

**LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
GYVULININKYSTĖS INSTITUTAS**

TVIRTINU:

LSMU Gyvulininkystės instituto direktorė
Violeta Juškienė
2014 m. birželio mėn. 30 d.

**ŽEMĖS, MAISTO ŪKIO IR KAIMO PLĖTROS MOKSLINIŲ TYRIMŲ IR
EKSPERIMENTINĖS PLĖTROS 2007-2013 METŲ PROGRAMA**

**GENETINĖS ĮVAIROVĖS ĮVERTINIMAS SIEKIANČIIS IŠSIAIŠKINTI PANAŠUMUS IR
SKIRTUMUS TARP LIETUVOS VIETINIŲ ŠIURKŠČIAVILNIŲ IR ŠKUDŽIŲ VEISLIŲ
AVIŲ
2014 m. ATASKAITA**

Tyrimo vadovas

Rūta Šveistienė

Baisogala

2014

PROJEKTO TIKSLAS - Nustatyti Lietuvos šurkščiavilnių avių ir š kudžių avių genetinius panašumus/skirtumus atliekant jų genetinius tyrimus bei palyginti šias veisles su kitomis šiaurės Europos veislėmis

NUMATOMI SPREŠTI UŽDAVINIAI

1. Atlikti kilmės duomenų analizę esančių Lietuvoje š kudžių veislės avių, ir Lietuvos vietinių šurkščiavilnių avių, siekiant nustatyti giminingumo laipsnį. Sudaryti tiriamųjų grupes.
2. Atlikti avių genotipavimą su 15 mikrosatelitų markerių (BM757, BM1314, BM6526, BM6506, BM8125, BM1818, BM4621, MAF48, MCM527, OarCP20, CSSM31, MAF65, MAF214, MAF36, INRA023).
3. Atlikti genominius tyrimus siekiant nustatyti genetinį panašumą ar skirtumus tarp Lietuvos vietinių ir š kudžių veislės avių.
4. Atlikti gautų duomenų analizę ir palyginimą su šiaurės Europos avių veislėmis.
5. Atlikti gautų rezultatų apibendrinimą ir pateikti išvadas

ĮVADAS

Lietuvoje buvo veisiamos šiaurės trumpauodegės ir ilgauodegės avys, kaip ir visoje Šiaurės Europoje, kurių mišrinimo pasekoje susiformavo dabartinės Lietuvos šurkščiavilnės avys.

Vokietijoje veisiamos š kudžių veislės avys yra pripažintos kaip jų vietinė veislė. Istoriskai š kudžių avių veislė kildinama iš Rytų Prūsijos ir Baltijos jūros arealo, tačiau kai kuriuose Vokiškuose šaltiniuose yra teigiama, kad Š kudžių avių veislė gali net iš Lietuvos.

Pastaruoju metu į Lietuvą iš Vokietijos ir Lenkijos kai kuriems augintojams atsivežus Š kudžių veislės avių tikslinga atlikti išsaugotų Lietuvos šurkščiavilnių avių ir iš užsienio šalių įvežtų Š kudžių avių palyginamąjį įvertinimą. Norint nustatyti šių veislių genetinį panašumą/skirtumą yra atliekami jų genetiniai tyrimai ir gauti rezultatai bus palyginti su kitomis šiaurės Europos veislėmis

Š kudžių avių kilmės aiškinimas

Islandijos avininkystės mokslininkai O.R. Dyrmondsson ir R. Niznikowski (Animal, 2010) savo mokslinėje publikacijoje š kudžių avių kilmės šalimi laiko Vokietiją.

G. Stieger 1888 m. disertacijoje ir monografijoje Haidšniuke (1888, 242) š kudės apibūdina kaip tarpinę formą tarp Islandijos avių ir Mozūrų Haidešniukės, vadinamos Mozūrų avimi. “Skudde“ avių veislė priklauso Šiaurės trumpauodegių grupei, laikoma Šiaurės Europoje. Manoma,

kad iki XX a. škodžių avys klajėjo Baltijos jūros areale, Šveicarijos Alpių ir Rytų Prūsijos keliais. Spėjama, kad škodės buvo domestikuotos vikingų avys (keltų), keliavusios kartu su jais.

Remiantis škodžių vilnos siūlų, randamų kasinėjant, tyrimais, teigiama, kad škodžių veislė kilusi iš Danijos regiono ir išplitusi po visą Šiaurės Europos kontinentą iki Pabaltijo. Manoma, kad jau prieš 2000 metų škodės aprūpino Danijos gyventojus kasdieniais rūbais (Skuddenhof Herrschaftliches).

Lietuvos teritorijoje veistos šiuurkščiavilnės avys buvo labai artimos paprastosioms lenkų šiuurkščiavilnėms avims, kurios, pagal J. Bohm, priskiriamos ilgauodegių šiuurkščiavilnių avių pogrupiui. Lenkų šiuurkščiavilnė avis labai panaši į Bavarijos šiuurkščiavilnę avį (Landschaf), buvusi su ja vienos kilmės, tik ilgaiui dėl skirtingų laikymo ir šėrimo sąlygų nutolusi nuo pastarosios. Lietuvos rytiniuose rajonuose buvo veisiamos ir šiaurės trumpauodegių tipo vietinės šiuurkščiavilnės avys. Tačiau ilgaiui skirtumai tarp minėtų šiuurkščiavilnių avių tipų dėl mišrinimo mažėjo ir susiformavo avys su tarpinio pobūdžio požymiais, dabartinės Lietuvos vietinės šiuurkščiavilnės avys (E.Šveistienė, 2010, B. Zapasnikienė).

Nuo 1844 m. iki šių dienų bei tarpukario Lietuvos laikų metraščiuose, informacijos apie škodžių avis Lietuvoje aptikti nepavyko. Išskyrus tai, kad 1911 m. Kionigsbergo universiteto Gyvulininkystės instituto profesorius dr. W. Voltz tyrė Klaipėdos krašto ir Lietuvos senojo tipo vietinę avį, kurią jis pavadino Škude (Skudde). Taigi, galime daryti prielaidą, kad germanizacijos metu vokiečiai galėjo į Lietuvą atsivežti škodžių avių.

Skudų kilmė: Skudų avys yra laikomos seniausia avių veisle Prūsijos teritorijoje (Trunz, 1919; Kirsevh, 1927). Iki Antrojo pasaulinio karo avių buvo randama Vokietijoje, Rytų Prūsijoje, Lietuvoje, Šiaurės Lenkijos regione Nisna Podolaska (G. Kurt, 2009, Truckenbrot, 1941; Golf, 1944; Diener, 1949 ; Trunz, 1969).

Tuo metu Vokietijos veislininkystės knygose škodžių veislės avys yra minimos kaip atskira veislė. Rašytiniuose Falck šaltiniuose (1923, 757) aprašoma, kad Diupelyje buvo tiriamos nykstančios senų laikų Škodžių avys.

Dabartinė škodžių avių populiacija yra atkurta Vokietijoje (visoje Vokietijos teritorijoje) ilgalaikio selekcinio darbo pasekoje, kuris buvo vykdomas tiek rytų, tiek ir vakarų Vokietijoje (D. Broettecher, 2008). Po Antrojo pasaulinio karo Vokietijoje susirūpinta veislės išsaugojimu Miuncheno ir Leipcigo zoologijos soduose, Hellabrunn gyvūnų parke (1941) bei gyventojų ūkiuose. Iš čia ši veislė vėl paplito privatininkų mėgėjų (Hobbyhaltern) ūkiuose.

