fajta esetében (2,07- 3,19). A megfigyelt heterozigotitás értékek 0,500 és 0,709 között mozogtak. A Hardy-Weinberg teszt eredménye szerint két fajta mind a négy lókuszt esetében egyensúlyi helyzetben van, míg két másik fajta 3 lókuszon szignifikáns eltérést mutat az egyensúlytól. A fajták közötti páros F_{st} értékek a legtöbb esetben szignifikáns értékeket mutatnak. A Nei féle genetikai távolság a fajtapárok között 0,09 és 0,54 értékhatárok között mozog. **Tanck és munkatársai (2000)** a holland Anna Paulowna polderből (belvízártér) származó 6 hím pontyegyedet jellemeztek allozim és mikroszatellit markerekkel. 6

enzimrendszert és 28 mikroszatellit DNS markert alkalmaztak a vizsgálatokhoz. A mikroszatellit allélfrekvenciák analízisének eredménye szerint a polderből befogott 6 egyed szignifikánsan különbözött egy különböző házasított fajtákból összeállított csoporttól. A vadon befogott egyedek valószínűleg egy önfenntartó vad vagy elvadult populációból származtak. Francia és cseh pontyfajták genetikai változatosságát vizsgálták mikroszatellit DNS markerek valamint allozimek segítségével **Desvignes és munkatársai (2001)**. Az összehasonlító vizsgálatokat Franciaország 2 régiójából (Dombes és Forez) származó hat fajtán, valamint a csehországi Vodnany kutatóintézet génbankjából származó 5 fajtán végezték el. A vizsgálat során 31 protein és 5 mikroszatellit lókuszt analízisét végezték el. Eredményeik szerint a protein lókusztok közül mindössze 4 bizonyult polimorfnek a ponty esetében. A megfigyelt heterozigotitás értékek 0,003 és 0,029 között változtak a francia fajták esetében. A cseh fajták megfigyelt heterozigotitás értékei 0,026 és 0,058 között változtak, mely szignifikánsan különbözik a francia fajták eredményeitől. A mikroszatellit adatokból számított eredmények szerint a megfigyelt heterozigotitás értékek 0,1 és 0,5 között mozogtak és nem volt szignifikáns különbség a két országból származó populációk között. Az allélok lókuszonkénti átlagos száma magasabbnak bizonyult a francia fajták esetében (5,6-7,0). A cseh fajták átlagos lókuszonkénti allélszáma 3,2 és 5,0 között változott. A két országból származó fajták átlagos lókuszonkénti allélszáma közötti eltérés szignifikánsnak bizonyult. Az országoként vett minták közötti F_{st} értékek megegyeztek ($F_{st}=0,25$) a mikroszatellitek és az allozimek esetében. A két csoporton belül a cseh fajták között magasabb F_{st} értékek adódtak, ami magasabb fokú differenciáltságra utal a fajták között. A mikroszatellit adatokból számított F_{st} értékek mindkét csoport esetében magasabbnak bizonyultak, mint az allozimek esetében. Az eredmények alapján

valószínűsíthető, hogy a Vodnany kutatóintézetből származó fajták egy ún. „bottleneck” („palacknyak”) jelenségen estek át. Ez a jelenség az allélszám és ezzel együtt a genetikai változatosság drasztikus csökkenéséhez vezethet. A jelenség oka lehet a kezdeti kis egyedszám a fajták kialakításánál vagy alacsony egyedszámú szülőpopuláció alkalmazása a szaporítások során. Mivel a szerzők vizsgálataikhoz fajtánként csak 10 egyedet használtak, felhívják a figyelmet annak lehetőségére, hogy a lókuszonkénti allélszám eredmények esetleg nagymértékben eltérhetnek a valóságos értékektől. Véleményük szerint az olyan lókuszok esetében, ahol az allélok száma 5 és 10 között változik, a legkisebb megbízható mintaszám 50 lenne. **Bártfai és munkatársai (2003)** a dinnyési és attalai halgazdaságok teljes ponty törzsállományát valamint 104 egyéb forrásból (más halgazdaságok, Duna és Tisza folyó) származó ponty egyedet vizsgáltak RAPD és mikroszatellit markerekkel. A vizsgálatokhoz 10 polimorf RAPD és 4 mikroszatellit markert alkalmaztak. Eredményeik szerint a mikroszatellit DNS markerek részletesebb információt nyújtanak a genetikai változatosságról, mint a RAPD markerek. A heterozigotitás értékek és allélfrekvencia adatok szerint a 2 fajta nagyon hasonló genetikai háttérrel rendelkezik. Mindkét marker csoport eredményei alapján dendrogramokat készítettek, de a statisztikai programnak nem sikerült az egyes egyedeket nagy számban a saját fajtájukba sorolnia, vagyis az adott markerkészlettel nem sikerült szignifikáns különbséget kimutatni a 2 fajta között. **Kohlmann és munkatársai (2003)** 4 mikroszatellit markert, 16 izoenzim markert és a mitokondriális DNS változatosságát vizsgálták európai és ázsiai eredetű vad és tógazdasági ponty fajtákon. Eredményeik szerint mindhárom marker csoport segítségével két fő csoportba tudták besorolni a fajtákat. Az egyik csoport az európai és közép-ázsiai, míg a másik csoport a kelet-ázsiai pontyok csoportja volt. A genetikai változatosság adatok közötti különbség

a tenyésztett fajták és a vad populációk vizsgálata során azt mutatta, hogy a mikroszatellit markerek az izoenzim markereknél alkalmasabbak a populációs „bottleneck” jelenségek és a genetikai változatosság beltenyésztésből eredő csökkenésének kimutatására. **Sun és Liang (2004)** elkészítették a ponty genetikai térképét, melyhez 110 mikroszatellit, 57 RAPD és 105 gén markert használtak fel. Tesztpaneljükben 46 haploid embriót vizsgáltak, melyek egy fajhibrid nőténnytől származtak. A hibridet ponty (*Cyprinus carpio* L.) és egy Kína Yunnan tartományában élő pontyféle (*Cyprinus pellegrini pellegrini* Tchang) keresztezésével állították elő. A kutatók 50 kapcsoltsági csoportot találtak, valamint leírtak négy olyan lókuszt, amely statisztikailag bizonyíthatóan kapcsolatban van a hideggel szembeni ellenálló képességgel. **David és munkatársai (2003)** 59 mikroszatellit primer párt teszteltek ponty fajból létrehozott családokon annak érdekében, hogy bizonyítékot találjanak a ponty tetraploid voltára. A markerek 60 %-a kettőzött termékeket amplifikált. A családokon belüli szegregációs mintázatok alapján arra következtettek, hogy a faj tetraploid és a tetraploidizáció hibridizáció útján alakult ki. Becsléseik szerint a genomduplikáció 12 millió évvel ezelőtt zajlott le, melyet követett egy újabb, részleges genomduplikáció 2,3-6,8 millió évvel ezelőtt. A 12 millió évvel ezelőtti genomduplikáció a gerincesek törzsén belül nagyon újszerűnek számít. Több Cyprinidae faj filogenetikai vizsgálata azt sugallja, hogy a tetraploidizáció egyfajta evolúciós modell, melynek szerepe van egyaránt a specializációban és a diverzifikációban is. **Yue és munkatársai (2004)** 36 új mikroszatellit DNS markert izoláltak a GeneBankban talált szekvenciákból, valamint ponty heréből készített cDNS könyvtárból származó EST szekvenciákból (expressed sequence tag = expresszáldott szekvenciarészlet) és CA ismétlődésekkel feldúsított genomikus DNS könyvtárból. A génekből és EST-kből származó 28 mikroszatellit közül 11

(AT)_n típusú ismétlődésekből áll, ami azt sugallja, hogy az ilyen típusú ismétlődések nagy számban vannak jelen a ponty genomjában. A 36 mikroszatellit markert egy 18 egyedből álló tesztpanelen próbálták ki, melynek egyedei nem voltak egymással rokon kapcsolatban. Eredményeik szerint a markerek 2 kivételtől eltekintve polimorfnek bizonyultak. Az allélok száma az egyes lókuszonkon 2-től 15-ig terjedt, míg az átlagos lókuszonkénti allélszám 7,3 volt. A génekből és EST-kből izolált mikroszatellitok szignifikánsan több alléllal rendelkeztek (7,7), mint a genomikus DNS könyvtárból (4,9) izoláltak. A markerek 41,7 %-a az ezüstkárász fajban (*Carassius auratus gibelio*) is amplifikálódott. 5 mikroszatellit DNS markert alkalmaztak **Zhou és munkatársai (2004)** annak érdekében, hogy ismereteket szerezzenek a Jangce folyóból származó vadponty populáció, valamint 5 házasított fajta (xingguo vörös ponty, purse vörös ponty, qingtian ponty, orosz tükrös ponty és japán díszponty) genetikai változatosságáról és szerkezetéről. Az allélok száma 4 és 13 között változott lókuszonként. A vizsgálat eredményei szerint a házasított fajták alacsonyabb genetikai változatosságot mutattak a Jangce folyóból származó populációnál. Az egyetlen kivétel a Xingguo vörös ponty volt. A Nei-féle standard genetikai távolság és a fajtapárok közötti F_{st} távolságok alapján genetikailag legtávolabb a Jangce folyami és az Orosz tükrös fajták állnak egymástól, míg legközelebb egymáshoz a Jangce folyami és a Xingguo vörös ponty helyezkedik el. A vizsgálat egyik legérdekesebb eredménye, hogy a hat fajta közül a japán díszponty esetében jelentkeztek a legnagyobb heterozigotizás értékek. **Kohlmann és munkatársai (2005)** 577 pontyegyedet vizsgáltak, melyek 22 vad és házasított populációból származtak. A vizsgálatokat 4 mikroszatellit DNS markerrel végezték. A vizsgálatok során összesen 143 allélt detektáltak.

4. Anyag és módszer

4.1. A vizsgálatba vont génbanki fajták rövid leírása

1. Dunai vadponty

A dunai vadponty egyedeket eredeti élőhelyükön fogták és helyezték el a génbankban. A fajta profilindexe 3,8 és 4,3 között változik, szélességi indexe 1,7 és fejindexe 3,8-4,2. A Dunai vadponty alakjával és színével jól alkalmazkodott a Duna folyam nyújtotta környezeti feltételekhez.

2. Tiszai vadponty

A tiszai vadponty fajtát 1989 és 1992 között honosították meg a génbankban. A begyűjtött egyedek eredeti élőhelyükről a Tisza folyóból származnak. A fajta természetes ívóhelye nagyon beszűkült, ez mindenképpen indokolja génbanki fenntartását és megőrzését. A fajta profilindexe 3,79; fejindexe 3,97; szélességi indexe 1,72; míg testindexe 1,83. Színe sárgásfehér.

3. Szegedi tükrös ponty

Az eredeti szegedi tükrös ponty eredete ismeretlen. 1949-ben a Biharugrai tükrös fajta egyedeivel végeztek vérfrissítést a fajtán, majd a következő évben a Varászlói tükrös fajta egyedeivel próbálták kiszélesíteni a fajta szelekciós bázisát. Profilindexe 2,35; fejindexe 3,44; szélességi indexe 2,11; míg testindexe 2,1. Színe zöldes-sárgás szürke.

4. Felsősomogyi tükrös ponty

A felsősomogyi tükrös fajtát a simongáti tükrös fajtából alakították ki a tenyésztők. Később a varáslói tükrös fajta egyedeivel végeztek vérfrissítést. A jobb növekedési erélyre és a tükrös jelleg szabályosságára folyamatosan szelektálták az állományt. A fajta profilindexe 2,3; fejindexe 3,33; szélességi indexe 2,03 és testindexe 2,36. Színe aranyárgás-zöldes.

5. Nagyatádi tükrös ponty

A nagyatádi tükrös ponty a varáslói tükrös ponty és a poljanai (Szerbia) tükrös ponty keresztezésével jött létre. A szelektációs munka eredményeképpen a fajtára jellemző a nagy növekedési erély. Profilindexe 2,35; fejindexe 3,31; szélességi indexe 2,16; míg testindexe 1,8. Színe sárgás-szürke, ami idősebb korban vöröses-barnává válik.

6. Sumonyi tükrös ponty

A sumonyi tükrös ponty aischgrundi (Németország) eredetű. Eleinte tükrös és pikkelyes egyedeket is importáltak Németországból, de az ötvenes évektől a tükrös fajta dominált, mert a fogyasztói igény erre volt nagyobb. A szelektációs munka során a nagy növekedési erélyt és a „magashátúságot” tekintették a legfontosabb értékmérőnek. A fajta profilindexe 2,24; fejindexe 3,35; szélességi indexe 2,22; míg testindexe 2,1. Színe szürkés-zöld, ami az idősebb egyedeknél vöröses-barnává válik.

7. Mórichelyi tükrös ponty

A mórichelyi tükrös pontyot a helyi pontyfajták továbbtenyésztésével állították elő a Dunántúlon. A fajta színe zöldes-sárgás barna. Profilindexe 2,3; szélességi indexe 2,3 és fejindexe 3,2.

8. Szarvasi 15-ös tükrös ponty

A szarvasi 15-ös tükrös ponty egy olyan, két vonalból előállított hibridfajta, melyet apai vonalként alkalmaznak a szarvasi 215-ös tükrös ponty és a szarvasi P31 pikkelyes pontyhibrid előállításánál. A 15-ös vonalat a szarvasi tükrös ponty és a hortobágyi tükrös ponty keresztezésével állítják elő. Profilindexe 2,38; fejindexe 3,4; szélességi indexe 2,2 és testindexe 2,1. Színe sárgás-szürke

9. Szarvasi 22-es tükrös ponty

A szarvasi 22-es tükrös ponty fajtát a sumonyi tükrös pontyfajta válogatott egyedeiből hozták létre, majd 4 generáción keresztül erősen szelektálták mennyiségi tulajdonságokra. A 22-es vonalat anyai vonalként használják a szarvasi 215-ös tükrös ponty előállításánál. Profilindexe 2,3; fejindexe 3,25; szélességi indexe 2,22 és testindexe 2,1. Színe fehéres-sárgás szürke.

10. Tatai pikkelyes ponty

A tatai pikkelyes fajta az egyik legrégebbi Magyarországon tenyésztett fajta. Az első feljegyzések melyek szerint Németországból importáltak pontyokat Tatára az 1860-as évekből származnak. 1890-ben Trebonból, Csehországból importáltak ismét pontyokat. Nagy növekedési erélye és kerek testformája miatt a nemesítők előnyben részesítették más fajtákkal szemben a tudatos tenyésztői munka során, így sok pikkelyes fajta létrehozásához használták. Profilindexe 2,8; fejindexe 3,47; szélességi indexe 2,29 és testindexe 2,22. Színe ezüstös-szürkés fehér.

11. Fresinet pikkelyes ponty

A fresinet pikkelyes ponty 20 éves tenyésztési háttérrel rendelkezik a romániai Nucetben található kutatóállomáson. A helyi pikkelyes ponty fajtát keresztezték a szegedi tükrös és a tatai pikkelyes fajtákkal. A fajtát Romániában ma is alkalmazzák intenzív tavi rendszerekben és különféle keresztezési kísérletekben. Profilindexe 2,21; fejindexe 3,36; szélességi indexe 2,03 és testindexe 2,5. Színe ezüstszürke.