Duppeldorfo muziejuje škodės pradėtos saugoti nuo 1982 metų. 1941 m. atkuriant škodžių veislę ir siekiant praplėsti šių avių genealogiją, vokiečiai panaudojo importuotas šiuurkščiaivilnes avis iš Vroclavo, Poznanės ir Lietuvos, o 1989 m. iš Lietuvos antrą kartą buvo importuotos vietinės šiuurkščiaivilnes avys (prof. Ernst prašymu, šių avių paieškoje ir atrankoje dalyvavo Lietuvos gyvulininkystės instituto darbuotoja dr. B. Zapasnikienė). Todėl manome, kad škodžių veislės avių genetinių išteklių išsaugojimo, tęstinumo ir monitoringo studijoje (A. Svitojus, K. Samušis, L. Anskienė) yra neteisingai pateikiama informacija, kad iš Lietuvos buvo atrinktos ir išvežtos škodžių veislės avys.

Filogeninis Škodžių avių pavadinimo kilmės aiškinimas

Nėra aišku, nuo kada pradėtas naudoti šis veislės pavadinimas. Manoma, jog jis kildinamas iš Lietuvos, be to, tai galėtų būti senosios Prūsijos palikimas. Taip pat jis gali būti kilęs iš XIII-o amžiaus prūsų pavardžių „Scuudde“, „Schudde“, „Schude“, „Scude“ ir „Scudy“ ar vietovardžių pavadinimų.

Vokietijos-Lietuvos regione žodis „Skudde“ buvo taikomas bendrai avims, o ne atskirai vienai avių veislei. Čeponis (1985) nurodo, jog Lietuvoje, Skuodo regione, avys buvo laikomos iki 1940-ųjų. Tačiau po Antrojo pasaulinio karo šių avių Lietuvoje neišliko. Todėl Knabe ir kt. (1985) savo samprotavimuose iškelė hipotezę, kad škodžių veislė yra kilusi iš Lietuvos, nes veislės pavadinimas kildinamas nuo Skuodo pavadinimo, tačiau žemaičiai sako ne Skuodas, bet „Skouds“. Veislės pavadinimas galėtų būti kilęs nuo žemaitiško žodžio „kūdas“ (liesas, menkas).

Pagal Knabe ir kt. (1988), pavadinimo kilmė (Skud(y)) siejama su Lietuvos-Lenkijos teritorijoje naudotu šaukiamuoju žodeliu, naudotu avims (par-) nuvyti – „kut, kut, kut“. Tolksdorf (1988) patvirtino tai. Anot Thilo (1921), žodis Skudde reiškia skurdus, menkas (angl. scanty). Lietuvoje žmonės, norėdami išvartyti avis, sakydavo „škude ..., škude...“ (P. Cvirka, 1984).

Klaipėdos universiteto, Baltijos regiono istorijos ir archeologijos instituto mokslininkų teigimu, sunku nustatyti žodžio Skudde kilmę. Žodžiai su šaknim skud-/ skaud- baltų kalbose gerai žinomi. Jų pamatinė reikšmė „plėšti, drėksti, lupti“, iš čia ir „skaudėti, skusti, aižėti, džiūti“ ir pan. Tiek kuršiai, tiek lietuviai turi nemažai šių žodžių vedinių: „*skudurai, skudučiai, skudras, greitas, vikrus*“. Asmenvardžiai koncentruojasi palatvijoje, žinomi kuršininkai pavardėmis Skudė, Skudikis iš Šventosios. Latvių pavardės Skude ir Skudikis sutinkamos pajūryje ir Rygoje, taigi skandinaviška jų kilmė nestebina. Latviai turi daugybę švedišku asmenvardžių (ypač miestuose) iš "auksinių" Švedijos valdymo laikų.

D.Broettcher 2008 m. teigė, kad daiktavardis skudde kildinamas iš senovės prūsų vardų pavadinimų. Senovės prūsų daiktavardžių, vardų sistema buvo sukurta indogermanų nomenklatūros principu. Prūsų vietovardžiai yra Schudey, Scudeyken, Skuditen, Skude wezege ir t.t. 1296/99 Rytų Prūsijoje, Heisbergo srityje, gyveno Scude, Schude, Scudi. Pagal rūmų tarybą, pagrindiniai gyventojai –skudai (Scude). 1785 m. Rytų prūsijos kraštuose Insterburge, Memelyje (Klaipėda) ir Tilsite (Tilžė) buvo sutinkami vietovių pavadinimai Schudereiten, Schudiken, Schudienen ir.t.t. Tik čia įvyko sich, sch kaita. 1785 m. randama nuorodų į šiaurinį Memelio (Klaipėdos) kraštą prie Lietuvos sienos, rastos vietovės prie kunigaikščių ūkinių dvarų su pavadinimais Skudden arba Woyduschen - Skudde.

Taigi, Skuddu pavadinimas kildinamas iš prūsų šeimos pavadinimo arba vietovės.

2011 m. rugpjūčio mėn. 11 d. Lietuvos škodžių avių augintojų asociacija kreipėsi į Žemės ūkio gyvūnų genetinių išteklių koordinavimo tarybą, prašydami įtraukti škodžių avių veislę į Lietuvos tautinio paveldo produktų registrą ir į Lietuvos genetinių išteklių sąrašą. Taryboje buvo priimtas sprendimas atlikti išsamesnę škodžių avių kilmės analizę, kuri turėjo būti parengta remiantis moksline literatūra, o ne informacija, pateikta internetiniuose įvairių organizacijų tinklalapiuose. 2012-03-13 buvo pristatyta „Škodžių veislės avių genetinių išteklių išsaugojimo, tęstinumo ir monitoringo studija“, tačiau dėl nepakankamos argumentacijos šios veislės avys į Lietuvos genetinių išteklių sąrašą nebuvo įtrauktos. Papildomas kreipimasis dėl škodžių avių buvo svarstomas 2012-07-19 tarybos posėdyje, kuriame buvo nuspręsta parengti veislių klasifikatorių, pagal kurį būtų galima klasifikuoti veisles. Pagal preliminarų veislių klasifikatorių, kuris parengtas atsižvelgiant į Pasaulio Jungtinių tautų maisto ir žemės ūkio organizacijos (FAO, 2007) rekomendacijas, škodžių avių veislė galėtų būti priskirta prie regioninių tarpvalstybinių veislių (veislės, kurios yra paplitusios daugiau nei vienoje šalyje (FAO)), jeigu šios veislės avys būtų registruojamos, vertinamos ir įtraukiamos į kilmės knygą pagal veislinėms avims keliamus reikalavimus, nurodytus LR Veislininkystės įstatyme. Remiantis Pasaulio Jungtinių tautų maisto ir žemės ūkio organizacijos Maisto ir žemės ūkio Genetinių išteklių komisijos 2007 metais pateikta specialių terminų klasifikacija, vietine vadinamos veislės, kuri yra sutinkamos tik tos šalies teritorijoje.

Remiantis Babette Balzer (Federal Agency for Agriculture and Food Information and Coordination Centre for Biological Diversity Animal Genetic Resources, Germany), škodžių avių veislė yra pripažinta Vokietijos vietine veisle. Šis sprendimas buvo priimtas remiantis Vokietijos

veislininkystės įstatymu (2006), kuriame vietine veisle pripažįstamos veislės, kurių kilmės knyga vedama nuo 1949 metų.

Pasaulio Jungtinių tautų maisto ir žemės ūkio organizacijos (FAO) Maisto ir žemės ūkio genetinių išteklių komisijos tarptautinėje duomenų bazėje škodžių avių veislė yra įtraukta į tarpvalstybinių veislių sąrašą (2013.04.10, <http://dad.fao.org/>), nes šios veislės avys yra veisiamos trijose kaimyninėse šalyse (1 lentelė). Pagal FAO (2007) veislių klasifikatorių, vietinėms veislėms priskiriamos veislės, kurios susiformavo ar yra kilusios tik vienoje šalyje. 1 lentelė. Veislinių škodžių avių paplitimas (2013 04 10) <http://dad.fao.org/>

Šalys	Veislinių gyvūnų skaičius	Veislinių patelių skaičius	Veislinių patinų skaičius	Vedamos kilmės knygos	Pripažįsta vietine veisle
Vokietija	3376	3055	321	taip	Vietinė
Šveicarija	800	700	113	taip	Nevietinė
Olandija	2973	427	75	taip	Nevietinė
Bendras skaičius	7149	4182	509		

Škodžių veislės avys pirmą kartą į Lietuvą importuotos 2005 metais iš Vokietijos. 2011 m. buvo įkurta Lietuvos škodžių avių augintojų asociacija, vienijanti šios veislės avių augintojus. Lietuvos ūkinių gyvūnų registro duomenimis (2013-04-12), Lietuvoje užregistruotos 279 škodžių veislės avys (139 ėriavedės, ir 73 avinai). Tačiau Lietuvos Škodžių avių augintojų asociacija nėra pripažinta veislininkystės institucija, kuriai būtų suteikta teisė vesti šios veislės kilmės knygą, nėra patvirtintos selekcinės programos ir nevedamas veislinių gyvulių registras. Škodžių veislės avys yra veisiamos ir kitose Europos šalyse: Lenkijoje, Danijoje ir kt., tačiau atskiros kilmės knygos šiose šalyse nevedamos. Danijoje škodžių veislės avys yra pristatomos kaip senosios vikingų avys, tačiau jos nėra pripažįstamos Danijos vietinėmis avimis.

TYRIMO OBJEKTAS IR METODAI

Tyrimui buvo naudotos trys avių veislės:

Lietuvoje esančios škodžių veislės avys,

Lietuvos vietinės šiurkčiavilnės avys

Lietuvos juodgalvės avys - referentine veislė.

Kilmės duomenų analizė atlikta analizuojant gautus duomenis iš VIC duomenų bazės bei pripažintos veislininkystės institucijos vedamų kilmės knygų duomenų bei Lietuvos škodžių augintojų asociacijos pateiktų škodžių veislės avių kilmės duomenų. Taip pat buvo analizuojami importuotų avių kilmės

sertifikatai. Remiantis kilmės duomenimis buvo nustatoma Lietuvoje auginamų škodžių veislės avių, ir Lietuvos vietinių šiurkščiavilnių avių kilmė. Remiantis kilmės duomenų analize buvo nustatytas preliminarius giminingumo laipsnis ir sudarytos tiriamųjų avių grupės tolimesniems tyrimams.

DNR ekstrakcija Chelex dervų pagalba. 200 µl kraujo supilama į 1,5 ml mėgintuvėlį. Mėgintuvėlio turinys užpilamas lizavimo buferiu - 200µl ir 25 µl proteinazė K. Mėgintuvėliai 30 s. (kuo ilgiau tuo geriau) maišomi maišyklės „Vortex“ pagalba. Mėgintuvėlis kaitinamas 70 C temperatūroje 15 min. Pakaitintas mišinys užpilamas 210 µl etanoliu (96 %). Mėgintuvėliai 20 s. (kuo ilgiau tuo geriau) maišomi maišyklės „Vortex“ pagalba. Mišinys supilamas į 2 ml. Centrifugavimo mėgintuvėlius su filtru. Centrifuguojami 1 min. 11000 x g greičiu. Toliau atliekamas mėginio plovimas dviem buferiais (BW ir B5) centrifuguojant 1 min. 11000 x g greičiu.

Išplauta medžiaga supilama į 1,5 ml mėgintuvėlius ir užpilamas 100 µl išskyrimo buferis BE(kuris pakaitintas iki 70 C) ir laikoma kambario temperatūroje 1 min. ir centrifuguojama 1 min 11000 x g greičiu. DNR išskirta 2 kartus po 72, viso atlikta 144 DNR išskyrimai.

DNR švarumo, koncentracijos ir kiekio nustatymas. Genominės DNR kiekis ir grynumas buvo nustatomas spektrofotometrinio metodo pagalba (DNA/RNA Spectronic Biomate 3 Vv-Vis). Tam tikslui paruošiamas 100 µl skiestos DNR tirpalas: imama 10 µl koncentruotos DNR ir skiedžiama 90µl distiliuotu vandeniu. DNR kiekis nustatomas išmatuojant skiesto tirpalo optinį tankį (OD) prie 260nm bangos ilgio. Kai OD = 1, tai 1 ml tirpalo yra 50ug dvigrandės DNR. DNR kokybę įvertinama išmatavus skiesto tirpalo optinius tankius prie 260 ir 280 nm bangos ilgių. Švarumą rodo santykis OD260/OD280. Švarių DNR tirpalų santykis yra 1.8-2.0. Jei tirpale yra baltymų ar fenolio priemaišų, šis santykis bus mažesnis nei nurodyta. Baltymų koncentracija neturi viršyti 0.5 mg/ml ribos. DNR švarumas, koncentracija ir kiekis buvo nustatomas 2 kartus po 72 pavyzdžius, viso atliktas 144 pavyzdžių DNR švarumo, koncentracijos ir kiekio nustatymas

Mikrosatelitų tyrimas. Atlikti trijų avių veislių, 72 avių genotipavimas su 18 mikrosatelitų markerių Nitros mokslinių tyrimų centre (Animal Production Research Centre Nitra, Centrum výskumu živočišnej výroby Nitra). Buvo ištirti šie mikrosatelitai: CP49, CSRD247, FCB0011, FCB128, FCB304, HSC, INRA063, INRA132, MAF0214, SPS115, D5S2, FCB20, INRA0005, MAF209, MAF65, McM527, SPS113, TCRVB6

Genominis tyrimas. Atlikti trijų avių veislių 72 avių genominiai tyrimai naudojant 12 žymenų. Tyrimai buvo atlikti Geneseek, Neogen tyrimų centre, Linkolne, Jungtinėse Amerikos valstijose (European Headquarters of Neogen Corporation). Tyrimai atlikti siekiant nustatyti genetinį panašumą ar skirtumus tarp Lietuvos vietinių ir škodžių veislės avių. Tyrimui buvo naudotas vienas iš geno integralinės analizės metodų t.y.: Pavienių nukleotidų polimorfizmas - SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Pavienių nukleotidų polimorfizmas vieno geno koduojamiems požymiams randamas remiantis atsiradusiomis mutacijomis, kitose DNR sekose tiriama panaudojant tam tikrus metodus.

Gautų duomenys palyginimo analizė buvo atlikta naudojantis SheepHapMap SNP duomenimis (Kijas et al., 2012). Siekiant gauti platesnę informaciją apie tiriamų Lietuvos veislių avių populiacijas, gauti duomenys buvo lyginami su šiaurės Europos avių veislėmis.

1 lentelė. Avių veislių sąrašas su kuriomis buvo lyginami tyrimo metu gauti duomenys

Veislė	Šalis
Dorseto raguotosios (Dorset Horn)	Britanija
Škotijos juodgalvės (Scottish Blackface)	Britanija
Viltšyro (Wiltshire)	Britanija
Suomių avis (Finnsheep)	Suomija
Juodgalviai mutonai (Black Headed Mutton)	Vokietija
Rytų fryzų rudosios (East Friesian Brown)	Vokietija
Vokietijos tekseliai (German Texel)	Vokietija
Senosios Norvegijos Spaelsau (Old Norwegian Spaelsau)	Norvegija
Bundner Oberlander	Šveicarija
Šveicarų kalnų juodai-rudosios (Swiss Black-Brown Mountain)	Šveicarija
Swiss Mirror	Šveicarija
Šveicarų Alpių baltosios (Swiss White Alpine)	Šveicarija
Valų juodnosės (Valais Blacknose)	Šveicarija

Analizei buvo panaudoti 9583 bendri SNP markeriai pagrindinėms Lietuvos veislėms ir veislėmis referentėms kurių duomenys buvo prieinami statistiniam jų apdorojimui. Iš viso atlikta statistinė analizė 509 avių iš 16 skirtingų populiacijų. Tyrimų statistinę analizę ir gautų duomenų palyginimą su kitomis veislėmis padėjo atlikti Suomijos tyrimų centro (MTT Agrifood Research Finland) mokslininkas – genetikas M. Tapio.