12. Ukrán pikkelyes ponty

Az ukrán pikkelyes pontyot 1970 és 1978 között alakították ki helyi fajták felhasználásával. A szelekció alapja a jó növekedési erély és a hosszú, torpedó alakú testforma voltak. A kiválasztott egyedeket egymás között szaporítva sikerült a fajta karakterét standardizálni. Profilindexe 2,67; fejindexe 3,56; szélességi indexe 1,89; testindexe 2,25. Színe ezüstfehér.

13. Amuri pikkelyes ponty

Az amuri pikkelyes ponty egy ősi pontyforma, mely Ázsiából származik. A fajta egyedeit 1982-ben az Összköztársasági Tudományos Tógazdasági Haltenyésztési Kutató Intézetből (VNIIPRH) telepítették át a Halászati és Öntözési Kutató Intézetbe. Profilindexe 2,9; fejindexe 3,9; szélességi indexe 1,67; míg testindexe 1,67. Színe ezüstfehér.

14. Vietnami pikkelyes ponty

A vietnami pikkelyes ponty egyedeit a helyi vadon élő populációból válogatták, majd a RIA No. 1. kutatóintézetben szaporították (F1 generáció). A fajtát testtömegre szelektálták, miközben keresztezték más ázsiai és később magyar fajtákkal is. A HAKI-ba 1975-ben szállítottak egyedeket az F1 generációból. A vadponty jellemzőit, a magas túlélési arányt, alacsony zsírtartalmat a halhúsban és a jó természetes táplálékhasznosítási képességet a fajta ma is mutatja. Profilindexe 2,84; fejindexe 3,83; szélességi indexe 1,68; míg testindexe 2,18. Színe aranysárgás-zöld (**Bakos és Gorda, 2001**).

15. Koi (japán díszponty)

A koi (japán díszponty) a ponty (*Cyprinus carpio* L.) színes változata. A ma élő koi pontyok ősei eredetileg Perzsiából, a mai Irán területéről kerültek Kínán keresztül Japánba, mintegy ezer évvel ezelőtt. A ponty színes változatát (ún. koi ill., nishikigoi) a XIX. század elején írták le először Japán Niigata tartományában, ahol ezen példányok keresztezésével, utódaik

szelekciójával és további keresztezésekkel hozták létre a ma ismert színváltozatokat (**Kuroki és Nogami, 1997**).

4.2. DNS kivonás és tisztítás

A 15 populáció összesen 565 egyedéből gyűjtöttem farokúszó mintákat, melyeket 96%-os etanolban tartósítottam és tároltam a felhasználásig.

A teljes genomikus DNS kivonása a minták fehérjetartalmának Proteináz-K (Proteinase K from *Tritirachium album*, Sigma-Aldrich) enzimmel való emésztése után magas sókoncentráció alkalmazásával történt **(Miller és mtsai., 1988)**

A minták emésztése a következőképpen zajlott: az úszómintákból kis darabot (kb. 1mm x 1mm) Eppendorf-csövekbe tettem majd 300 µl lízis-puffert (**1. melléklet**) adagoltam rájuk

A felhasználás előtt 3 ml lízis-pufferhez 200 µl 10 %-os SDS-t és

100 µl Proteináz-K enzimet (10 mg/ml-es koncentrációban) adagoltam (a kapott mennyiség 10 mintához elegendő). A fenti keverékből minden mintára 300 µl-t pipettáztam. Ezután a mintákat egy éjszakára 37°C hőmérsékletű termosztátba tettem

A következő lépés a DNS tisztítása volt. Minden elemésztett mintához 150 µl túltelített NaCl-oldatot adagoltam, majd Vortex rázógéppel homogén állapotig kevertem. A következő lépésben minden mintára –elszívófülke alatt- 340µl kloroformot mértem, majd 10 percre rázó-keverő berendezésbe helyeztem. Ezután 10 percig centrifugáltam (14000 rpm, 24°C). A centrifugálás alatt a minta két fázisra vált szét, ezek közül a felső fázist külön Eppendorf-csőbe pipettáztam, és vele megegyező mennyiségű hideg izopropanolt adtam hozzá (kb. 300 µl). Két-háromszori „összerázás” után a minták ismét a centrifugába kerültek (10 perc, 14000 rpm,

szobahőmérséklet). Ezután az izopropanol felülúszót óvatosan leöntöttem, és 500 µl 96%-os etanolt tettem a mintára (ebben a fázisban már csapadék formájában látható a genomikus DNS). Ekkor 15 percig szobahőmérsékleten állni hagytam, majd ismét centrifugálás következett (10 perc, 14000 rpm, szobahőmérséklet). Ezután az etanol felülúszót óvatosan leöntöttem, és 300 µl friss etanollal pótoltam, 10 percig ismét állni hagytam, majd újra lecentrifugáltam (10 perc, 14000 rpm, 24°C). Az etanol ismételt leöntése után, nyitott tetővel a csöveket szobahőmérsékleten száradni hagytam (kb. 15 perc), majd a száraz DNS-mintákra 100 µl Tris-EDTA puffert (1 X TE, **1. melléklet**) öntöttem. Ezek után egy rövid keverés következett, az előkészített, tisztított DNS-t végül hűtőszekrénybe helyeztem és 2-8 °C hőmérsékleten tároltam. Felhasználás előtt a minták DNS koncentrációját és a DNS minőségét agaróz gélelektroforézissel, valamint spektrofotométeres (SmartTMSpec Plus, Bio-Rad) méréssel ellenőriztem. A vizsgálatokhoz 80-150 ng/µl koncentrációjú mintákat használtam. Szükség esetén a mintát hígítottam, vagy az újbóli kivonás mellett döntöttem. Ezzel az eljárással a PCR-hez szükséges mennyiségű és minőségű DNS-t tudtam előállítani a mintákból.

4.3 A mikroszatellit DNS markerek vizsgálatának módszere

A kísérletsorozat során 7 mikroszatellit DNS markert alkalmaztam, melyek szekvenciája a **2. mellékletben** található (**Crooijmans és mtsai., 1997**). Az egyes fajtákból megvizsgált egyedek számát a **3. táblázatban** foglaltam össze.

3. táblázat. A mikroszatellit DNS markerekkel megvizsgált fajták és a vizsgált egyedek száma fajtánként.

Fajta	Egyedszám (n)
dunai vadponty	32
tiszai vadponty	31
amuri vadponty	11
szegedi tükrös	52
felsősomogyi tükrös	38
nagyatádi tükrös	37
sumonyi tükrös	42
mórichelyi tükrös	35
szarvasi 15-ös tükrös	38
szarvasi 22-es tükrös	53
tatai pikkelyes	29
freszinet pikkelyes	48
ukrán pikkelyes	29
vietnami pikkelyes	18
koi (japán díszponty)	21

A vizsgált hét mikroszatellit lókuszt esetében fluoreszcens (Cy5) végjelölésű primereket alkalmaztam.

A PCR (GeneAmp 2700 PCR system, Applied Biosystems) első ciklusa egy 2 perces át tartó denaturáló lépés 94°C-on. Ezt követte harminc

cikluson keresztül 40 másodperc 94°C-on (denaturálás), 50 másodperc 55°C-on (primer-annealing) és 90 másodperc 72°C-on (elongáció). Az utolsó ciklus 10 perc 72°C-on, amely lehetővé teszi a *Taq* polimeráz [Sigma-Aldrich] terminális transzferáz aktivitásának kifejeződését. Annak érdekében, hogy a különböző lókuszon megfigyelhessem az allélek változatait, a PCR termékeket 7%-os denaturáló poli-akril-amid gélen (32% formamid, 5% karbamid) választottam szét ALF Express II (Amersham Biosciences) szekvenáló berendezéssel. A PCR termékek méretének meghatározása érdekében az amplifikált termékek mellett méret-standardot (50, 150 és 300 bp hosszúságú méretstandardok, Amersham-Biosciences) és ismert méretű standard mintákat futtattam. A gélek értékeléséhez a Fragment Analyser 1.03 (Amersham-Biosciences) szoftvert alkalmaztam.

4.4. Az ND-3/4 és az ND-5/6 mitokondriális gének PCR-RFLP alapú vizsgálatának módszere.

A tiszai és a dunai vadponty 25, illetve 35 egyedét vizsgáltam meg PCR-RFLP módszerrel. A módszer lényege, hogy a PCR-ben felszaporított 2 génrészletet restrikciós enzimekkel hasítjuk. **Gross és munkatársai (2002)** 2 (ND-3/4), illetve 4 (ND-5/6) olyan restrikciós enzimet találtak, amelyek alkalmasak az európai és ázsiai anyai vonalak elkülönítésére. Az ND-3/4 és az ND-5/6 mitokondriális gének a ponty mitokondriális genomjának körülbelül 25 %-át teszik ki (**Lehoczky és mtsai., 2005b**).

A vizsgálatokhoz szükséges mitokondriális DNS-t a genomikus DNS kivonására használt és fentebb részletezett módszerrel vontam ki.

A restrikciós fragmenshossz-polimorfizmus vizsgálatát 2 PCR reakció segítségével vizsgáltam, melyek során a mitokondriális NADH-3,4 dehidrogenáz és a NADH-5,6 dehidrogenáz gének határoló régióit szaporítottam fel. Az amplifikációhoz szükséges primerpárokat a ponty teljes mtDNS szekvenciája (**Chang és mtsai., 1994**) alapján tervezték. A primerek szekvenciája a **3. mellékletben** található. A PCR reakciókat 50 µl-es reakciótérfogatban, a következő komponensek jelenlétében futtattam: 1x PCR puffer (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, pH 8,3), 1,5 mM MgCl₂, 0,1 mM dNTP's, 0,2 µM mindkét primerből és 0,5 egység Taq DNS-polymerase (MBI-Fermentas). A polimeráz-lánreakció során egy 3 perces 95°C-os denaturáló lépés után 35 cikluson keresztül alkalmaztunk 95°C-t 30 másodpercig, 55°C-t 40 másodpercig, majd 72°C-t 90 másodpercig. A reakciósorozatot egy 10 perces 72°C-os lépés zárta. A két termék körülbelüli hossza 2400 (ND-3/4) és 2600 (ND-5/6) bázispár volt. Az ND-3/4 gén PCR termékeit *Hinf*I, *Hpa*II, *Alu*I és *Taq*I restrikciós enzimekkel

emésztettem, míg az ND-5/6 gén PCR termékeit *BsuRI* és *Eco47I* restrikciós enzimekkel hasítottam. A hasítás során az enzimekkel kevert PCR termékeket 2 órára 37°C-os termosztátba helyeztem, kivéve a *TaqI* enzimet, melyet 65°C-os termosztátba helyeztem 2 órára. A hasított PCR termékeket ezután 2%-os agaróz gélen futtattam 80 percen keresztül. A hasított PCR termékek méretének (4. táblázat) meghatározása érdekében a minták mellett méretstandardot futtattam (100-bp size ladder, MBI-Fermentas).

4. táblázat A restrikciós enzimekkel előállított fragmensek körülbelüli hossza (bp) a hat diagnosztikus enzim esetében (**Gross és mtsai., 2002**)

Lókusz	Enzim	Európai haplotípus	Ázsiai haplotípus
ND-3/4	<i>HpaII</i>	530,380,340,310	530,380,310
ND-3/4	<i>HinfI</i>	950,580,520	950,580,480
ND-3/4	<i>AluI</i>	670,510,470	670,510,360
ND-3/4	<i>TaqI</i>	1470,890	1220,890, 250
ND-5/6	<i>BsuRI</i>	730,600,540,350	730,600,260
ND-5/6	<i>Eco47I</i>	2380,220	2600

A termékek méretének meghatározásához BIO-1D Analysis Software for Electrophoresis Images (Vilber-Lourmat) géldokumentációs rendszert használtunk.

4.5. Adatelemzés

Az allélfrekvenciákat, az allélek átlagos számát, a megfigyelt (H_o) és várt (H_e) heterozigotitás értékeit minden fajta esetében a GENEPOP szoftvercsomag segítségével számítottam ki (**Raymond és Rousset, 1995**). A várt heterozigotitás érték azt mutatja meg, hogy adott allélszám esetén Hardy-Weinberg egyensúlyban mennyi lenne a heterozigóták aránya. A megfigyelt heterozigotitás érték az adott populációban ténylegesen megfigyelt heterozigóta arányt jelenti.

A Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérést (t próba) és a heterozigóta deficit valószínűségi (p) értékeit ugyancsak a GENEPOP szoftvercsomaggal teszteltem. Az egyes lókuszokon megjelenő egyedi alléleket a Convert 1.31-es szoftverrel detektáltam (**Glaubitz, 2004**).

A fajtapárok közötti fixációs index (F_{st} -érték) kiszámításához és összehasonlításához, valamint az allélgazdagság (allelic richness- A_r) kiszámításához és az egyes lókuszokon megfigyelt allélok megszámlálásához az F-Stat programot (**Goudet, 1995**) használtam.

Az F_{st} -érték, vagyis a populációk közötti differenciáltság kifejezi a fajon belül, az egyes populációk között fennálló elkülönültség mértékét a számított (egyensúlyi) heterozigóta-arányok alapján (**Nei, 1973**). Az F_{st} hányadost széles körben alkalmazzák a fajon belüli genetikai strukturáltság jellemzésére. Ha értéke 0,05-nél kevesebb, a differenciáltságot csekély mértékűnek ítélnék. 0,25 feletti F_{st} értékek igen nagy mértékű izolációra, fajon belüli fragmentálódásra utalnak. Az allélgazdagságot (allelic richness)

az egyes populációk genetikai diverzitásának jellemzésére használjuk. Azt mutatja meg, hogy az adott mintában mennyi az allélek várható száma. Mivel számítása során figyelembe vesszük a vizsgált populáció nagyságát is, pontosabb képet ad az egyes fajták, populációk genetikai változatosságáról, mint az átlagos lókuszonkénti allélszám (**Leberg, 2002**). A heterozigotizáció értékek, bár fontos mérőszámai a genetikai változatosságnak, nem reagálnak annyira gyorsan egy a populációt érintő „bottleneck” (palacknyak) jelenségre, mint az allélgazdagság, ezért ezen mérőszám használata is elengedhetetlen (**Kalinowski, 2004**).

A fajtapárok közötti Nei-féle D_a (**Nei, 1972; Nei, 1978; Nei és mtsai., 1983**) genetikai távolság értékek (melyek 0 és 1 közötti értéket vehetnek fel) kiszámításához és a belőlük generált "családfa" (dendrogram) elkészítéséhez (Neighbour Joining módszer- NJ) a Populations (**Langella, 1999**) és a Treeview szoftverek (**Page, 1996**) segítségét vettem igénybe.

A besoroló tesztet (**Ranala és Mountain, 1997**) (assignment test, self-classification, Bayesi-módszer), mellyel azt vizsgáltam, hogy az egyes egyedek melyik fajtába illenek bele leginkább, a GeneClass (**Piry és mtsai., 1999**) szoftver segítségével végeztem.

5. Eredmények

5.1. A mikroszatellit DNS markerek vizsgálatának eredményei

5.1.1. A fajtákon belüli genetikai változatosság leírása

A vizsgálatok során a 7 lókuszt esetében összesen 218 allél jelenlétét detektáltam. A lókuszonkénti allélszám 18 (MFW28) és 55 (MFW7) között változott. Az egyes fajtáknál megfigyelt és az összes lókusztira vonatkozó átlagos allélszám nem mutatott ekkora változatosságot. A legalacsonyabb értéket az amuri vadponty esetében találtam (10 allél/lókuszt), míg a legmagasabbat a szegedi tükrös ponty esetében (15 allél/lókuszt). A lókuszonkénti megfigyelt heterozigotizás értékek nagyon változatosak voltak. A koi esetében előfordult, hogy minden egyed homozigotának bizonyult egy adott lókusztin ($H_o=0$), míg a vietnámi, az ukrán, a felsősomogyi tükrös és a koi egy másik lókusztin esetében azt tapasztaltam, hogy minden egyed heterozigóta ($H_o=1$). Az átlagos megfigyelt heterozigotizás (H_o) értékei nem voltak ennyire heterogének. Értékeik 0,44 (koi) és 0,77 (dunai vadponty) között változtak, míg az átlagos várt heterozigotizás (H_e) értékei 0,75 (ukrán pikkelyes) és 0,89 (dunai vadponty és móríchelyi tükrös) közötti értékeket vettek fel.

Egy, a saját vizsgálataimhoz nagyon hasonló vizsgálatsorozat alkalmával **Kohlmann és munkatársai (2005)** 577 pontyegyedet vizsgáltak, melyek 22 vad és háziasított populációból származtak. A vizsgálatokat 4 mikroszatellit DNS markerrel végezték. A vizsgálatok során összesen 143 allélt detektáltak, szemben a jelen vizsgálat során detektált 218 alléllal.

Eredményeik szerint a lókuszonkénti allélszám 27 és 47 között mozgott, míg saját vizsgálatomban ez az érték 18 és 55 között változott. Általánosságban elmondható hogy saját vizsgálatomban a fajták a legtöbb lókuszesetében szignifikánsan eltérnek a Hardy-Weinberg egyensúlytól. A legkevesebb (3 lókuszesetében az amúri vadponty, míg a legtöbb (mind a 7 vizsgált lókuszesetében a dunai vadponty, a szarvasi 22-es tükröspony, a sumonyi tükröspony, a felsősomogyi tükröspony és a szegedi tükröspony tért el szignifikánsan az egyensúlyi állapotól.

A vizsgálatok során 45 egyedi allélt találtam, melyek eloszlását az **5. táblázatban mutatom be**. A legtöbb egyedi allélt az ukrán pikkelyes ponty (7), a tiszai vadponty (6) és a tatai tükrös ponty (6) esetében találtam, míg a legkevesebbet a nagyatádi tükrös (0), a szarvasi 22-es tükrös (1), a sumonyi tükrös (1) és a felsősomogyi tükrös (1) esetében. A fajták nagy változatosságára jellemző, hogy a tenyésztett fajták között találunk olyat is, amely 6, és olyat is, amely 0 egyedi alléllal rendelkezik. Nagy a különbség a két hazai vadpontyfajta között is. A tiszai vadponty 6, míg a dunai vadponty csak 2 egyedi alléllal rendelkezik. Az átlagos várt heterozigotizáció (átlagos H_e) minden fajta esetében meghaladta az átlagos megfigyelt heterozigotizáció (átlagos H_o) értékét, ami a beltenyésztettség utaló fontos jel (**6, 7a, 7b és 8. táblázatok**).

5. táblázat Az egyedi allélok száma 7 mikroszatellit lókuszon a 15 vizsgált fajta esetében.

	MFW1	MFW4	MFW6	MFW7	MFW16	MFW28	MFW31	összesen
fajta								
Amuri v.				1	2		1	4
Tiszai v.		2		3	1			6
Dunai v.				2				2
15-ös							2	2
22-es		1						1
Tatai t.	1	1		2	2			6
Fresinet					1	1		2
Sumonyi							1	1
Felsősom.						1		1
Koi		2		1				3
Ukrán		3	2	1		1		7
Nagyatádi								0
Mórichelyi		1	2		2			5
Szegedi				2				2
Vietnámi	1		1		1			3
összesen	2	10	5	12	9	3	4	45

A **6. táblázatban** a génbankban fenntartott vad származású fajták néhány genetikai mérőszámát foglaltam össze. Jellemző rájuk a magas lókuszonkénti átlagos allélszám és a heterozigóták magas aránya. A tiszai és a dunai vadponty átlagos megfigyelt heterozigotitás értékei ($H_o = 0,74$ és $0,77$) az összes vizsgált populáció közül a legmagasabb értékeket mutatják. Az amuri vadponty alacsonyabb lókuszonkénti átlagos allélszámmal, valamint ugyancsak alacsonyabb várt és megfigyelt heterozigotitás értékekkel rendelkezik. A fajtacsoport 12 egyedi alléllal rendelkezik (**5. táblázat**)

A **7a és a 7b táblázatok** a génbankban fenntartott hazai tenyésztett pontyfajták genetikai mérőszámait mutatják be. A vizsgált fajtacsoportok közül ez a legváltozatosabb. A lókuszonkénti átlagos allélszám 10,14 (felsősomogyi tükrös) és 15 (szegedi tükrös) között változik. A csoport a megfigyelt átlagos heterozigotitás (átlagos H_o) terén is nagy variabilitást mutat, ami 0,54 (szarvasi 22-es tükrös és sumonyi tükrös) és 0,72 (móricshelyi tükrös) között változik. Érdeemes megfigyelni, hogy a felsősomogyi tükrös fajta az MFW7-es lókuszon maximális megfigyelt heterozigotitás értéket vett fel ($H_o=1$), ami arra utalhat, hogy az adott állomány alacsony számú szülőgenerációtól származik. A fajtacsoport 8 fajtája összesen 18 egyedi alléllal rendelkezik. A csoport heterogén jellege itt is szembeötlő. Míg a nagyatádi tükrösponty nem rendelkezik egyedi alléllal, addig a tatai tükrösponty 6 egyedi allélt mutat, amellyel a második helyen áll e tekintetben az összes fajtát összevetve és egyedi alléljainak száma megegyezik a tiszai vadponty egyedi alléljainak számával (**5. táblázat**).

6. táblázat A vad származású fajták néhány genetikai mérőszáma A-allélszám, H_e -várt heterozigotitás, H_o -megfigyelt heterozigotitás, P_{H-W} -Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés valószínűségi értékei, *-szignifikáns eltérés ($p < 0,05$), **-erősen szignifikáns eltérés ($p < 0,01$)

	fajta	Amuri	Tiszai vad	Dunai vad
lókusz				
MFW1	A	10	15	13
	H_e	0,93	0,89	0,91
	H_o	0,75	0,4	0,57
	P_{H-W}	0,149	0	0
MFW4	A	8	10	11
	H_e	0,87	0,87	0,86
	H_o	0,81	0,93	0,96
	P_{H-W}	0,0977	0	0,0152
MFW6	A	9	12	6
	H_e	0,7	0,86	0,81
	H_o	0,66	0,93	0,96
	P_{H-W}	0,6425	0,757	0,0002
MFW7	A	13	21	19
	H_e	0,93	0,92	0,92
	H_o	0,72	0,74	0,84
	P_{H-W}	0,0121	0,025	0
MFW16	A	10	17	16
	H_e	0,92	0,91	0,91
	H_o	0,88	0,82	0,84
	P_{H-W}	0,2791	0	0,0006
MFW28	A	8	11	13
	H_e	0,8	0,8	0,86
	H_o	0,41	0,72	0,61
	P_{H-W}	0,0002	0,009	0,0001
MFW31	A	12	17	16
	H_e	0,93	0,92	0,94
	H_o	0,63	0,67	0,65
	P_{H-W}	0,0036	0	0
Allélek átlagos száma lókuszonként		10	14,71	13,42
Átlagos H_e		0,86	0,88	0,89
Átlagos H_o		0,69	0,74	0,77
P_{H-W}		*	**	**

7a. táblázat A hazai tenyésztett fajták néhány genetikai mérőszáma, ahol: A-allélszám, H_e -várt heterozigotitás, H_o -megfigyelt heterozigotitás, P_{H-W} -Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés valószínűségi értékei, *-szignifikáns eltérés ($p < 0,05$), **-erősen szignifikáns eltérés ($p < 0,01$)

	fajta	Sz15-ös	Sz22-es	Tatai t.	Sumonyi t.
Lókusz					
MFW1	A	17	18	9	16
	H_e	0,92	0,9	0,88	0,89
	H_o	0,42	0,29	0,22	0,2
	P_{H-W}	0	0	0	0
MFW4	A	12	13	11	13
	H_e	0,8	0,87	0,89	0,82
	H_o	0,43	0,65	0,86	0,6
	P_{H-W}	0	0	0,036	0
MFW6	A	9	10	10	5
	H_e	0,78	0,81	0,83	0,6
	H_o	0,76	0,76	0,69	0,42
	P_{H-W}	0,322	0,025	0,226	0
MFW7	A	22	17	15	11
	H_e	0,93	0,89	0,89	0,82
	H_o	0,86	0,73	0,76	0,48
	P_{H-W}	0	0	0,028	0
MFW16	A	14	13	16	11
	H_e	0,89	0,73	0,92	0,85
	H_o	0,78	0,86	0,86	0,91
	P_{H-W}	0	0	0,241	0
MFW28	A	12	11	12	13
	H_e	0,9	0,86	0,9	0,9
	H_o	0,65	0,35	0,41	0,89
	P_{H-W}	0	0	0	0,014
MFW31	A	12	13	10	11
	H_e	0,88	0,86	0,83	0,87
	H_o	0,23	0,15	0,31	0,32
	P_{H-W}	0	0	0	0
Allélek átlagos száma lókuszonként		14	13,57	11,86	11,42
Átlagos H_e		0,87	0,86	0,88	0,82
Átlagos H_o		0,59	0,54	0,58	0,54
P_{H-W}		**	**	**	**

7b. táblázat A hazai tenyésztett fajták néhány genetikai mérőszáma, ahol: A-allélszám, H_e -várt heterozigotizitás, H_o -megfigyelt heterozigotizitás, P_{H-w} -Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés valószínűségi értékei, *-szignifikáns eltérés ($p < 0,05$), **-erősen szignifikáns eltérés ($p < 0,01$)

	Fajta	Felsősom. t.	Nagyatádi t.	Móricshelyi t.	Szegedi t.
Lókuszt					
MFW1	A	10		13	18
	H_e	0,83	0,92	0,9	0,9
	H_o	0,39	0,32	0,6	0,6
	P_{H-w}	0	0	0	0
MFW4	A	10	9	13	9
	H_e	0,83	0,83	0,87	0,86
	H_o	0,66	0,69	0,82	0,71
	P_{H-w}	0	0	0,308	0,014
MFW6	A	5	14	15	13
	H_e	0,6	0,88	0,9	0,85
	H_o	0,51	0,82	0,97	0,66
	P_{H-w}	0,001	0,059	0,05	0
MFW7	A	18	18	24	26
	H_e	0,91	0,91	0,95	0,92
	H_o	1	0,67	0,85	0,9
	P_{H-w}	0	0	0,005	0,012
MFW16	A	7	11	15	16
	H_e	0,67	0,76	0,91	0,88
	H_o	0,77	0,48	0,71	0,87
	P_{H-w}	0	0	0	0
MFW28	A	12	12	12	12
	H_e	0,85	0,88	0,89	0,86
	H_o	0,56	0,57	0,66	0,6
	P_{H-w}	0	0	0	0
MFW31	A	9	7	10	11
	H_e	0,8	0,8	0,85	0,85
	H_o	0,33	0,35	0,45	0,38
	P_{H-w}	0	0	0	0
Allélek átlagos száma lókuszonként		10,14	12,14	14,57	15
Átlagos H_e		0,78	0,85	0,89	0,87
Átlagos H_o		0,6	0,55	0,72	0,67
P_{H-w}		**	**	**	**

A külföldről származó fajták genetikai változatosságára jellemző adatokat a **8. táblázatban** foglaltam össze. Ebben a fajtacsoportban is nagyon sokrétű a genetikai változatosságról alkotható kép. Ide tartozik a koi (japán díszponty), amely a legalacsonyabb lókuszonkénti allélszámot (8,14), valamint a legkisebb átlagos megfigyelt heterozigotitás értéket (átlagos $H_o=0,44$) képviseli, miközben az MFW7-es lókuszon a megfigyelt heterozigotitás 100 százalékos, vagyis minden egyed heterozigótának bizonyult. A fajtacsoportba tartozó többi fajta ennél nagyobb genetikai változatosságot mutat. A vietnami pikkelyes ponty 0,72-es átlagos megfigyelt heterozigotitás értéke (átlagos H_o) a tiszai és a Dunai vadponty után a harmadik legmagasabb érték az összes fajta tekintetében. A fajtacsoport maradék 2 fajtája (Freszinet pikkelyes és ukrán pikkelyes) 0,62-es átlagos megfigyelt heterozigotitás értékeivel a közepes kategóriába tartoznak. A lókuszonkénti allélok átlagos száma a fajtacsoportban a koi mint extrém beltenyésztett fajtát leszámítva 12,28 és 13,28 között változott, ami a közepes-magas tartományba tartozik a többi fajtacsoporttal összevetve. A fajtacsoport 15 egyedi alléllal rendelkezik és itt találjuk a legtöbb (7) egyedi alléllal rendelkező fajtát is, az ukrán pikkelyest (**5. táblázat**).