REZULTATAI

Tyrimų pradžioje buvo atlikta kilmės duomenų analizė, siekiant nustatyti giminingumo laipsnį tarp tos pačios veislės avių ir atrinkti tinkamiausius, mažiausiai giminingus gyvūnus pavyzdžių paėmimui, ir sudarytos tiriamųjų avių grupės (po 24 avis kiekvienoje grupėje) iš Lietuvoje esančių škodžių, Lietuvos vietinių šturkščiavilnių ir referentinės avių veislės - Lietuvos juodgalvių.

Vertinant tiek Lietuvos šturkščiavilnių, tiek ir Lietuvos juodgalvių avių kilmės, buvo remtasi Lietuvos avių augintojų asociacijos veislinių avių duomenų baze. Abiejų veislių avys tyrimui buvo atrenkamos tik grynaveislės, atsižvelgiant į jų kilmę ir avinų linijų įvairovę.

Škodžių avių kilmės duomenys buvo analizuojami remiantis Ūkinių gyvūnų registro duomenų baze (1 lentelė) bei tikrinant atvežtinių, dar gyvų esančių, avių kilmės dokumentus, kuriuos pateikė Lietuvos škodžių avių augintojų asociacija. Į Lietuvą škodžių veislės avys buvo importuotos 2005 m., 2011 m. įkurta Lietuvos škodžių avių asociacija, bet kilmės knyga nevedama.

1 lentelė. Škodžių avių skaičiai pagal savivaldybes ir pagal motinų kilmės šalį.

LAIKYMOSAVIVALDYBE	Avių skaičius	Motinų kilmės šalis				Nenurodyta kilmė
		Lenkija	Vokietija	Lietuva	Belgija	
Alytaus r. sav.	12		9	3		
Birštono sav.	2		9	4		
Klaipėdos r. sav.	28	9	12	3	1	2
Kretingos r. sav.	3		2	1		
Kupiškio r. sav.	19	10	2	8		
Mažeikių r. sav.	36	31		5		
Molėtų r. sav.	82	12	18	36	3	12
Pakruojo r. sav.	12	1	7	1	3	
Panevėžio r. sav.	14	3	8		3	
Plungės r. sav.	8	2	5		1	
Raseinių r. sav.	15		9			5
Šalčininkų r. sav.	10		6	1	2	
Šilutės r. sav.	19		12	5	2	
Širvintų r. sav.	9	7	1	1		
Švenčionių r. sav.	32	2	13	11		6
Tauragės r. sav.	7	5		2		
Trakų r. sav.	26		8	15		3
Ukmergės r. sav.	8	1	3	3	1	
Utenos r. sav.	43	7	22	9	2	3
Varėnos r. sav.	4	1	1	2		
Vilniaus r. sav.	12	5	4		3	

Zarasų r. sav.	14	12	1	1		
Viso	415	108	152	111	21	31

TIRIAMŲ POPULIACIJŲ MIKROSATELITŲ DUOMENYS

Viso tyrimo metu 18 mikrosatelitų lokusų nustatyti 164 aleliai. Vidutiniškas alelių skaičius lokuse buvo 9,1 ir nebuvo aptikta nenustatytų žymenų. Bendrai ištirtuose mėginiuose nustatyta genų įvairavimas nuo 0,67 iki 0,88 (2 lentelė).

2 lentelė. Bendra trijų tiriamų avių veislių mikrosatelitų lokusų duomenų analizė (heterozigotiškumas (Hobs), objektyvi genų įvairovė (Hexp))

Marker	N	A	Hobs	Hexp
CP49	72	14	0.85	0.82
CSR247	72	10	0.57	0.73
FCB0011	72	10	0.79	0.85
FCB128	72	7	0.49	0.67
FCB304	72	10	0.62	0.80
HSC	72	10	0.64	0.75
INRA063	72	12	0.83	0.84
INRA132	72	8	0.74	0.83
MAF0214	72	6	0.53	0.68
SPS115	72	9	0.72	0.84
D5S2	72	5	0.57	0.79
FCB20	72	8	0.68	0.78
INRA0005	72	11	0.71	0.88
MAF209	72	11	0.83	0.87
MAF65	72	9	0.74	0.81
McM527	72	8	0.67	0.78
SPS113	72	7	0.75	0.75
TCRVB6	72	9	0.53	0.71

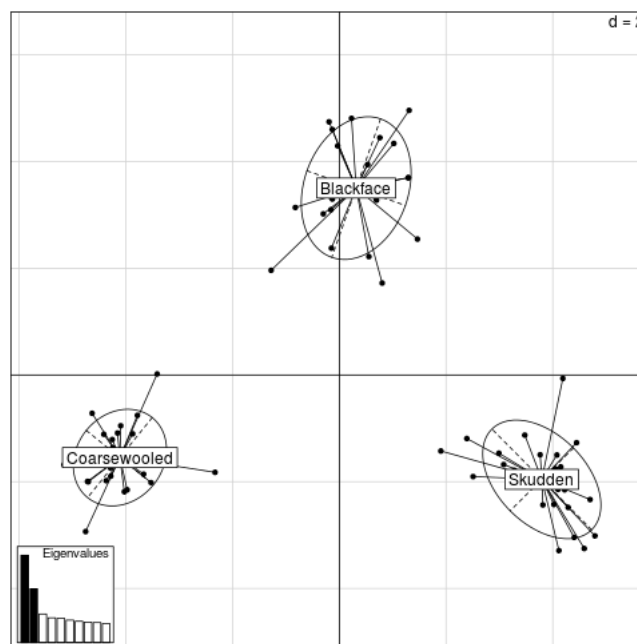
Iš visų duomenų analizės, pagal siūlomą bendrą populiacijos struktūrą buvo aiškiai išreikštas inbrydingas, jeigu tai būtų buvusi viena populiacija ($FIS = 0,140591$, $p = 0,0002$). Atsižvelgiant į tai, kad analizuojamos trys atskiros populiacijos, nenustatytos tinkamos Hardžio ir Vainbergo dėsnio nuokrypio proporcijos tarp siūlomų populiacijų.

Mikrosatelitų alelių skaičius, nustatytas atskirose populiacijose, svyruoja nuo 78 iki 117, o genų įvairovė svyruoja nuo 0,63 iki 0,74. Lietuvos šiuurkščiavilnių avių populiacija yra mažiausiai kintanti populiacija, o sintetinė Lietuvos juodgalvių avių populiacija - daugiausiai kintanti (3 lentelė). Genų įvairovė (*H_{exp}*) ir alelių skaičius koreliuoja tarpusavyje.

Lietuvos juodgalvės parodė ženklų vidinės substruktūros ar reikšmingą inbrydingą pagal patikimą *F_{is}* rodiklį (2 lentelė). Tikrai šiuurkščiavilnės parodė patikimą ($p=0,024$) genetinės įvairovės sumažėjimą pagal alelių skaičiaus ir efektyvios populiacijos dydį.

3 lentelė. Trijų tiriamų veislių populiacijų įvairovė pagal mikrosatelitų duomenis (stebimas heterozigotiškumas (*H_{obs}*), objektyvi genų įvairovė (*H_{exp}*), inbrydingo koeficientas (*F_{is}*) ir patikimumas (<0.0001) pagal Hardy-Weinberg nukrypimą).

Veislės	N	MNA	A	Hobs	HexpU	Fis	Fis 95% CI
Škudės	24	6.00	108	0.69	0.68	-0,03	[-0.092; 0.035]
Šiuurkščiavilnės	24	4.33	78	0.66	0.63	-0,04	[-0.085; 0.009]
Lietuvos Juodgalvės	24	6.50	117	0.69	0.74	0.06	[-0.008; 0.137]



1 paveikslas. Avių populiacijų pagrindinių komponentų analizė pagal mikrosatelitų analizės duomenis

Remiantis mikrosatelitų pagrindinių komponentų analizės duomenimis nustatyti labai ryškūs skirtumai tarp visų trijų populiacijų. Atlikę pagrindinių komponentų analizę (1 pav.) galime

teigti, kad Lietuvos šiuurkščiavilnės ir škuodės labai stipriai skiriasi tarpusavyje. Diagrama rodo, kad visos trys populiacijos aiškiai išsidėsčiusios atskiruose laukuose ir viena nuo kitos nutolusios vienu atstumu.

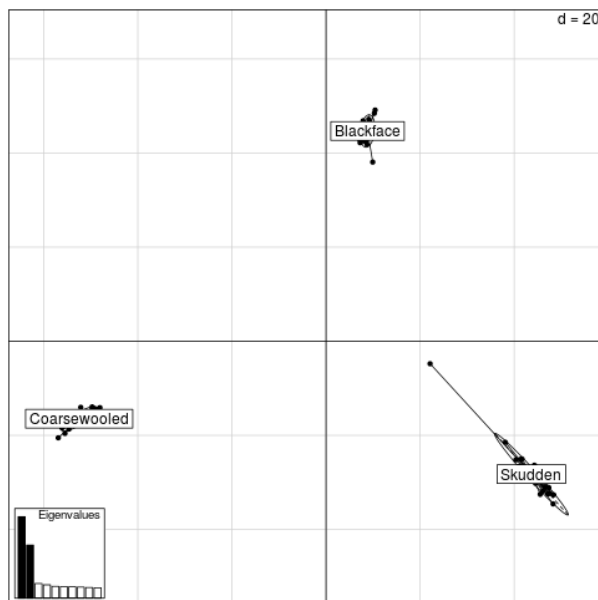
TIRIAMŲ POPULIACIJŲ GENOMO TYRIMŲ (SNP) DUOMENYS

Remiantis genomo pavienių nukleotidų analize alelių skaičius, nustatytas atskirose populiacijose, svyruoja nuo 17850 iki 19066, o genų įvairovė svyruoja nuo 0,33 iki 0,41. Remiantis genomo analize gauti panašūs duomenys kaip ir pagal mikrosatelitų analizę. Lietuvos šiuurkščiavilnių avių populiacija pagal genomo SNP analizę yra mažiausiai kintanti populiacija, o sintetinė Lietuvos juodgalvių avių populiacija - daugiausiai kintanti (4 lentelė).

4 lentelė. Trijų tiriamų veislių populiacijų įvairovė pagal genomo (SNP) duomenis (stebimas heterozigotiškumas (*Hobs*), objektyvi genų įvairovė (*Hexp*), inbrydingo koeficientas (*Fis*) ir patikimumas (<0.0001) pagal Hardy-Weinberg nukrypimą.

Veislės	N	MNA	A	Hobs	HexpU	Fis	Fis 95% CI
Škuodės	24	1.96	18799	0.36	0.36	0.01	[-0.011; -0.002]
Šiuurkščiavilnės	24	1.86	17850	0.34	0.33	0.03	[-0.039; -0.029]
Lietuvos Juodgalvės	24	1.98	19066	0.41	0.41	0.00	[-0.000; 0.008]

Atlikę pagrindinių komponentių analizę (2 pav.) galime teigti, kad Lietuvos šiuurkščiavilnės ir škuodės labai stipriai skiriasi tarpusavyje. Pagrindinė komponentių analizė pagal tikrinio skaičiaus pirmąsias dvi komponentes paaikškina 15,1 ir 9,9% kintamumo imtį. Remiantis genomo analize pastebimas kai kurių škuodžių veislės avių atitolimas nuo bendros tiriamos populiacijos. Tai gali būti įtakota atsitiktinio mišrinimo su kitomis avių veislėmis (2 paveikslas).



2 paveikslas. Avių populiacijų pagrindinių komponentėlių analizė pagal genomo rezultatus (SNP)

Kaip matosi iš kairiajame kampe esančios diagramos, dvi pirmosios tikrinio skaičiaus (eigenvalues) komponentės paaiškina 12 ir 8% nuokrypį, kuris yra pakankamas, apibūdinant pagrindinę populiacijų struktūrą.

TIRIAMŪJŲ AVIŲ POPULIACIJŲ SNP DUOMENŲ Palyginimas su Referentinėmis Populiacijomis

Siekiant atskleisti filogeninį veislių grupavimą ir palyginti genetinį kintamumą tarp Lietuvoje auginamų Lietuvos šiuurkščiavilnių, škuožių, Lietuvos juodgalvių ir šiaurės Europos avių veislių, gauti duomenys buvo analizuoti, sujungiant juos su kitų šalių veislių analizės duomenimis. Atlikus veislių palyginamąjį vertinimą, buvo nustatyta, kad Lietuvos šiuurkščiavilnės avys turi mažiausią alelių skaičių arba polimorfinių markerių proporcijas (5 lentelė). Penkta mažiausia pagal alelių skaičių yra škuožių populiacija, panašiai kaip Dorseto raguotosios veislė. Lietuvos juodgalvių avių populiacija yra ketvirta, lyginant su kitomis populiacijomis, turinčiomis didžiausią alelių skaičių, t.y. po suomių avių, vokiečių tekselių ir Škotijos juodgalvių.

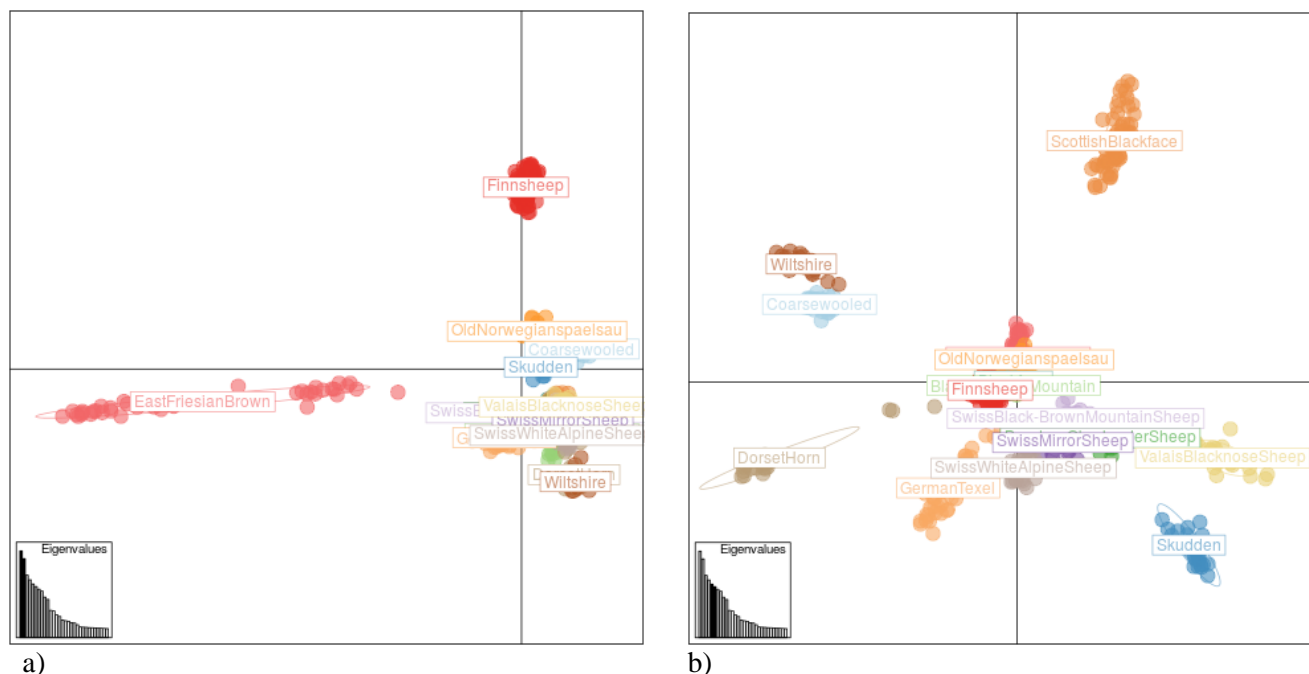
5 Lentelė. Analizuotos avių populiacijos (veislės), pavyzdžių ėmimo šalis (Šalis), pavyzdžių skaičius (N), nustatytų alelių skaičius (Nall), polimorfinių markerių santykis (Ppoly), mažiausių alelių dažnio vidurkis (MAF), stebimas heterozigotiškumas (Hobs), objektyvi genų įvairovė (Hexp),

inbrydingo koeficientas (*Fis*) ir patikimumas (<0.0001) pagal Hardy-Weinberg nukrypimą kiekvienoje veislėje, remiantis 9583 SNP markeriais.