Kohlmann és munkatársai (2005) eredményei szerint a lókuszonkénti átlagos allélszám 2,50 és 14,25 közötti értékeket vett fel (saját vizsgálatomban: 8,14-15,00), míg az átlagos megfigyelt heterozigotitás (átlagos H_o) 0,630-0,829 értékeket mutatott (saját vizsgálatomban: 0,440-0,770). Az átlagos várt heterozigotitás értékek (átlagos H_e) 0,709-0,775 értékeket vett fel (saját vizsgálatomban: 0,750-0,890). Mindkét vizsgálatban szerepeltek a tiszai és dunai vadponty, valamint a koi és az amuri vadponty. A tiszai, a dunai és az amuri vadponty fajták esetében saját vizsgálataim során magasabb lókuszonkénti átlagos allélszámot detektáltam (14,71; 13,42

és 10,00), mint a német kutatócsoport (4,75; 5,25 és 2,50). Az átlagos megfigyelt heterozigotitás értékek ellenben hasonló képet mutatnak mindkét vizsgálatban (0,74; 0,77 és 0,69 a saját, valamint 0,79; 0,72 és 0,63 a német vizsgálatban). A koi az előbb említett fajtákhoz hasonlóan magasabb lókuszonkénti átlagos allélszámmal (8,14) rendelkezik saját vizsgálatomban, mint a másokban(3,00). Az átlagos megfigyelt heterozigotitás értékek ebben a fajtában is nagyon hasonlóak mindkét vizsgálat eredményei szerint (átlagos H_o : 0,44 a saját és átlagos H_o : 0,49 a német vizsgálatban). **Crooijmans és munkatársai (1997)** 32 polimorf lókuszt teszteltek ponty fajon. A markerek kipróbálásához egy tesztpanel alkalmaztak, melyen belül az egyedeket beltenyésztett, nem beltenyésztett és gynogenetikus klón csoportokba sorolták be. A heterozigotitás a beltenyésztett állatok esetében 51,1 % volt, míg saját vizsgálataimban a házasított (beltenyésztett) fajták átlagosan 59,8%-os megfigyelt heterozigotitás értéket mutattak. A nem beltenyésztett egyedek esetében 60,4% volt a heterozigotitás, amely alulmarad a saját vizsgálataimban a vad (nem beltenyésztett) fajtáknál mért átlagosan 73,3%-os megfigyelt heterozigotitással szemben. A gynogenetikus klónok esetében a heterozigotitás 0%-nak bizonyult. Az allélok átlagos száma lókuszonként 4,7 volt. **Aliah és munkatársai (1999)** 3 általuk izolált új mikroszatellit markert teszteltek ponty fajban. Koi (japán díszponty) (n=10egyed) és vad típusú ponty egyedeken (n=24 egyed) kipróbálva a markereket 5, 6 és 9 allél jelenlétét figyelték meg. Az átlagos megfigyelt heterozigotitás értékek a koi esetében (átlagos H_o : 0,423) sokkal alacsonyabbnak bizonyultak, mint a vad típusú ponty egyedek esetében (H_o : 0,778), ami összhangban van saját vizsgálati eredményeimmel. Az allélok átlagos száma lókuszonként a Koi ponty esetében 2,9, míg a vad típusú egyedek esetében 6,0 volt. Kilenc indonéz pontyfajta genetikai változatosságát vizsgálta **Aliah és Taniguchi**

(1999) négy mikroszatellit marker segítségével. Az allélok átlagos száma lókuszonként 5 és 6,5 között változott a kilenc fajta esetében. A megfigyelt heterozigotizáció értékek (átlagos H_o) 0,500 és 0,709 között mozogtak. Nagyságrendjükben ezek az eredmények is megegyeznek saját vizsgálati eredményeimmel. A Hardy-Weinberg teszt eredménye szerint két fajta mind a négy lókusznál egyensúlyi helyzetben van, míg hét másik fajta 3 lókuszon szignifikáns eltérést mutat az egyensúlytól. Saját vizsgálataim eredménye szerint a fajták többsége a lókusztok legnagyobb részén eltér a Hardy-Weinberg egyensúlytól. **Desvignes és munkatársai (2001)** összehasonlító vizsgálatokat végeztek Franciaország 2 régiójából (Dombes és Forez) származó hat fajtán, valamint a csehországi Vodnany kutatóintézet génbankjából származó 5 fajtán. A vizsgálat során 5 mikroszatellit lókusztanalízist végeztek el. A megfigyelt heterozigotizáció értékek (H_o) 0,1 és 0,5 között mozogtak és nem volt szignifikáns különbség a két országból származó populációk között. Az allélok lókuszonkénti átlagos száma magasabbnak bizonyult a francia fajták esetében (5,6-7,0). A cseh fajták átlagos lókuszonkénti allélszáma 3,2 és 5,0 között változott. Saját vizsgálataimban az allélok lókuszonkénti átlagos száma ennél magasabbnak bizonyult.

Bártfai és munkatársai (2003) a dinnyési és attalai halgazdaságok teljes ponty törzsállományát valamint 104 egyéb forrásból (más halgazdaságok, Duna és Tisza folyó) származó ponty egyedeket vizsgáltak mikroszatellit és RAPD markerekkel. A vizsgálatokhoz 4 mikroszatellit markert alkalmaztak. Eredményeik szerint a mikroszatellit DNS markerek részletesebb információt nyújtanak a genetikai változatosságról, mint a RAPD markerek. A heterozigotizáció értékek és allélfrekvencia adatok szerint a 2 fajta nagyon hasonló genetikai háttérrel rendelkezik.

8. táblázat A külföldről származó fajták genetikai változatossága, ahol: A-allélszám, H_e -várt heterozigotitás, H_o -megfigyelt heterozigotitás, P_{H-W} -Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés valószínűségi értékei, *-szignifikáns eltérés ($p < 0,05$), **-erősen szignifikáns eltérés ($p < 0,01$)

	Fajta	Fresinet	Koi	Ukrán p.	Vietnámi p.
Lókusz					
MFW1	A	18	3	9	15
	H_e	0,9	0,8	0,9	0,92
	H_o	0,49	0	0,69	0,81
	PH-W	0	0,065	0,209	0,05
MFW4	A	11	8	12	11
	H_e	0,87	0,83	0,82	0,9
	H_o	0,87	0,2	0,66	0,87
	PH-W	0,006	0	0	0,14
MFW6	A	9	8	15	9
	H_e	0,75	0,75	0,82	0,86
	H_o	0,72	0,71	0,69	1
	PH-W	0,027	0,023	0	0,004
MFW7	A	12	15	22	23
	H_e	0,86	0,91	0,94	0,97
	H_o	0,62	1	1	0,81
	PH-W	0	0,041	0,471	0,005
MFW16	A	15	6	10	6
	H_e	0,7	0,76	0,83	0,68
	H_o	0,38	0,35	0,68	0,33
	PH-W	0	0	0,002	0,004
MFW28	A	13	6	13	8
	H_e	0,86	0,77	0,9	0,8
	H_o	0,79	0,05	0,34	0,54
	PH-W	0,005	0	0	0,003
MFW31	A	15	11	12	14
	H_e	0,87	0,81	0,87	0,92
	H_o	0,47	0,78	0,32	0,7
	PH-W	0	0,076	0	0
Allélek átlagos száma lókuszonként		13,28	8,14	13,14	12,28
Átlagos H_e		0,83	0,8	0,75	0,86
Átlagos H_o		0,62	0,44	0,62	0,72
PH-W		**	**	**	**

A fajták allélgazdagságát (allelic richness) a **9. és 10. táblázatban** foglaltam össze. A legalacsonyabb átlagos értéket a koi esetében találtam (átlagos $A_r=3,81$), míg a legmagasabbat a móríchelyi tükrös ponty esetében detektáltam (átlagos $A_r=4,72$). A vizsgált fajták az allélgazdagság tekintetében sokkal kiegyenlítettebb képet mutatnak, mint a lókuszonkénti átlagos allélszám esetében (8,14-15). A tiszai és a dunai vadponty átlagosan 4,61-es allélgazdagsága meghaladja mind a hazai tenyésztett fajták (4,35), mind pedig a külföldről származó fajták 4,34-es átlagos értékét. A felsősomogyi tükrös fajta 2 lókuszon mutatott nagyon alacsony allélgazdagságot. Az MFW6-os lókuszon 2,57, míg az MFW16-os lókuszon 2,98 volt ez az érték, amivel a vizsgálatban szereplő legalacsonyabb allélgazdagságot mutatta a fajta a fenti 2 lókuszon. Az egy lókuszon megfigyelt legnagyobb allélgazdagságot (5,7) a vietnámi pikkelyes pontynál figyeltem meg. **Kohlmann és munkatársai (2005)** vizsgálatában az allélgazdagság értékek jóval magasabbnak bizonyultak, mint saját vizsgálatomban. Az európai fajták átlagos allélgazdagsága (14 populáció átlaga) 5,41-nek bizonyult, míg a közép-ázsiai fajták (4 populáció átlaga) átlagos allélgazdagsága 8,62 volt. Egy másik csoportosítás szerint a vadon befogott egyedek átlagos allélgazdagsága 8,22 volt, míg a tenyésztett fajták átlagos allélgazdagsága jóval alacsonyabb, 4,43 volt. Ez utóbbi eredmény már jóval közelebb áll a saját vizsgálataim alapján a hazai tenyésztett fajtáknál számított 4,35-ös átlagos allélgazdagság értékhez.

9. táblázat A génbankban fenntartott hazai vadponty fajták és a külföldről származó fajták allélgazdagsága (A_r)

Lókusz	Amuri v.	Dunai v.	Tiszai v.	Freszinet p.	Ukrán p.	Vietnámi p.	Koi
MFW1	5,07	4,88	4,63	4,81	4,68	4,98	3,00
MFW4	4,48	4,37	4,34	4,39	4,14	4,71	4,02
MFW6	3,54	3,84	4,39	3,54	4,16	4,36	3,60
MFW7	5,13	5,00	5,03	4,38	5,26	5,70	4,94
MFW16	4,94	4,87	4,88	3,48	4,16	3,33	3,49
MFW28	4,36	4,43	3,91	4,33	4,77	3,93	3,51
MFW31	5,06	4,93	5,01	4,44	4,47	4,95	4,08
Átlag	4,65	4,62	4,60	4,19	4,52	4,57	3,81
Szórás	0,57	0,42	0,41	0,49	0,42	0,77	0,62

10. táblázat A génbankban fenntartott hazai tenyésztett pontyfajták allélgazdagsága (A_r)

Lókuszt	Szarvasi 15-ös t.	Szarvasi 22-es t.	Tatai tükr.	Sumonyi tükr.	Felsősomogyi tükr.	Mórichrelyi tükr.	Szegedi tükr.	Nagyatádi tükr.
MFW1	5,03	4,81	4,46	4,65	4,11	4,80	4,77	5,03
MFW4	3,93	4,43	4,58	4,06	4,12	4,41	4,34	4,11
MFW6	3,79	3,98	4,05	2,52	2,57	4,74	4,28	4,59
MFW7	5,08	4,69	4,63	4,06	4,95	5,34	5,03	4,85
MFW16	4,66	3,48	4,91	4,20	2,98	4,87	4,62	3,75
MFW28	4,69	4,45	4,71	4,71	4,28	4,62	4,34	4,51
MFW31	4,54	4,42	4,00	4,40	3,84	4,24	4,22	3,77
Átlag	4,53	4,32	4,48	4,09	3,84	4,72	4,52	4,37
Szórás	0,501	0,456	0,338	0,74	0,81	0,355	0,30	0,51

5.1.2. A fajták közötti genetikai különbségek leírása

A fajtapárok közötti D_a genetikai távolság (Nei és mt sai., 1983) adatokat a **11. táblázat** átló feletti részében mutatom be. A legnagyobb genetikai távolságot ($D_a : 0,7466$) a koi és az amuri vadponty között találtam. A koi a többi fajtától is távol áll genetikailag. A legalacsonyabb genetikai távolságot az ukrán pikkelyes ponttyal mutatja ($D_a : 0,5$). A magyar fajták közül egymástól legtávolabb ($D_a: 0,4436$) a tiszai vadponty és a felsősomogyi tükrös ponty állnak. A magyarországi tenyésztett fajták közül legközelebb egymáshoz ($D_a: 0,125$) a szegedi tükrös és a mórchelyi tükrös ponty állnak. A két fajta földrajzilag távoli országrészekből származik, az alacsony genetikai távolság mégsem meglepő, hiszen mindkét fajta kialakítása során a varászlói tükrös pontyot használták a testforma javításához. Ugyancsak közel áll genetikailag a fenti két fajtához a nagyatádi tükrösponty. A fajta kialakítása során ez esetben is a varászlói tükröspontyot használták kiindulási alapul (Bakos és Gorda 2001, Bakos, 2006). A fent említett genetikai kapcsolatok jól tükröződnek a **3. ábrán** látható NJ dendrogramon, mely a Nei-féle D_a genetikai távolságokon alapul. Jól látszik az is, hogy a dunai és tiszai vadponty a fa egy közös ágára került és két hazai vadponty fajtánk jól elkülönül, mind a hazai tenyésztett fajtáktól, mind pedig a külföldi fajtáktól. A 2 hazai vadpontyfajta hasonlóan a saját eredményeimhez, Kohlmann és munkatársai (2005) eredményei szerint is a D_a távolságokon alapuló NJ dendrogram szomszédos ágain található. Az összes külföldről származó fajta a fa egy külön ágára került, kivéve a fresinet (Románia) pikkelyes fajta. A fresinet pikkelyes ponty kialakítása során felhasználták a szegedi tükrös és a tatai pikkelyes fajtákat, így tehát nem meglepő, hogy a fajta a genetikai távolság adatok alapján a tatai

pikkelyes ponttyal került egy ágra. A felsősomogyi és a sumonyi tükrös ponty szintén a fa egy közös ágára került. Ezek a fajták földrajzilag egymáshoz közeli gazdaságokból származnak és esetenként előfordult tenyészállatok cseréje a gazdaságok között (**Bakos, 2006**). A szarvasi 22-es tükrös ponty szintén a dendrogram ezen ágára került. A fajtát a sumonyi tükrös ponty válogatott egyedeiből szelektálták, tehát az alacsony genetikai távolság várható volt.

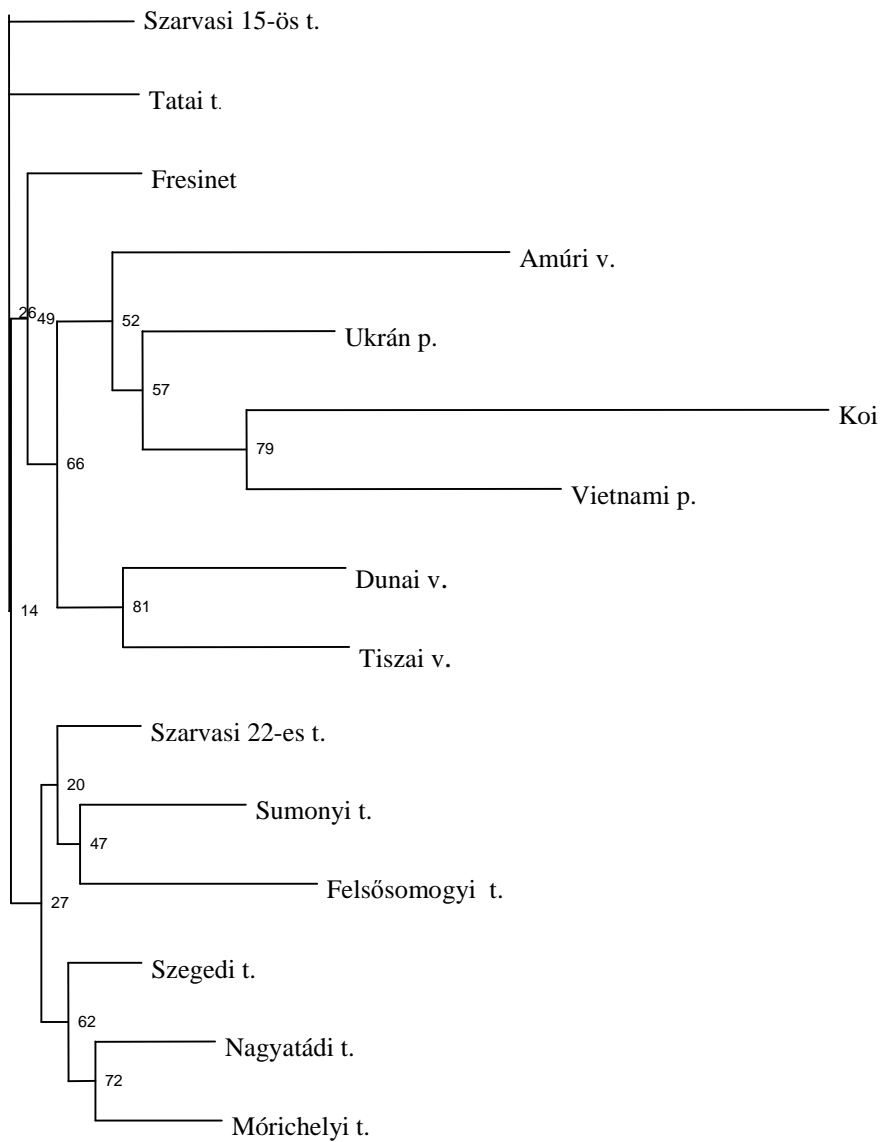
A fajtapárok közötti fixációs index (F_{st}) értékek a genetikai távolság adatokhoz hasonló képet mutatnak. Az eredményeket a **11. táblázat** átló alatti részében mutatom be.