Breed	Šalis	N	Nall	Ppoly	MAF	Hobs	Hexp	<i>Fis</i>	HWE _d
Škudės	Lietuva	24	18799	0.981	0.27	0.36	0.36	0.01	
Lietuvos šiurkščiavilnės	Lietuva	24	17850	0.931	0.24	0.34	0.33	0.03	
Lietuvos juodgalvės	Lietuva	24	19066	0.995	0.31	0.41	0.41	0.00	
Dorseto raguotosios	Britanija	21	18799	0.981	0.25	0.36	0.34	0.06	
Škotijos juodgalvės	Britanija	56	19108	0.997	0.32	0.41	0.41	0.00	
Viltšyro	Britanija	17	18173	0.948	0.22	0.31	0.31	0.01	1
Suomių avis	Suomija	99	19132	0.998	0.32	0.39	0.40	-0.03	2
Juodgalviai mutonai	Vokietija	24	19030	0.993	0.30	0.38	0.39	-0.03	
Rytų Fryzų rudosios	Vokietija	39	18891	0.986	0.26	0.34	0.34	-0.02	
Vokietijos tekseliai	Vokietija	46	19131	0.998	0.31	0.40	0.40	-0.02	3
Senosios Norvegijos Spaelsau	Norvegija	15	19006	0.992	0.31	0.38	0.41	-0.05	2
Bundner Oberlander	Šveicarija	24	19026	0.993	0.31	0.41	0.40	0.03	
Šveicarų kalnų juodai-rudosios	Šveicarija	24	19051	0.994	0.31	0.40	0.40	0.01	
Šveicarų Mirror	Šveicarija	24	19036	0.993	0.31	0.41	0.40	0.02	
Šveicarų alpių baltosios	Šveicarija	24	19064	0.995	0.31	0.41	0.40	0.01	1
Valų Juodnosės	Šveicarija	24	18752	0.978	0.27	0.35	0.36	-0.05	
Vidurkis		32	18870	0.985	0.29	0.38	0.38	0.00	0.6

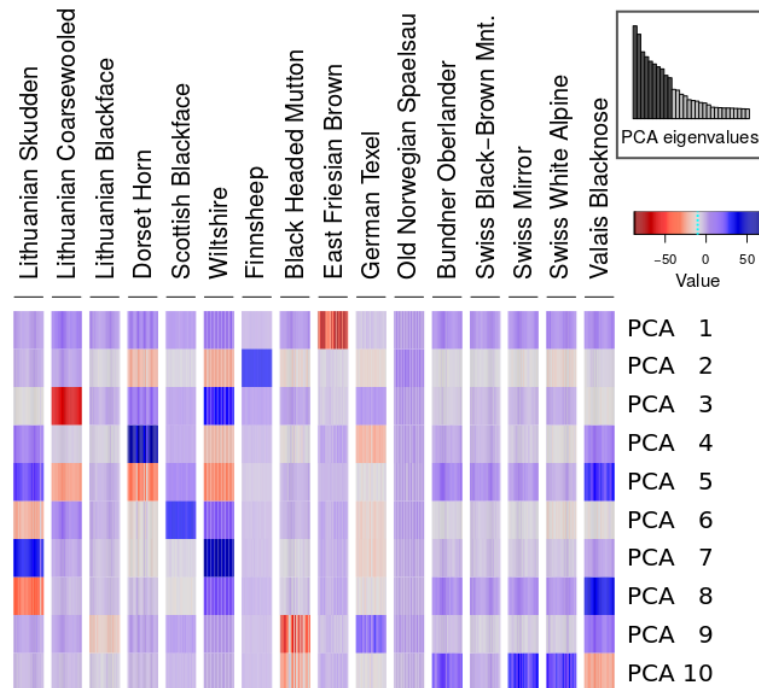
Kiti populiacijų įvairovės duomenys koreliuoja ne visiškai. Pavyzdžiui, su objektyviausiomis Viltšyro avimis, kurių genų įvairovė yra mažiau kintanti negu antra mažiausiai kintanti Lietuvos šiurkščiavilnių ir Lietuvos juodgalvių populiacija, einanti po senosios Norvegijos Spalsau ir Škotijos juodgalvių avių veislių.

Lietuvos šiurkščiavilnės, dalinai patyrusios populiacijos dydžio sumažėjimą, parodė žymiai aukštesnę genų įvairovę, lyginant pagal alelių skaičių, kai, atskirai imant, Rytų fryzų rudieji ir dorsetų raguotieji rodo visiškai skirtingą rezultatą, potencialiai panašų į populiacijos didumą ir nežymią kitų veislių įtaką.



3 paveikslas. Lyginamų avių populiacijų pagrindinių komponentų analizė (3a Avių populiacijų pirmų dviejų komponentų analizė pagal SNP, 3b Avių populiacijų penktos ir šeštos komponentų analizė pagal SNP).

Analizuojant PCA, pirmi 4 komponentai (3 paveikslas) atskleidžia veislių individualumą (pvz., Rytų fryzų rudieji, suomių veislės, Lietuvos šiuurkščiavilnių ir dorsetų raguotosios) tiksliau negu veislių grupavimas (paveikslas 3a,b). Pagrindinė komponentų analizė (PCA) parodė, kad Lietuvos šiuurkščiavilnės ir škudės turi unikalų išskirtinumą. Bei gali būti, kad kartu su kitų veislių avimis dalinasi keliais panašiais protėviais iš svetimų veislių palikimo. Penktas ir šeštas komponentai pateikia grupavimą (3b paveikslas). Lietuvos šiuurkščiavilnių su Viltšyro ir škudžių su Valų juodnosėmis avimis, kai tuo metu septintas komponentas škudes pastato arčiau Viltšyro (4 paveikslas). Aštuntas komponentas atskiria škudes kaip ir valų juodnosės vieną nuo kitos ir nuo kitų veislių. Įdomu tai, kad britų Viltšyro avys yra trumpaplaukės mėsinės avys, žinomos pagal tokią išskirtinį požymį, kaip vilnos šėrimasis. Kita vertus, valų juodnosės avys yra šveicarų šiuurkščiavilnės avys ilga vilna.

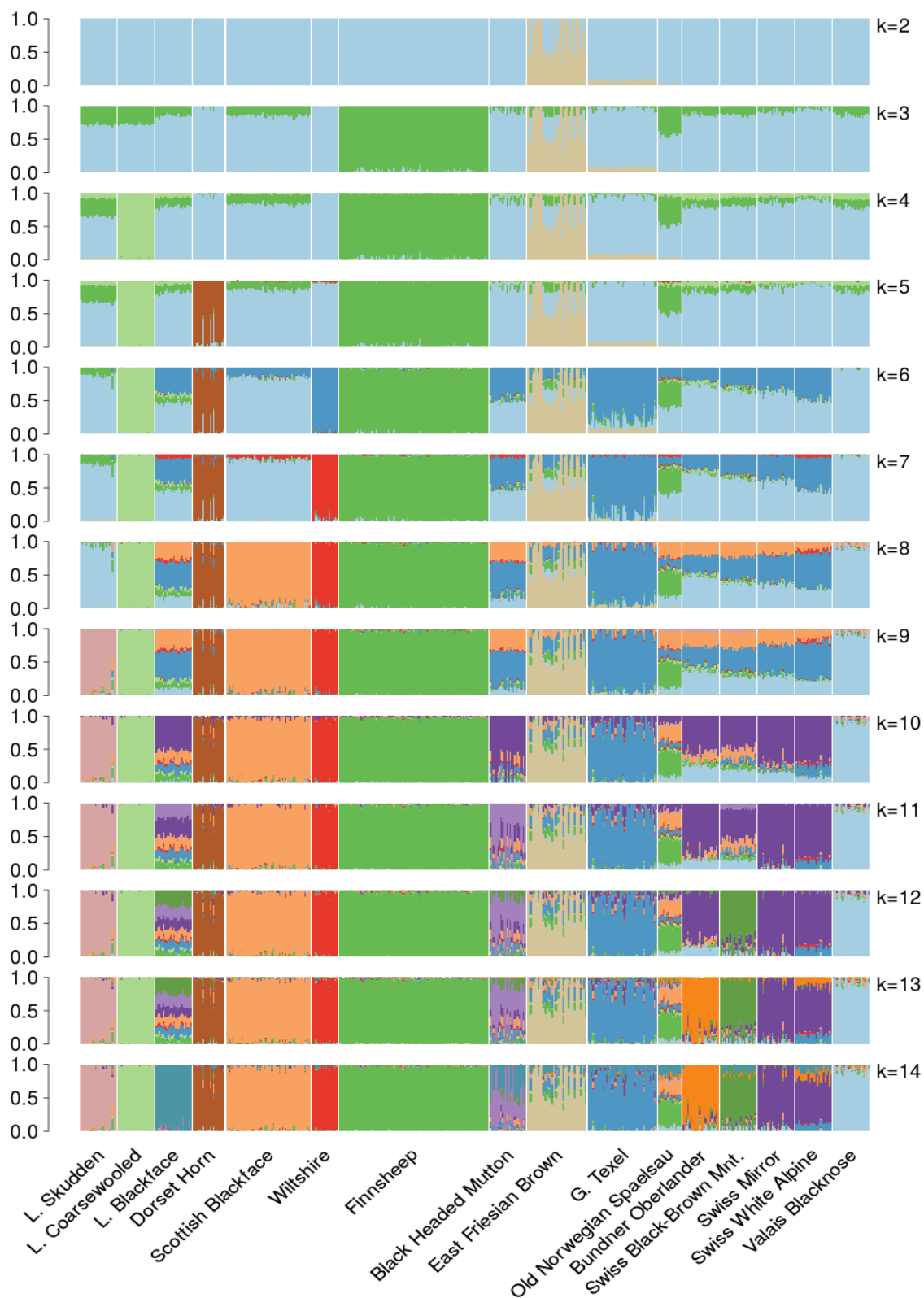


4 paveikslas. Lyginamų avių populiacijų pagrindinių komponentių analizės diagrama

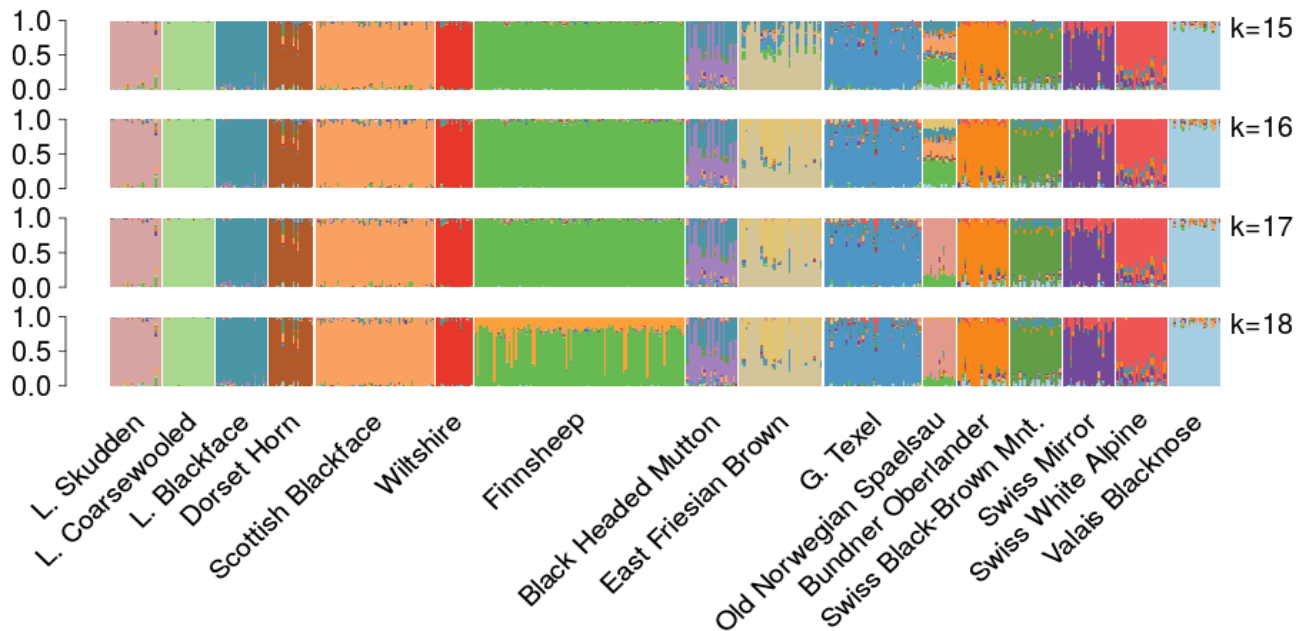
Klasteravimas modelio pagrindu parodo labai panašią populiacijų struktūrą, kaip ir PCA analizė. Visos trys tiriamosios populiacijos buvo išanalizuotos ir šiuo metodu. Didėjant klasterių skaičiui, Lietuvos šurkščiavilnės avys atitinka atskirą išskirtinį klasterį jau su $k=4$, kuris parodo populiacijos unikalumą (5 paveikslas).

Škudžių veislės avys išsiskiria ties $k=9$. Kaip matosi iš PCA analizės (4 paveikslas), klasteravimo rezultatas parodo, kad avys pirmoje kartoje galėjo būti mišrintos su avimis, kurios dalijosi protėviais su Bundner Oberlander ir juodgalviais mutonais.