11. táblázat. A vizsgálatban résztvevő fajták közötti genetikai távolság (D_a) (az átló felett), valamint a fajtapárok közötti fixációs ndex (F_{st} -érték)(az átló alatt; a vastagon szedett F_{st} értékek nem szignifikánsak).

	Amuri v.	Dunai v.	Szarvasi 15 t.	Szarvasi 22 t.	Tatai t.	Tiszai v.	Fresinet p.	Sumonyi t	Felsősomogyi t.	Koi	Ukrán p.	Nagyatádi t.	Mórichelyi t.	Szegedi t.	Vietnámi p.
Amuri v.	0	0,4535	0,3871	0,3604	0,3592	0,4069	0,3498	0,4990	0,4763	0,7466	0,3771	0,4237	0,4318	0,3755	0,4457
Dunai v.	0,0443	0	0,2469	0,3059	0,2754	0,2715	0,2705	0,3189	0,4030	0,5986	0,3632	0,3456	0,3238	0,2870	0,4795
Szarvasi 15 t.	0,0238	0,0291	0	0,1336	0,1539	0,3043	0,1571	0,2182	0,2487	0,6312	0,2527	0,2097	0,2233	0,1647	0,4089
Szarvasi 22 t.	0,0334	0,0495	0,0142	0	0,1620	0,3429	0,1439	0,1748	0,1971	0,6202	0,2710	0,1702	0,1994	0,1270	0,4311
Tatai p.	0,0253	0,0276	0,0044	0,0164	0	0,2665	0,1616	0,2084	0,2647	0,6164	0,2801	0,2146	0,2116	0,1578	0,4551
Tiszai v.	0,0444	0,0274	0,0410	0,0615	0,0321		0,2472	0,3716	0,4436	0,6332	0,3518	0,3138	0,2615	0,2682	0,4852
Fresinet p.	0,0390	0,0542	0,0323	0,0305	0,0288	0,0490	0	0,2397	0,2642	0,5724	0,2745	0,1804	0,1942	0,1615	0,3993
Sumonyi t.	0,0938	0,0479	0,0493	0,0378	0,0394	0,0789	0,0781	0	0,2436	0,5726	0,3818	0,1866	0,2211	0,1643	0,5360
Felsősomogyi t.	0,0818	0,0841	0,0508	0,0529	0,0504	0,0983	0,0840	0,0653	0	0,6737	0,3571	0,2976	0,2707	0,2161	0,5060
Koi	0,1148	0,1017	0,1120	0,1192	0,1030	0,0997	0,1265	0,1232	0,1606	0	0,5036	0,5492	0,5808	0,6088	0,5420
Ukrán p.	0,0224	0,0386	0,0116	0,0269	0,0201	0,0391	0,0338	0,0664	0,0641	0,0919	0	0,2806	0,3242	0,2797	0,3967
Nagyatádi t.	0,0429	0,0430	0,0195	0,0158	0,0219	0,0493	0,0260	0,0391	0,0736	0,1038	0,0184	0	0,1488	0,1446	0,4425
Mórichelyi t.	0,0400	0,0291	0,0176	0,0269	0,0166	0,0279	0,0363	0,0364	0,0581	0,0913	0,0235	0,0080	0	0,1250	0,4494
Szegedi t.	0,0416	0,0337	0,0188	0,0110	0,0093	0,0417	0,0337	0,0260	0,0476	0,1100	0,0295	0,0147	0,0053	0	0,3722
Vietnámi p.	0,0505	0,0617	0,0546	0,0722	0,0539	0,0671	0,0674	0,1040	0,1059	0,0792	0,0398	0,0613	0,0514	0,0559	0

12. táblázat A besoroló teszt eredményei (assignment test, self-classification, Bayes-módszer) 7 mikroszatellit lókuszt alapján (az átlóban vastagon szedett számok azt mutatják meg, hogy hány egyed sikerült a programnak a saját fajtájába besorolnia, a zárójelben százalékosan látható a besorolás sikeressége)

	Dunai v.	Tiszai v.	Szegedi t.	Felsősomogyi t.	Nagyatádi t.	Sumonyi t	Mórichelyi t.	Szarvasi 15	Szarvasi 22	Tatai t.	Freszinet p.	Ukrán p.	Amuri v.	Vietnami p.	Koi
Dunai v.	27 (84%)														
Tiszai v.		31 (100%)	1								2				
Szegedi t.			52 (76%)		2		2								
Felsősomogyi t..	1			36 (94%)		1		1	1						
Nagyatádi t.			1		30 (81%)				2	1	2				
Sumonyi t			2			39 (92%)	1		1		1				
Mórichelyi t.	1		3		1		31 (88%)	1		1					
Szarvasi 15	1		2					28 (73%)	3	2	3				
Szarvasi 22			3	1	2	1	1	2	42 (79%)						
Tatai t.			3	1				4	4	25 (86%)	1				
Freszinet p.			1		1						38 (77%)				
Ukrán p.	2				1			2			1	28 (96%)			
Amuri v.						1							11 (100%)		
Vietnami p.														18 (100%)	
Koi												1			21 (100%)



3. **ábra.** A fajták genetikai távolság (Nei D_a) adataiból generált NJ (Neighbour Joining) dendrogram (az ábrán látható számok bootstrap értékek)

A legmagasabb fajtapáronkénti fixációs indexet a koi és a felsősomogyi tükrös fajta között találtam (F_{st} : 0.1606). A koi a többi fajtával is hasonlóan magas eredményeket mutatott, ami ugyanúgy, mint a D_a adatok azt bizonyítják, hogy a koi áll genetikailag legtávolabb a többi vizsgált fajtától. A legalacsonyabb páronkénti fixációs indexet (F_{st} : 0.0044) a tatai pikkelyes, valamint a szarvasi 15-ös tükrös fajta esetében találtam, ami ugyancsak egybevág a Nei-féle D_a genetikai távolság adatokkal, hiszen a 2 fajta a 3. ábrán látható dendrogram azonos ágán és ott is egymás mellett helyezkedik el. A második legalacsonyabb értéket (F_{st} : 0.008) a nagyatádi és a móríchelyi tükrös pontyok között találtam, melyek a Nei féle D_a genetikai távolság adatok alapján is nagyon közel állnak egymáshoz és a dendrogramon is szomszédok. **Aliah és Taniguchi (1999) vizsgálatában a** fajták közötti páros F_{st} értékek ugyancsak alacsonyak, de a legtöbb esetben szignifikáns értékeket mutatnak. A Nei féle genetikai távolság a fajtapárok között 0,09 és 0,54 értékhatárok között mozog. A **Desvignes és munkatársai (2001)** által számított, a cseh és francia populációk közötti páros F_{st} érték (F_{st} : 0,25) magasan meghaladja a saját vizsgálataim alapján számított legmagasabb fajtapárok közötti F_{st} értéket, amely a koi és a felsősomogyi tükrösponty között 0,16-nak bizonyult. A két csoporton belül a cseh fajták között magasabb F_{st} értékek adódtak, ami magasabb fokú differenciáltságra utal a fajták között. Az eredmények alapján a szerzőknek az a véleménye, hogy a Vodnany kutatóintézetből származó fajták egy ún. palacknyak (bottleneck) jelenségen estek át.

A besoroló teszt (assignment test, self-classification, Bayesi-módszer) eredményei szerint (**10. táblázat**) az egyedek összesen 85,8%-a volt a saját fajtájába besorolható a 7 vizsgált mikroszatellit DNS marker alapján. 4 fajta esetében (amuri, vietnámi, koi, tiszai) a programnak sikerült minden egyedet a saját populációjába sorolnia. A magyarországi tenyésztett fajták esetében

minden populációban volt olyan egyed, amelyet a program másik populációba sorolt be. Ez is a fajták közeli rokonságára, valamint a keveredésre utaló jel. **Kohlmann és munkatársai (2005)** a besoroló teszt eredményeképpen az egyedek 90,25 százalékát voltak képesek a saját fajtájába besorolni, ami meghaladja saját 85,8 %-os eredményemet. A különbség oka, hogy a német vizsgálatokban egymástól genetikailag távolabb álló fajtákat vizsgáltak (D_a : 0,212-0,975) míg a génbanki fajták egymáshoz közelebb állnak (D_a : 0,125-0,746).

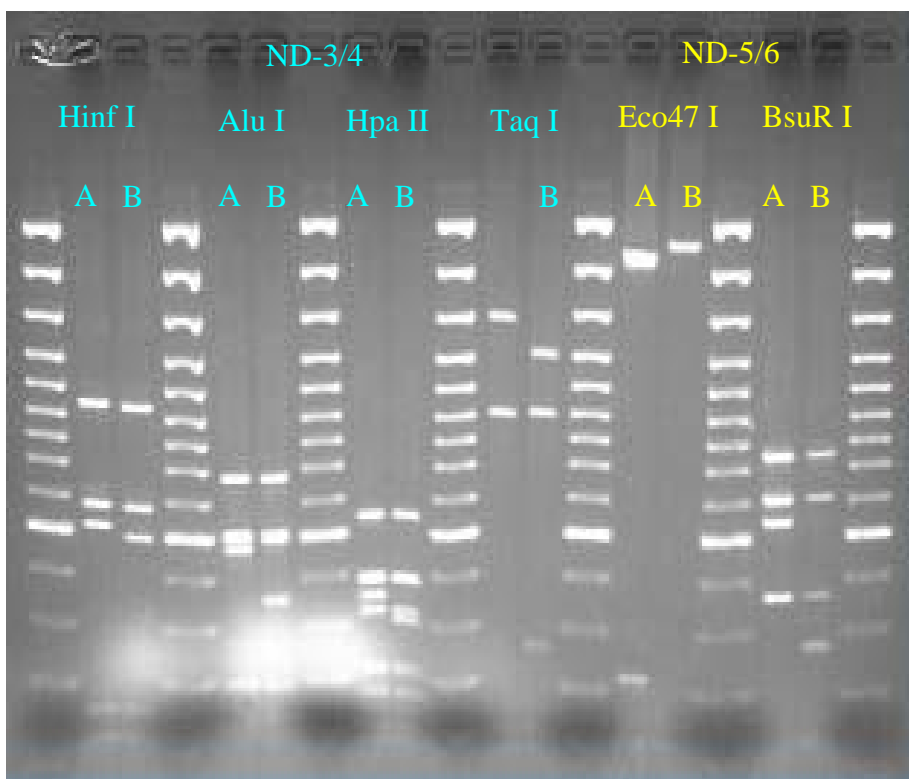
5.2. Az ND-3/4 és az ND-5/6 mitokondriális gének PCR-RFLP alapú vizsgálatának eredményei

A PCR-RFLP vizsgálatok során minden egyednél a tipikus európai haplotípust találtam (**3. ábra**). Ez alapján kijelenthető, hogy anyai vonalon tisztának tekinthetők a vizsgált fajták. Ennek gyakorlati jelentősége a génmegőrzésben lehet. Több európai pontyfajta (pl. Ropsha) ősei között ugyanis ázsiai fajtákat is találunk (**Gross és mtsai. 2002**) és ezen fajták egyes egyedei esetleg kikerülhettek természetes vizeinkbe, vagy a tenyésztői munka során véletlenül bekerülhetnek a génbankban fenntartott őshonos fajták közé. Ilyen típusú vizsgálatokkal kiszűrhetőek az ázsiai haplotípusú egyedek és kizárhatóak a további tenyésztésből és a természetes vizeinkbe telepítésből is.

Gross és munkatársai (2002) vizsgálatukban eredetileg 10 restrikciós enzimmel emésztették a PCR termékeket és összesen 7 különböző haplotípust találtak. A haplotípusokat mind a távolságalapú, mind a maximum likelihood alapú statisztikai módszerek 4 elkülönült csoportba sorolták be. Az európai csoportba 2 haplotípus került, az amuri és vietnami csoportba ugyancsak 2 haplotípus, míg a koi csoportba 1 haplotípust soroltak a statisztikai programok. A hat diagnosztikus enzim esetében nyert európai és ázsiai haplotípusok összehasonítása a **4. ábrán** látható.

A PCR-RFLP alapú vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a HAKI ponty élő génbankjában fenntartott Dunai és Tiszai vadponty fajták anyai vonalon nem keveredtek ázsiai eredetű fajtákkal. **Froufe és munkatársai (2002)** egy korábbi vizsgálat során úgy találták, hogy a felső Tiszából származó pontyok és a japán koi haplotípusa megegyezik egy 565 bp

hosszúságú mtDNS szakaszon, míg az amuri vadponty egyedi haplotípussal bírt, mely 1-12 bázissal különbözött a dunai vadpontytól.



4. ábra A 6 diagnosztikus restrikciós endonukleáz segítségével nyert európai (A) és ázsiai (B) haplotípusok összehasonlítása agaróz gélen (A gél jobb és bal szélén, valamint minden 3. sorban méreztenderd látható, mely a következő hosszúságú fragmenseket tartalmazza felülről lefelé: 200 bp, 300 bp, 400 bp, 500 bp, 600 bp, 700 bp, 800 bp, 900 bp, 1031 bp, 1200 bp, 1500 bp, 2000 bp, 3000 bp.)

6. Következtetések és javaslatok

A Halászati és Öntözési Kutatóintézet ponty élő génbankjában fenntartott pontyfajták mikroszatellit DNS markerekkel történő vizsgálata rámutatott, hogy a génbanki állomány egésze genetikailag nagyon heterogén és jelentős genetikai erőforrásokkal rendelkezik. Kiemelten érvényes ez két hazai vadponty fajtánkra, a dunai és a tiszai vadpontyra. Mindezek mellett sok fajta a beltenyésztettség jeleit mutatja.

A génbankban fenntartott fajták egymáshoz genetikailag közel állnak, sőt egyes fajták összemosódnak (a genetikai távolság adatok minimálisak). A genetikai távolság értékek még az egymástól nagy földrajzi távolságban lévő populációkból származó génbanki csoportok esetében is viszonylag alacsonyak. Mindezzel együtt a fajták a 7 mikroszatellit DNS marker segítségével viszonylag jól elkülöníthetőek. Vadponty fajtáink pedig nagyon jól elkülönülnek a házasított fajtáktól, a külföldi fajtáktól, valamint egymástól is. A fajtákon belüli változatosság sok esetben meghaladja a fajták közöttit.

A génbank teljes állománya nagymértékben eltér a Hardy-Weinberg egyensúlytól, ami alátámasztja a beltenyésztettségre utaló egyéb jeleket.

A génbank fenntartása szempontjából fontos lenne a beltenyésztett fajták vérfrissítése a saját fajtájukból származó egyedek tenyésztésbevonásával. A vérfrissítéshez mindenképpen elengedhetetlen a génbankba bekerülő egyedek előzetes molekuláris genetikai vizsgálata.

A vizsgálatok következő iránya az egyes a génbankban fenntartott

fajták, valamint az egyes fajtafenntartóknál lévő állományok, valamint a szabad természetből származó, vadon élő populációk és a génbanki vadponty állományok összehasonlítása lehetne.

A PCR-RFLP vizsgálatok alapján kijelenthető, hogy a HAKI ponty élő génbankjában fenntartott tiszai és dunai vadponty populációk a tipikus európai haplotípust mutatják és anyai vonalon nem keveredtek ázsiai haplotípusú fajtákkal. Mindezek alapján javaslom, hogy a dunai és tiszai vadponty populációkat a génbankban tartsák fenn, és esetleges halbefogásokkal bővítsék az állományukat. A génbankba való bekerülés előtt javaslom az egyes egyedek molekuláris genetikai vizsgálatát annak érdekében, hogy csak a ténylegesen az adott két fajta tartozó egyedek kerülhessenek megőrzésre és szaporításra a későbbiekben.

Jelen vizsgálat nem zárja ki azt, hogy a fajták esetlegesen keveredtek ázsiai egyedekkel apai vonalon. Ennek kizárásához további genomikus markerek vizsgálatba vonására lenne szükség, melyek segítségével összehasonlító vizsgálatokat kellene elvégezni a két őshonos fajtán, valamint ázsiai fajtákon.

7. Új tudományos eredmények

1. A 7 vizsgált mikroszatellit lókuszból magas genetikai változatosságot mutatott a génbanki pontyfajták esetében. A vizsgálatok során a 7 lókuszból összesen 218 allél jelenlétét detektáltam. A lókuszonként megfigyelt allélszám 18 és 55 között változott. Az egyes fajták lókuszonkénti átlagos allélszáma 8,14 és 15 között változott.

2. A génbanki pontyfajták beltenyésztettek, a lókuszból nagy részén a fajták eltérnek a Hardy-Weinberg egyensúlytól, valamint az átlagos megfigyelt heterozigotizáció minden fajta esetében alacsonyabb az átlagos várt heterozigotizációnál.

3. A magyarországi tenyésztett fajták genetikailag közel állnak egymáshoz és a fajták közötti differenciáltság alacsony (D_a : 0,125-0,4436, F_{st} : 0,004 -0,16).

4. A dunai és tiszai vadponty génbanki állományai a többi fajtától és egymástól genetikailag markánsan eltérnek, továbbá a PCR-RFLP alapú vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a HAKI ponty élő génbankjában fenntartott Dunai és Tiszai vadponty fajták anyai vonalon nem keveredtek ázsiai eredetű fajtákkal.

8. Összefoglalás

A Szarvasi Halászati és Öntözési Kutató Intézetben (HAKI) 1962-től Bakos János vezetésével összegyűjtötték a Magyarországon fellelhető pontyfajtákat. Később az *ex situ* élőgénbank további magyar és külföldi tájfajtákkal, fajtákkal bővült. A génbank elsődleges feladata kezdetben a különböző nemesítési, keresztezési és hibridizációs munkákhoz szükséges eltérő genetikai hátterű pontyfajták biztosítása volt. Később, mivel a tenyésztő gazdaságok eredeti állományai fokozatosan eltűntek vagy más fajtákkal keveredtek, a génbank fő feladatává a megőrzés, a különböző pontyfajták, tájfajták eredeti genetikai háttérrel való fenntartása vált.

Vizsgálataim során a génbankban fenntartott 15 pontyfajta (dunai vadponty, tiszai vadponty, amuri vadponty, szegedi tükrös, felsősomogyi tükrös, nagyatádi tükrös, sumonyi tükrös, móríchelyi tükrös, szarvasi 15-ös tükrös, szarvasi 22-es tükrös, tatai pikkelyes, freszinet pikkelyes, ukrán pikkelyes, vietnámi pikkelyes) genetikai változatosságát vizsgáltam 7 mikroszatellit DNS marker segítségével. Elvégeztem ezen kívül a génbankban fenntartott dunai és a tiszai vadpontyfajtákon az ND-3/4 és az ND-5/6 mitokondriális gének PCR-RFLP alapú vizsgálatát is. Ezzel a vizsgálattal kizárható az a lehetőség, hogy a génbankban tartott vadpontyfajtáink egyedei közé esetlegesen ázsiai anyai vonalú egyedek keveredjenek.

Eredményeim szerint az általam vizsgált mikroszatellit markerek alkalmasnak bizonyultak a fajták megkülönböztetésére. A besoroló tesztnek (assignment test) az egyedek 85%-át sikerült genotípusuk alapján az egyes fajtákba besorolni. A 7 vizsgált mikroszatellit lókuszt magas genetikai változatosságot mutatott a génbanki pontyfajták esetében. A vizsgálatok során a 7 lókuszt esetében összesen 218 allél jelenlétét detektáltam, melyek

közül 45 egyednek bizonyult valamelyik fajta esetében. A lókuszon detektált allélszám 18 és 55 között változott. Az egyes fajták lókuszonkénti átlagos allélszáma 8,14 és 15 között változott. A fajták lókuszonkénti átlagos allélgazdagsága (allelic richness- A_r) 3,81 és 4,72 között változott. A génbanki pontyfajták beltenyésztettek, a lókuszek nagy részén a fajták eltérnek a Hardy-Weinberg egyensúlytól, valamint az átlagos várt heterozigotizáció minden fajta esetében meghaladja az átlagos megfigyelt heterozigotizációt. A génbankban fenntartott magyarországi tenyésztett fajták genetikailag közel állnak egymáshoz (Nei féle D_a : 0,125-0,443) és a fajon belül kevésbé differenciálódtak (F_{st} : 0,004 -0,160)

A PCR-RFLP alapú vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a HAKI ponty élő génbankjában fenntartott Dunai és Tiszai vadponty fajták anyai vonalon nem keveredtek ázsiai eredetű fajtákkal. Minden egyednél a tipikus európai haplotípus van jelen. Ez alapján kijelenthető, hogy anyai vonalon tisztának tekinthetők a vizsgált fajták.

A génbank fenntartása szempontjából fontos lenne a beltenyésztett fajták vérfrissítése a (genetikai vizsgálatokkal alátámasztva) bizonyítottan a saját fajtájukból származó egyedek tenyésztésbevonásával.

9. Summary

Common carp (*Cyprinus carpio* L.) strains from the most significant Hungarian fish farms were collected with the leading of János Bakos in the Research Institute for Fisheries and Irrigation (HAKI, Szarvas, Hungary) from 1962. Later the genebank was completed by other native and foreign strains and landraces. The original objective of maintaining the *ex situ* live gene bank was the genetic improvement of common carp through developing highly productive hybrids for production purposes. Today, 18 Hungarian strains (landraces) and 13 “foreign” strains (collected from Central and Eastern Europe, as well as from Asia) are maintained at the institute. Recently, beside the “production-supporting” objectives, the maintenance of the genetic diversity of this strains/genotypes is becoming an increasingly important goal of the genebank.

In this study the genetic variability of 15 Common carp strains (Danubian wild, Tisza wild, Amur wild, Szeged mirror, Felsősomogy mirror, Nagyatád mirror, Sumony mirror, Móríchely mirror, Szarvas 15 mirror, Szarvas 22 mirror, Tata scaly, Fresinet scaly, Ukrainien scaly, Vietnam scaly and Koi) maintained in the genebank were analysed using seven microsatellite DNA markers. The PCR-RFLP analysis of the mitochondrial NADH-3,4 dehydrogenase (ND-3/4) and NADH-5,6 dehydrogenase (ND-5/6) genes of the Danube wild carp and the Tisza wild carp was also verified that the two wild carp strains do not consist individuals of Asian maternal origin.

Based on our results it can be stated that the seven studied microsatellite DNA markers are convenient to distinguish between the strains. The assignment test (bayesian method) sorted 85% of the individuals into their original strain. The seven microsatellite loci showed

high genetic variability. 218 alleles were detected including 45 private alleles. Allele number per loci varied between 18 and 55. Mean number of alleles per loci was found between 8.14 and 15. Allelic richness (A_r) ranged between 3.81 and 4.72. Carp strains deviate significantly from Hardy-Weinberg equilibrium in most cases. Mean expected heterozygosity exceeded mean observed heterozygosity in all cases. These data suggests that the carp strains maintained in the genebank are inbred. Based on Nei's D_a distances the strains are genetically close to each other. The pairwise F_{st} values between the strains are suggesting that there is very low differentiation between the strains.

PCR-RFLP analysis using the restriction enzymes *HinfI*, *AluI*, *HpaII* and *TaqI* at ND-3/4 and *BsuRI* and *Eco47I* at ND-5/6 mitochondrial genes, that represent about 25% of total common carp mitochondrial genome by DNA sequence length, did not give evidence for mixing of European and Asian carp in the two strains examined. All individuals showed the typical European haplotype providing evidence of the purity of these strains from the matrilineal perspective.

It can be suggested that new (genetically tested) individuals from the original strains should be introduced into the inbred strains and lines to avoid the higher level of inbreeding and loosing of valuable genetic resources.

10. Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni mindazoknak a segítségét, akik nélkül ez a dolgozat nem születhetett volna meg. Először is köszönöm konzulensemnek Dr. Magyary Istvánnak, hogy engedett a saját gondolataim és ötleteim alapján dolgozni, társkonzulensének Dr. Jeney Zsigmondnak (Halászati és Öntözési Kutatóintézet, Szarvas), amiért munkám elvégzéséhez minden erőforrást biztosított. Köszönettel tartozom Szucsán Györgyné „Pöntyinek” is, amiért végig segítette laboratóriumi munkámat és támogatott a néha nehéz, egyhangú munkában. Köszönöm Dr. Bakos Jánosnak és Dr. Gorda Sándornak a dolgozat elkészítésében nyújtott segítségüket, valamint Dr. Hancz Csabának és Dr. Molnár Tamásnak a dolgozattal kapcsolatos hasznos kritikáit. Végül de nem utolsó sorban köszönöm szüleim támogatását, akik mindvégig segítettek és erőn felül támogattak ezekben az években.

11. Irodalomjegyzék

Aliah, R.S. and Taniguchi, N. (1999) Comparison of genetic variability in nine domesticated stocks of Indonesian Common carp by using microsatellite DNA markers. *Fish Genetics and Breeding Science*. 28: 121-130.

Aliah, R.S., Takagi, M., Dong, S., Teoh, C.T. and Taniguchi, M. (1999) Isolation and inheritance of microsatellite markers in the Common carp *Cyprinus carpio*. *Fisheries science*. 65.2: 235-239.

Avise, J.C. and Smith, M.H. (1974) Biochemical genetics of sunfish. I. Geographic variation and subspecific intergradation in the bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Evolution*. 28: 42-56.

Avise, J.C. (1994) *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York, 511. pp.

Ayyappan, S., Ponniak, A., Reddy, P., Jana, K., Mahapatra, K. and Basavarju, Y. (2001) Aquaculture genetics research in India, an overview. In: Gupta, M. and Acosta, B. (eds) *Fish genetics research in member countries and institutions of the International Network on Genetics in Aquaculture*. University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia, March 3-5. 43-50. p

Bakos, J. (1968a) A ponty tenyésztékét meghatározó tulajdonságok és jelentőségük a szelekciós munkában. *Halászat*. 14.3: 84-85.

Bakos, J. (1968b) A ponty pikkelyzetének értékelése és bírálata a tenyészkiválasztás során. Halászat. 67: 84-85.

Bakos, J. (1975) Halgenetikai kutatások fejlődése és eredményei Magyarországon 1975-ig. HAKI, Szarvas, Halhústermelés fejlesztése No 4. 61. pp.

Bakos, J. and Gorda, S. (1995) Genetic improvement of common carp strains using intraspecific hybridisation. Aquaculture. 129: 183-186

Bakos, J., Gorda, S., Váradi, L. és Balogh, J. (1997) Tenyésztő szervezetek szerepe a magyar pontyfajták fenntartásában és nemesítésében. XXI. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas, május 25-26. Összefoglalók. 9-13. p.

Bakos, J. and Gorda, S., (2001) Genetic resources of common carp at the Fish Culture Research Institute, Szarvas, Hungary. FAO Fisheries Technical Paper. No.417. Rome, FAO. 106 p.

Bakos, J. (2006) Szóbeli közlés.

Balon, E.K., (1974) Domestication of the carp *Cyprinus carpio* L. Royal Ontario Museum, Life Science Miscellaneous Publication, Toronto 37. p.

Balon, E.K., (1995) Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio*: from Roman gourments to the swimming flowers. Aquaculture. 129: 3-48

Bartfai, R., S. Egedi, G.H. Yue, B. Kovacs, B. Urbanyi, G. Tamas, L. Horvath and L. Orban (2003) Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers, *Aquaculture* 219(1-4): 157-167

Basiao, Z. (2001) Genetic research at SEAFDEC, Aquaculture Department. In: Gupta, M. and Acosta, B. (eds) Fish genetics research in member countries and institutions of the International Network on Genetics in Aquaculture. University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia, March 3-5. 141-144. p.

Bentzen, P., Harris, A.S. and Wright, J.M. (1991) Cloning of hypervariable minisatellite and simple sequence microsatellite repeats for DNA fingerprinting of important aquacultural species of salmonids and tilapia. In: Burke, T., Dolf, G., Jeffreys, A.J. and Wolf, R. (eds.). *DNA Fingerprinting Approaches and Application*. Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag, 243-262. p.

Bercsényi, M. (1997) A tulajdonságok öröklődése. In: *Halgazdálkodás II. gyakorlati kérdések*. MOHOSZ, Budapest, 53-69. p

Bermingham, E., Forbes, S.H., Friedland, K. and Pla, C. (1991) Discrimination between Atlantic Salmon (*Salmo salar*) of north American and European origin using restriction analyses of mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 48: 884-893.

Bernatchez, L., Guyomard, R. and Bonhomme, F. (1992) DNA sequence variation of mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout (*Salmo trutta*) populations. *Molecular Ecology*. 1: 161-174.

Bernatchez, L. and Wilson, C.C. (1998) Comparative phylogeography of Nearctic and palearctic fishes. *Molecular Ecology*. 7: 431-452.

Billard, R., Cosson, J., Perchec, G., Linhart, O. (1995) Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*. 129: 95-112.

Carter, R.E., Mair, G.C., Skibinski, D.O.F., Parkin, D.T. and Beardmore, J.A. (1991) The application of DNA fingerprinting in the analysis of gynogenesis of tilapia. *Aquaculture*. 95: 41-52.

Chang, Y.S., Huang, F.L., Lo, T.B. (1994) The complete nucleotide sequence and gene organization of carp (*Cyprinus carpio*) mitochondrial genome. *Journal of Molecular Evolution*. 38:138-155

Crooijmans, R.P.M.A., Bierbooms, V.A.F., Komen, J., Van der Poel, J.J. and Groenen, M.A.M. (1997) Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Animal Genetics*. 28: 129-134.

Cutler, M.G., Bartlett, S.E., Hartley, S.E and Davidson, W.S. (1991) A polymorphism in the ribosomal RNA genes distinguishes Atlantic Salmon (*Salmo salar*) from North America and Europe. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 48: 1655-1661.

Csizmadia, Cs., Jeney, Zs., Szerencsés, I. and Gorda, S. (1993) Pontyfajták transzferrin polimorfizmusa a szarvasi élő génbankban. XVII. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas. Összefoglalók. 5-9. p.

Csizmadia, Cs., Jeney, Zs., Szerencsés, I. and Gorda, S. (1995) Transferrin polymorphism of some races in a live gene bank of common carp. *Aquaculture*. 129:193-198.