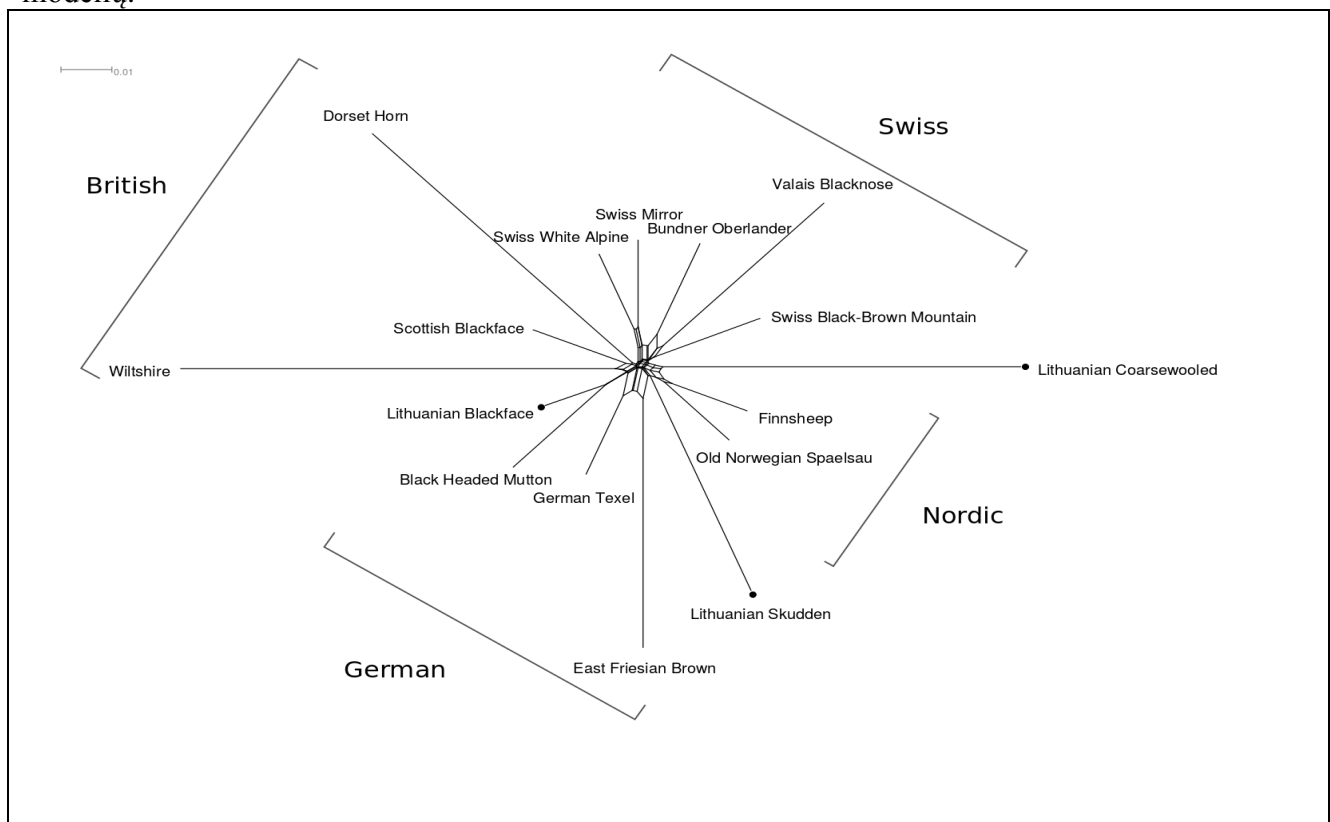
Lietuvos juodgalvės išsiskiria tik ties $k=14$, ir tai rodo aukštą mišrinimo laipsnį. Labiausiai mišrinimo laipsnį atskleidžia 6 – 13 komponentės. Modelis $k=13$, daugiausia reiškia tai, kad veislė dalinasi protėviais su Škotų juodgalvėmis, wiltshirais, Vokietijos tekseliais, Lietuvos šurkščiavilnėmis, Valų juodnosėmis ir juodgalviais mutonais, nuo didžiausios iki mažiausios. Modelio analizė buvo išplėsta nuo 15 iki 18. Tačiau apibūdinat tiriamąsias veisles, rezultatai neturėjo įtakos ankstesniam veislių struktūros apibūdinimui (6 paveikslas).



5 paveikslas. Avių veislių apibūdinimas, naudojant rezultatų grupavimą modelio pagrindu, kai modeliai varijuoja nuo 2 iki 14. Kiekviena plona juosta yra suskirstyta į skirtingas spalvas, kurios atspindi įvertintų protėvių proporcijas individualiai tirtai aviai.



6 paveikslas. Avių veislių apibūdinimas, naudojant rezultatų grupavimą modelio pagrindu, kai modeliai varijuoja nuo 15 iki 18. 17 modelis turi aukščiausią logaritminę tikimybę tarp testuotų modelių.



7 paveikslas. Nustatytas giminingų struktūrų buvimas tarp avių grupių, naudojant kaimyninį tinklą (Lietuvos populiacijų kilminė viršūnė yra akcentuota su ryškesniu pažymėjimu).

Santykį tarp populiacijų parodo filogeninis jų grupavimas, kuris buvo suskirstytas į keturias dideles grupes: vokiečių, britų, šveicarų ir šiaurės veisles (7 paveikslas). Pagal šį grupavimą Lietuvos juodgalvės avys yra tarp Vokietijos ir britų populiacijų. Šiurkščiavilnės ir škodės yra priskiriamos labiau šiauriniam klasteriui. Tai atitinka ir populiacijų grupavimą, atliktą ankstesniais tyrimais (M.Tapio, 2005), kur pietų trumpauodegės ir pusiau trumpauodegės veislės atsiduria tarp šiaurės trumpauodegių ir ilgauodegių veislių.

Norint gauti dar detalesnę analizę, į veislių palyginimą reikėtų įtraukti Lenkijos trumpauodeges avis.

IŠVADOS

1. Pagal gautų tyrimų rezultatų pagrindinių komponentių analizę, tiek pagal mikrosatelitų tyrimą, tiek ir pagal genomo tyrimus nustatyta, kad Lietuvos šiurkščiavilnės, škodės ir Lietuvos juodgalvės avys yra trys skirtingos veislės.
2. Tyrimu nustatyta, kad Lietuvos šiurkščiavilnės avys yra mažiausiai įvairuojanti populiacija iš visų trijų tirtų veislių, rodanti dabartinės populiacijos efektyvumo rodiklio galimo sumažėjimo ženklus (mažiausias alelių skaičius – 17850, heterozigotiškumas pagal SNP-0,34) ir būtinumą vengti inbrydingo selekcinėse programose.
3. Lietuvos šiurkščiavilnės avių veislė yra unikali (atitinka atskirą išskirtinį klasterį jau su $k=4$)
4. Lietuvos juodgalvės - labiausiai įvairuojanti populiacija, rodanti britų ir Vokietijos veislių protėvių genų likučius savo kilmėje.
5. Škodžių veislės avys - vidutiniškai įvairuojanti (tarp trijų tirtų populiacijų) populiacija esanti, tarp šiaurės šalių ir Vokietijos veislių. Pagrindinės komponentės analizę (PCA) rezultatai rodo, kad ši veislė yra labiau gimininga su centrinės Europos ir britų paveldo veislėm, negu su šiaurės šalių avių veislėmis, o tai turėtų būti tikėtina jeigu škodės turėtų stiprių Baltijos protėvių komponentų.
6. Gauti SNP tyrimų rezultatai parodo, kad tyrimo metu įvertintos škodės nėra artimos su Lietuvos šiurkščiavilnėmis avimis, bei nerodo lietuviškos kilmės avių buvimo ištirtoje škodžių populiacijoje.

REKOMENDACIJOS

1. Siekiant, kad škodžių veislės avys būtų grynaveislės ir įtrauktos į bendrą veislininkystės sistemą škodžių avių augintojai turi įrašyti jas į kilmės knygą Remiantis Valstybinės gyvulių

veislininkystės priežiūros tarnybos prie Žemės ūkio ministerijos viršininko 2003 m. birželio 25 d. įsakymo Nr. 1A-28 reikalavimais, taikomais įrašant grynaveisles avis į avių kilmės knygas.

2. Veislinių avių kilmės knygas gali vesti tik LR Žemės ūkio ministerijos pripažinta veislininkystės institucija. Todėl rekomenduojame škudžių avių augintojų asociacijai kreiptis į Lietuvos avių augintojų asociaciją, kad jų avys būtų įrašytos į kilmės knygas arba
3. Lietuvos škudžių avių augintojų asociacijai pačiai kreiptis į LR žemės ūkio ministeriją ir pagal galiojančias tvarkas prašyti, kad jų asociacijai būtų suteikta teisė vesti Lietuvoje auginamų škudžių avių kilmės knygą.
4. Rekomenduojame Lietuvos škudžių avių augintojų asociacijai pradėti vesti tikslią pirminę veislinių avių dokumentaciją ir produktyvumo kontrolę (*Avių kergimo, ėriavimosi ir priauglio augimo apskaitos žurnalą, Apsiėriavimo lapą, Avių svorio ir vilnos produkcijos apskaitos žurnalą*).
5. Bendradarbiaujant su Vokietijos škudžių avių augintojų asociacijomis, kurios turi teisę vesti šių avių kilmės knygas paruošti Lietuvoje auginamų škudžių avių veislės selekcinę programą.

SUDERINTA:

.....tyrimų priežiūros komisijos
pirmininkas

2014 m.

mėn.d.