David, L., Blum, S., Feldman, M.V., Lavi, U. and Hillel, J. (2003) Recent duplication of the Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) genome as revealed by analyses of microsatellite loci. *Molecular Biology and Evolution*. 20.9: 1425-1434

Desvignes, J.F., Laroche, J., Durand, J.D. and Bouvet, Y. (2001) Genetic variability in reared stocks of common carp (*Cyprinus carpio* L.) based on allozymes and microsatellites. *Aquaculture* 194: 291-301.

Dong, Z. and Zhou, E. (1998.) Application of the random amplified polymorphic DNA technique in a study of heterosis in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Research*. 29: 595-600.

FAO, (2002) Overview of Fish Production, Utilization Consumption and Trade. http://www.fao.org/docrep/005/y7300e/y7300e04.htm#P40_12993

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. Ceske Budejovice. 1-7. p.

Flajshans, M., Linhart, O., Slechtová and Slechta., V. (1999) Genetic resources of commercially important fish species in the Czech Republic: present state and future strategy. *Aquaculture*. 173: 471-483.

Froufe, E., Magyary, I., Lehoczky, I. and Weiss, S. (2002) mtDNA sequence data supports an Asian ancestry and single introduction of common carp into the Danube Basin. *Journal of Fish Biology*. 61: 301-304

Glaubitz, J.C. (2004) CONVERT: a user friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. *Molecular Ecology Notes*. 4: 309-310.

Gorda, S., Bakos, J., Liska, J., Kakuk, Cs. (1995) Live gene bank of common carp strains at the Fish Culture Research Institute, Szarvas. *Aquaculture*. 129: 199-202.

Gorda, S. (2004) Pontyfajták, tájfajták és hibridek összehasonlító teljesítményvizsgálata. Doktori disszertáció. Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Mezőgazdaságtudományi Kar, Állattenyésztés- és Takarmányozástani Tanszék. 150 p.

Goudet, J. (1995) Fstat version 1.2: a computer program to calculate F statistics. *Journal of Heredity*. 86: 485-486.26.

Gross, R., Kohlmann, K. and 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

Hallerman, E.M. (ed.) (2003) Population Genetics, Principles and Applications for Fisheries Scientists. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA. pp.457.

Hansen, L., Hastein, T., Naevdal, G., Saunders, L. and Thorpe, J. (1991) Interactions between cultured and wild Atlantic salmon. *Aquaculture*. 98: 1-324.

Harris, A.H., Bieger, S., Doyle, R.W. and Wright, J.M. (1991) DNA fingerprinting of tilapia, *Oreochromis niloticus* and its application to aquaculture genetics. *Aquaculture*. 92: 157-163.

Herman, O. (1887) A magyar halászat könyve I.-II., Királyi Magyar Természettudományi Társulat, Budapest. 860 p.

Horváth, L. (1980) A ponty (*Cyprinus carpio* L.) petefejlődésének elemzése és szabályozása. *A halhústermelés fejlesztése*. 9:166.

Horváth, L., Tamás, G. és Tölg, I. (1984) Special Methods in Pond Fish Husbandry. Edited by John E. Halver. Akadémiai Kiadó, Budapest és Halver Corporation, Seattle. 147. p.

Horváth, L. és Orbán, L. (1995) Genome and gene manipulation in the common carp. *Aquaculture*. 129: 157-181.

Horváth, L. és Urbányi, B. (2000) Tógazdasági haltenyésztés. In: Halbiológia és haltenyésztés. Szerk.: Horváth L. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 214-273. p.

Hunter, R.L. and Markert, C.L. (1957). Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science*. 125: 1294-1295.

Irnazarow, I. (1995) Genetic variability of of Polish and Hungarian carp lines. *Aquaculture*. 129: 215

Jászfalusi, L. (1954) Pontynemesítés. In: Tógazdasági haltenyésztés a gyakorlatban. Szerk. Maucha R. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 172-191. p.

Kashi, Y. and Soller, M. (1998) Functional roles of microsatellites and minisatellites. In: *Microsatellites*. Eds.:Goldstein, D.B. and Schlötterer, C. Oxford University Press, Oxford. 10-23. p.

Kalinowski, S. T. (2004) Counting alleles with rarefaction: Private alleles and hierarchical sampling designs. *Conservation Genetics* 5: 539-543.

Kirpichnikov, V. S. (1999) Genetics and breeding of Common carp. INRA, Paris. 1-97. p.

Kohlmann, K., Gross, R., Murakaeva, A. and 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., Kersten, P. and Flajshans, M. (2005) microsatellite-based genetic variability and differentiation of domesticated, wild and feral common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations. *Aquaculture. Special Issue: Genetics in Aquaculture VIII*. 247: 253-266.

Komen, J. (1990). Clones of common carp, *Cyprinus carpio*: New perspectives in fish research. Ph.D. thesis. Agricultural University Wageningen. 169. p.

Kuroki, T., Nogami, R. (1997) Basic koi keeping. *Nichirin*. October, 1997. 20-28.

Lansman, R.A., Shade, R.O., Shapiro, J.F. and Avise, J.C. (1981) The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations III. Techniques and potential applications. *Journal of Molecular Evolution*. 17: 214-226

Langella, O. (1999) Populations, 1.2.28 (12/5/2002) Copyright (C) CNRS UPR9034

Law, R. (1991) Fishing in evolutionary waters. *New Scientist*. March. 2. 35-37.

Leberg P.L. (2002) Estimating allelic richness: effects of sample size and bottlenecks. *Molecular Ecology*. 11: 2445-9.

Lehoczky, I., Magyary, I., Hancz, Cs. (2002) Hat hazai pontyfajta genetikai változatossága mikroszatellit DNS markerekkel vizsgálva. *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 51.1: 9-18.

Lehoczky, I., Magyary, I., Hancz, C. and Weiss S. (2005a) Preliminary studies on the genetic variability of six Hungarian common carp strains using microsatellite DNA markers. *Hydrobiologia* 533.1: 223-228.

Lehoczky, I., Jeney, Z., Magyary, I., Hancz, C. and Kohlmann, K. (2005b) 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*. Special Issue: Genetics in Aquaculture VIII. 247: 45-49.

Li, H., Schreck, C., Bond, C., Rexstad, E. (1987) Factors influencing influencing changes in fish assemblages of Pacific Northwest streams. In: *Community and evolutionary ecology of North American stream fishes*. Eds.: Matthews W.J. and Heins D.C., University of Oklahoma Press, Norman. 193-202. p.

Li, S.F.. (2001) Aquatic genetics research in China. In: Gupta, M. and Acosta, B. (eds) *Fish genetics research in member countries and institutions of the International Network on Genetics in Aquaculture*. University of Malaya, Kuala Lumpur, Malajzia, March 3-5. 15-24. p

Litt, M. and Luty, J.A. (1989) A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*. 44: 397-401.

Makino, S., (1939) The chromosomes of the carp *Cyprinus carpio* L. including those of some related species of *Cyprinidae* for comparison. *Cytologica*. 9.2: 430.

Márián, T., Krasznai, Z., Bakos, J. (1984) Transzferrin polimorfizmus vizsgálat eredménye magyarországi pontypopulációkban. *Halászat*. 30(77).4: 112-113.

McElligott, E.A., Cross, T.A. (1991) Protein variation in wild Atlantic salmon, with particular reference to southern Ireland. *Journal of Fish Biology*. 39: 35-42.

Miller, S.A., Dykes D.D. and Polesky H.F. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 16: 1215.

Moller, D. (1970) Transferrin polymorphism in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 27:1617-1625.

Nagy, A., Rajki, K., Horváth, L. and Csányi, V. (1978) Investigation on carp *Cyprinus carpio* L. gynogenesis. *Journal of Fish Biology*. 13: 215-224.

Nagy, A., Bercsényi, M. és Csányi, V. (1981) Sex reversal in carp (*Cyprinus carpio* L.) by oral administration of methyltestosterone. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic science. 38: 725-728.

Nagy, A. és Csányi, V. (1984) A new breeding system using gynogenesis and sex-reversal for fast inbreeding in carp. Theoretical and Applied Genetics. 67: 485-490.

Nei, M. (1972) Genetic distance between populations. American Naturalist. 106: 283-292.

Nei, M. (1973) Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 70.(12): 3321-3323

Nei, M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics. 89: 583-590.

Nei, M., Tajima, F., and Tateno, Y. (1983) Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. Journal of Molecular Evolution. 19: 153-170.

O'Connell, M. and Wright, J.M. (1997) Microsatellite DNA in fishes. Reviews in Fish Biology and Fisheries. 7: 331-363

Olivier Langella, Populations (1999) 1.2.28 (12/5/2002) Copyright (C), CNRS UPR9034

Ojima, Y. and Hitotsumachi, S. (1969) Cytogenetical studies in loaches (Pisces, Cobitidae). *Zoologica Magna*. 78:139-141.

Page, R. D. M. (1996) TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*. 12: 357-358.

Peters, J. (1982) Effects of river and streamflow alterations on fishery resources. *Fisheries*. 7.2: 20-22.

Pintér, K. (1989). Magyarország halai. Akadémiai Kiadó, Budapest. 109-116. p

Pintér, K. (2001) Magyarország halászata 2000-ben. *Halászat*. 94.2: 43-46.

Pintér, K. (2002) Magyarország halászata 2001-ben. *Halászat*. 95.2: 49-54.

Pintér, K. (2003) Magyarország halászata 2002-ben. *Halászat*. 96.2: 51-56.

Pintér, K. (2004) Magyarország halászata 2003-ban. *Halászat*. 97.2: 45-52.

Pintér, K. (2005) Magyarország halászata 2004-ben. *Halászat*. 98.2: 43-49.

Piry S, Alapetite A, Cornuet, J.-M., Paetkau D, Baudouin, L., Estoup, A. (2004) GeneClass2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *Journal of Heredity*. 95: 536-539.

Pogson, G.H., Mesa, K.A. and Boutillier, R.G. (1995) Genetic population structure and gene flow in the Atlantic cod *Gadus morhua*: a comparison of allozyme and nuclear RFLP loci. *Genetics*. 139: 375-385

Ranala, B. and Mountain, J.A. (1997) Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 94: 9197-9201.p.

Raymond, M., Rousset, F. (1995) GENEPOP(1.2): a population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heridity*. 86: 248-249.

Schäperclaus, W. (1961) *Lehrbuch der Teichwirtschaft*. 2. Paul Perey, Berlin/Hamburg. 170 p.

Schlötterer, C. (1998) Microsatellites. In: *Molecular Genetic Analysis of Populations: a Practical Approach 2/E* (ed. by R.A. Hoelzel). Oxford University Press, Oxford. 237-261. p.

Serman, I. M., Grinzsevszkij, M. B. and Gricunjak, I. I. (1999) *Rozvegyenija i szelekcija rib*. BMT, Kiev. 78. p.

Sick, K. (1961) Haemoglobin polymorphism in fishes. *Nature, London*. 192: 894-896

Sumantadina, K., Taniguchi, N. and Sugiarto, C. (1990) Increased variance of quantitative characters in the two types of gynogenetic diploids of Indonesian common carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 56.12: 1979-1986.

Sumantadina, K., Taniguchi, N. (1990) Comparison of electroforetic allele frequencies and genetic variability of common carp stocks from Indonesia and Japan. *Aquaculture*. 88: 263-271.

Sumantadinata, K. (1995) Present state of Common carp (*Cyprinus carpio* L.) stocks in Indonesia. *Aquaculture*. 129: 205-209.

Sun, X. and Liang, L. (2004) A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance. *Aquaculture*. 238: 165-172.

Szerencsés, I., Bakos, J., Jeney, Zs. (1990) Transzferrin (Tf) polimorfizmus vizsgálata a szarvasi ponty-fajtagyűjteményben. *Halászat*. 36(83).1: 2.

Taggart, J.B., Ferguson, A. (1990a). Minisatellite DNA fingerprints of salmonid fishes. *Animal Genetics*. 21: 377-389.

Taggart, J.B., Ferguson, A. (1990b) Hypervariable minisatellite DNA single locus probes for the Atlantic salmon, *Salmo salar* L.. *Journal of Fish Biology*. 37: 991-993.

Tanck, M.W.T., Baars, H.C.A., Kohlmann, K., Van der Poel, J.J. and Komen, J. (2000) Genetic characterization of wild Dutch common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture Research*. 31: 779-783.

Tautz, D. and Renz, M. (1984) Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research*. 12: 4127-4138

Tautz, D. (1989) Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*. 17: 6463-6471.

Thien, T. and Trong, T. (1995) Genetic resources of common carp in Vietnam. *Aquaculture*. 129: 216.

Thorpe, J., Gall, G., Lannan, J. and Nash, C. (1995) *Conservation of Fish and Shellfish Resources*. Academic Press Inc. San Diego, California. 206. p.

Urbányi B., Magyary I., Bercsényi M., Orbán L. és Horváth L. (1997). Androgenezis pontyfélékben. XIII. Állat-biotechnológiai Kerekasztal Konferencia. Salgótarján, október 16-17.

(<http://www.oai.hu/kerekasztal/XIII./urbanyi.htm>)

Váradai, L., Szilágyi, G., Horváth, L. (1993) Egynyaras pontyállomány genetikai és morfológiai elemzése a Dinnyési Ivadéknevelő Gazdaságban. *Halászat* 86: 46-48

Váradai, L. (2000) Halgenetika. In: *Halbiológia és Haltenyésztés*. Szerk.: Horváth L., Mezőgazda Kiadó, Budapest. 99-141. p.

Welsh, J. and McClelland, M. (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acid Research*. 18: 7213-7218.

Wheeler, A. and Sutcliffe, D. (1990) The biological conservation of rare fishes. *Journal of Biology*. 37: 1-271.

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. Bamidgeh. 14: 38-46.

Woynarovich, E. and Woynarovich, A. (1980) Modified technology for elimination of stickiness of common carp *Cyprinus carpio* L. eggs. Aquacultura Hungarica. 2: 19-21.

Yue, G.H., Ho, M.J., Orbán, L. and Komen, J. (2004) Microsatellites within genes and ESTs of common carp and their applicability in silver crucian carp. Aquaculture. 234: 85-98.

Zalewski, M., Thorpe, J. and Guadin, P. (1991) Fish and land/inland water ecotones. University of Lodz, Lodz. 56. p.

Zhou, J., Wu, Q., Wang, Z. and Ye, Y. (2004) Genetic Variation Analysis within and among Six Varieties of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) in China Using Microsatellite Markers. Russian Journal of Genetics 40(10): 1144-1148.

Zsolnay, A., (2000) Molekuláris genetikai módszerek. In: Fésüs, L., Komlósi, I., Varga, L., Zsolnay, A., (szerk.) Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Agroinform Kiadó és Nyomda Kft. Budapest. pp. 190

12. A témában megjelent publikációk listája

Cikkek hazai folyóiratokban:

Lehoczky, I., Magyary, I., Hancz, Cs. (2002) Hat hazai pontyfajta genetikai változatossága mikroszatellit DNS markerekkel vizsgálva, *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 51.1: 9-18

Cikkek nemzetközi folyóiratokban:

E., Froufe, I., Magyary, **I.**, **Lehoczky, S.**, Weiss. (2002) mtDNA sequence data supports an Asian ancestry and single introduction of the common carp into the Danube Basin. *Journal of Fish Biology* 61: 301-304

I., **Lehoczky, I.**, Magyary, C., Hancz, S., Weiss, (2005) Preliminary studies on the genetic variability of six Hungarian common carp strains using microsatellite DNA markers. *Hydrobiologia* 533(1): 223-228.

Lehoczky, I., Jeney, Z., Magyary, I., Hancz, C. and 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*. Special Issue: Genetics in Aquaculture VIII. 247: 45-49.

Előadások, poszterek konferenciákon:

Lehoczky, I., Magyary I., Schlötterer, C., Weiss, S. és Hancz, Cs., (2000) Néhány hazai pontyfajta DNS szintű vizsgálata. XXIV. Halászati Tudományos Tanácskozás, HAKI. Szarvas, május 24-25. Összefoglalók. 23. pp.

Lehoczky, I., Magyary, I., Schlötterer, C., Weiss, S. és Hancz, Cs. (2001) Hazai ponty fajták genetikai vizsgálata mikroszatellit DNS markerekkel. XXV. Halászati Tudományos Tanácskozás, HAKI. Szarvas, május 16-17. Összefoglalók. 50. pp.

Lehoczky, I., Magyary, I., Hancz, C., (2002) Preliminary studies on the genetic variability of six Hungarian common carp using microsatellite DNA markers. XXth Genetic Days. Brno, Czech Republic, September 12-13, Book of abstracts. 238. pp.

Lehoczky, I., Jeney, Zs., Gorda, S., Magyary, I., Hancz, Cs., (2003) Előzetes eredmények a ponty (*Cyprinus carpio* L.) élő génbankjában tartott pontyfajták genetikai változatosságáról és tisztaságáról. XXVII. Halászati Tudományos Tanácskozás, HAKI. Szarvas, május 7-8. Összefoglalók. 12. pp.

Lehoczky, I., Jeney, Z. , Magyary, I. , Hancz, C. and Kohlmann, K. (2003) 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. VIII-th International Symposium on Genetics in Aquaculture (ISGA). Puerto Varas, Chile, November 11-15, Book of abstracts. 27. pp.

Lehoczky I., Bakos, J., Gorda, S., Magyary, I., Hancz, Cs., Jeney, Zs. (2004) Előzetes eredmények az őshonos ponty fajták genetikai állapotáról *ex-situ* élő fajtabankban. XXVIII. Halászati Tudományos Tanácskozás, HAKI. Szarvas, május 12-13. Összefoglalók. 45-46. p.

Horti, Cs., Révay, T., **Lehoczky, I.,** Jeney, Zs. és Hidas, A. (2004) Génbanki pontyfajták összehasonlító vizsgálata random DNS polimorfizmus alapján. XXVIII. Halászati Tudományos Tanácskozás, HAKI. Szarvas, május 12-13. Összefoglalók. 47. pp.

Lehoczky, I., Bakos, J., Gorda, S., Hancz, C. and Jeney, Z. (2004) Genetic status of indigenous carp (*Cyprinus carpio* L.) strains in ex-situ live gene bank. Biotechnologies for quality. Aquaculture Europe 2004. Barcelona, Spain, October 20-23. European Aquaculture Society Special Publication No.34: 477-478. p.

Lehoczky, I., Wang, S., Zhou, S., Li, S. and Jeney, Z. (2005) Genetic variability of Hungarian and Chinese Common carp (*Cyprinus carpio* L.) strains, characterised by microsatellite and RAPD markers. XL. Croatian Symposium on Agriculture. Opatija, Croatia, February 15-18. Book of abstracts: 527-528. p.

Lehoczky, I., Bakos, J., Gorda, S., Hancz, Cs., Magyary, I. és Jeney, Zs. (2005) Őshonos pontyfajták (*Cyprinus carpio* L.) genetikai státusza ex-situ élő génbankban. VI. Magyar Genetikai Kongresszus. Eger, április 10-12. (poszter) Összefoglalók. 169-170. p.

Lehoczky I., Magyary I., Hancz Cs., Urbányi B., Horváth Á., Bakos J. és Jeney Zs. (2005) Genommanipulált pontyivadék vizsgálata mikroszatellit DNS markerekkel. XXIX. Halászati Tudományos Tanácskozás, HAKI. Szarvas, május 4-5. Összefoglalók. 23-24. p.

Lehoczky, I., Nagy Z.T., Magyary I., Hancz Cs., Bakos J. és Jeney Zs. (2006) A ponty (*Cyprinus carpio*) magyarországi tenyésztett és természetesvízi populációinak genetikai jellemzése. XXX. Halászati Tudományos Tanácskozás, HAKI, Szarvas, május 24-25. Összefoglalók. 54. pp.

Lehoczky, I., Nagy, Z.T., Magyary, I., Hancz, C., Bakos, J. & Jeney, Z. (2006): Conservation genetic analysis of cultured and natural-water populations of common carp (*Cyprinus carpio*) in Hungary. 1st European Congress of Conservation Biology, Eger, Hungary. Aug 22-26 pp. XX.

I. Lehoczky, Z.T. Nagy, I. Magyary, C. Hancz, J. Bakos & Z. Jeney, 2006.
Genetic characterisation of cultured and natural-water populations of common carp (*Cyprinus carpio*) in Hungary. Abstracts „IX. International Symposium on Genetics in Aquaculture”, June 26-30, Montpellier, France, p. 60.

13. A témakörön kívül megjelent egyéb publikációk

Koltai T., Magyary I., Hancz Cs., Molnar T., **Lehoczky I.**, Horn P. (2001) Nitrate-selective anion exchange resin: effects on reproduction and growth of ornamental fish. Aquarama. The 7th International Aquarium Fish & Accessories Exhibition & Conference, Singapore, 31 May – 3 June

Jeney, Z., Kormos, B., Rácz, T., Bakos, J., Bercsényi, M., **Lehoczky, I.** and Jeney, G. (2004) Stress resistance of genetically different carp (*Cyprinus carpio* L.) landraces and hybrids. Biotechnologies for quality. Aquaculture Europe 2004. Barcelona, Spain, October 20-23. European Aquaculture Society Special Publication No.34: 444-445.

Jeney, Zs., Kormos, B., Bakos, J., **Lehoczky, I.**, Rácz, T., Magyary, I., Bercsényi, M., Urbányi, B. és Jeney, G. (2004) Eltérő genetikai háttérű pontyok stressz toleranciája-A Resicarp Projekt előzetes eredményei. XXVIII. Halászati Tudományos Tanácskozás, HAKI. Szarvas, május 12-13. Összefoglalók. 42-43. p.

Kormos, B., Jeney, Z., Jeney, G., Gorda, S., **Lehoczky, I.** and Bakos, J. (2003) Stress response and physiological status of different Common carp (*Cyprinus carpio* L.) varieties kept at the live gene bank at Research Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation (HAKI) Szarvas, Hungary. VIII-th International Symposium on Genetics in Aquaculture (ISGA). Puerto Varas, Chile, November 11-15, Book of abstracts. 113. pp.

Jeney, Z., Bakos, J., Gorda, S., Kormos, B., **Lehoczky, I.**, Jeney, G. (2003) Fish genetics and maintenance of live gene banks in the Research Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation (HAKI) in Szarvas, Hungary. International Symposium "Cold Water Aquaculture : Start in the XXI. Century". Saint-Petersburg, Russia, September 8-13, Book of abstracts. 152-153. p.

Lehoczky, I., Magyary, I., Zomborszky, Z., Nagy, J., Szabó, J., Kilvinger, L., Horn, P., (2005) Gímszarvas és dámvad populációk genetikai vizsgálata mikroszatellit DNS markerekkel. II. Kaposvári Állat-egészségtani nap. Kaposvár, október 20. 76-77.p.

Magyary, I., Szekeres, Gy., Urbányi, B., Horváth, Á., Müller, F., Molnár, T., **Lehoczky, I.**, Horn, P. (2005). Gyógyszerkutató zebra-dánó (*Danio rerio*) halmodellen. Gyógyszerkutató Szimpózium, „Kihívások és eredmények”. Pécs, november 4-5.

Molnár T., Magyary I., Molnár M., Lanszki J., Bíró J., **Lehoczky I.** (2005) Genetikai vizsgálatok egy Boronka-melléki TK-n élő mocsári teknős (*Emys orbicularis*) populáción. III. Természetvédelmi Biológiai Konferencia, Eger, 2005. november 3-6. Összefoglalók. 170. p.

Lehoczky, I., Magyary, I., Sugár, L., Romvári, R., Nagy, J., Szabó, J., Kilvinger, L., Csapó, J., Dér, F., Petrás, Zs., Sipos, P., Gáspár, I., Horn, P. (2006) Research Programme on Red and Fallow Deer in the Transdanubian Region of Hungary. IV. World Deer Farming Congress, Melbourne, Australia, April 20-22.

Molnár T., Schindler M., Molnár M., Lanszki J., Bíró J., Magyar I., **Lehoczky I.** (2006) Genetic analysis of two european pond turtle (*Emys orbicularis* L.) populations located in South Hungary. 1st European Congress of Conservation Biology, Eger, Hungary. Aug 22-26 pp. XX.

14. Szakmai önéletrajz

Képzettség

Középiskola: 1991-1995: Szinyei Merse Pál Gimnázium, Budapest

Egyetem: 1995–2001: Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar (és jogelődje a PATE, ÁTK)

2001-2004. Ph.D. hallgató a Kaposvári Egyetemen

2001-2004. megbízott kutató a Halászati és Öntözési Kutató Intézetben

2004. szeptemberétől tanszéki mérnök a Kaposvári Egyetem Hal- és Társállat-tenyésztési tanszékén

Nyelvismeret:

Angol: C-típusú középfokú állami nyelvvizsga, tárgyalóképes

Spanyol: B-típusú alacsony fokú állami nyelvvizsga

Számítógépes ismeretek:

Windows alkalmazások:

Word for Windows, Excel táblázatkezelő, Powerpoint, SPSS statisztikai program

Gépjárművezetői jogosítvány: „B” kategóriás

Ösztöndíjak:

2000 február-június ÖAD ösztöndíj a Bécsi Állatorvostudományi Egyetemen, kutatómunka az Osztrák-Magyar Akció Alapítvány támogatásával

2000 augusztus-november meghívott kutató Norvégiában a Norwegian School of Veterinary Science-ben

2002 szeptember-december DAAD ösztöndíjas Berlinben a Leibniz-Institute für Gewässerökologie und Binnenfischerei-ben

Szakmai gyakorlat:

1998 augusztus-szeptember 6 hetes halászati gyakorlat a norvég Seafood-Farmers cégnél, Volda, Norvégia

15. Glosszárium

Androgenezis: Az androgenezis lényege, hogy a termékenyítés előtt a petesejtek genetikai anyagát inaktiválni kell. Az inaktiválás (besugárzás) után normál, vagy fagyasztott (mélyhűtött) spermával termékenyítünk, és így a zigóta haploid lesz (hím eredet). Ezt a haploid genomot a diploiditás helyreállítása érdekében meg kell dupláznunk (dihaploid) az első mitotikus osztódás gátlásával (Urbányi és mtsai, 1997).

A_r (allélgazdagság, allelic richness): Az allélgazdagságot az egyes populációk genetikai diverzitásának jellemzésére használjuk. Azt mutatja meg, hogy az adott mintában mennyi az allélek várható száma. (Leberg, 2002).

F_{st} - fixációs index: Az F_{st} -érték, vagyis a populációk közötti differenciáltság kifejezi a fajon belül, az egyes populációk között fennálló elkülönültség mértékét a számított (egyensúlyi) heterozigóta-arányok alapján (Nei, 1973).

Gynogenezis: A gynogenezisnek, mint eljárásnak két változata ismert: mitotikus és meiotikus gynogenezis. Mitotikus gynogenezisben az első mitózis alatt az anafázisban lévő utódsejtek elválasztó membránjának kialakulását gátolva elérhető, hogy a két haploid sejtmag fúziója a zigóta diploid státuszát visszaállítsa. A meiotikus gynogenezis során a spermium termékenyítése után alkalmazott sokkhatás meggátolja a metafázisban, meiotikus osztódásban lévő második poláros test kifűződését, így megduplázódik a zigóta genetikai állománya (Nagy és Csányi, 1984).

H_e: megfigyelt heterozigotitás, az adott lókuszon megfigyelt heterozigóták tényleges aránya

H₀: várt heterozigotitás, a Hardy-Weinberg egyensúlyban lévő populáció esetére számított heterozigóta arány

Mikroszatellit DNS marker: A mikroszatellitok, vagy egyszerű szekvencia ismétlődések (simple sequence repeats = SSR`s) rövid (1-6 bázispár) tandem-ismétlődő DNS szekvenciákat tartalmaznak, amelyeket mindkét oldalról egyedi DNS szekvenciák határolnak. Az eukarióta genomban széles körben elterjedtek. Az egyedi határoló szekvenciák lehetővé teszik ezen markerek PCR-el (polimeráz-láncreakcióval) történő amplifikálását (**O'Connell és Wright, 1997**).

Palacknyak hatás (bottleneck effect): A genetikai változatosság csökkenése, amely abból adódik, hogy egy adott populáción belül csak korlátozott számú egyed szaporodik (**Hallerman, 2003**).

PCR (Polymerase Chain Reaction): A reakció lehetővé teszi egy adott DNS szakasz in.vitro sokszorosítását. Egy vagy több DNS szekvencia közel exponenciálisan sokszorosítható egymást követő, szabályozott hőmérsékleten végrehajtott reakciók ciklusain keresztül, ahol a kiválasztott DNS szekvenciájával megegyező másolatok képződnek (**Zsolnay, 2000**).

16. Mellékletek

1. melléklet. A vizsgálatok során felhasznált pufferoldatok:

Lízis puffer:

10 mMol/l 1,21 g/l HCl

400 mMol/l 23,37 g/l NaCl

2 mMol/l 0,74 g/l Na EDTA

pH 8,2

1x TE puffer:

10 mM Tris Cl, pH 8.0

1 mM EDTA, pH 8.0

pH 8.0

1x TBE elektroforézis puffer:

89 mM bázikus Tris

89 mM bórsav

2 mM EDTA

2. melléklet. A vizsgálatok során alkalmazott mikroszatellit DNS markerek primerei (**Crooijmans et al., 1997.**)

MFW1:

F: GTC CAG ACT GTC ATC AGG AG

R: GAG GTG TAC ACT GAG TCA CGC

MFW4:

F: TCC AAG TGA GTT TAA TCA CCG

R: GGG AAG CGT TGA CAA CAA GC

MFW6:

F: ACC TGA TCA ATC CCT GGC TC

R: TTG GGA CTT TTA AAT CAC GTT G

MFW7:

F: TAC TTT GCT CAG GAC GGA TGC

R: ATC ACC TGC ACA TGG CCA CTC

MFW16:

F: GTC CAT TGT GTC AAG ATA GAG

R: TCT TCA TTT CAG GCT GCA AAG

MFW28:

F: GAT CCC TTT TGA ATT TTT CTA G

R: ACA GTG AGG TCC AGA AGT CG

MF31:

F: CCT TCC TCT GGC CAT TCT CAC

R: TAC ATC GCA GAG AAT TCG TAA G

3. melléklet. A PCR-RFLP vizsgálatokhoz használt primerek szekvenciái

ND 3/4

F: AAA GTT AGT ACA AGT GAC TTC CAA

R: TTT TGG TTC CTA AGA CCA ACG GAT

ND 5/6

F: AAC AGT TCA TCC GTT GGT CTT AGG

R: TAA CAA CGG TGG TTC TTC AAG TCA