



Τεχνολογικό
Πανεπιστήμιο
Κύπρου

Σχολή Γεωπονικών Επιστημών,
Βιοτεχνολογίας & Επιστήμης
Τροφίμων

Μεταπτυχιακή διατριβή

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΩΝ ΕΓΧΩΡΙΟΥ
ΒΟΟΕΙΔΟΥΣ ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ**

Σωτηρούλλα Μιχαήλ

Λεμεσός, Μάιος 2023

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ & ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ & ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Μεταπτυχιακή διατριβή

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΥΦΟΡΩΝ ΕΓΧΩΡΙΟΥ

ΒΟΟΕΙΔΟΥΣ ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ

της

Σωτηρούλλας Μιχαήλ

Λεμεσός, Μάιος 2023

Έντυπο έγκρισης

Μεταπτυχιακή διατριβή

Γενετική Ανάλυση Μικροδορυφόρων Εγχώριου Βοειδούς της Κύπρου

Παρουσιάστηκε από

Σωτηρούλλα Μιχαήλ

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Δέσποινα Μιλτιάδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Υπογραφή _____

Μέλος επιτροπής: Νικόλαος Νικολουδάκης, Επίκουρος Καθηγητής

Υπογραφή _____

Μέλος επιτροπής: Ουράνιος Τζαμαλούκας, Αναπληρωτής Καθηγητής

Υπογραφή _____

Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου

Λεμεσός, Μάιος 2023

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Σωτηρούλλα Μιχαήλ, 2023

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της μεταπτυχιακής διατριβής από το Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Βιοτεχνολογίας Ζώων, της Σχολής Γεωτεχνικών Επιστημών και Διαχείρισης Περιβάλλοντος του Τμήματος Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων (ΓΕΒΕΤ) του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου (ΤΕΠΑΚ).

Η συγκεκριμένη εργασία είναι αποτέλεσμα μιας αλυσιδωτής σειράς από αλληλεπιδράσεις με διάφορα άτομα, καθένα από τα οποία διαδραματίσε καίριο ρόλο στην εξέλιξη, αλλά και ολοκλήρωσή της. Έτσι, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα άτομα αυτά, για τη πολύτιμη βοήθεια και το ενδιαφέρον τους.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια κα. Μιλτιάδου Δέσποινα για την ευκαιρία που μου προσέφερε, καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση αυτής της διπλωματικής εργασίας, αλλά και για τη καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές της κατά την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής.

Εν συνεχεία, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου, στον συνεπιβλέποντα καθηγητή κ. Νικολουδάκη Νικόλαο για τη πολύτιμη βοήθειά του καθώς και για τη μεταλαμπάδευση των γνώσεων του αναφορικά με τη χρήση μοριακών και άλλων εργαστηριακών τεχνικών, οι οποίες κατέστησαν δυνατή την διεξαγωγή των πειραμάτων καθώς και τη συγγραφή της εργασίας αυτής.

Θα ήταν τεράστια παράλειψη να μην ευχαριστήσω θερμά την υποψήφια μεταδιδάκτορα Συμεού Σιμόνη, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την κατανόηση και αδιάκοπη καθοδήγησή της κατά τη διάρκεια εκπόνησης της μεταπτυχιακής διπλωματικής μου άσκησης. Επίσης, οφείλω ένα ευχαριστώ στην υποψήφια διδάκτορα Κυριάκου Μικαέλλα, για το συνεργατικό κλίμα και αλληλοϋποστήριξη.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την οικογένειά μου, για τη συνεχή ηθική, πνευματική και υλική υποστήριξη τους, χωρίς την οποία δε θα μπορούσα να επιτύχω κανένα από τους στόχους μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η γενετική ανάλυση του εγχώριου βοοειδούς της Κύπρου με τη χρήση μικροδορυφόρων. Συγκεκριμένα διερευνήθηκαν 18 γενετικοί τόποι (TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, SPS113, RM067, TGLA126, TGLA122, INRA023, BM1818, CSRM60, MGTG4B, CSSM66, ILST006, ETH3, ETH225 και BM1824) οι οποίοι αφού ενισχύθηκαν με τη μέθοδο της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) γονοτυπήθηκαν στο Γενετικό Αναλυτή ABI PRISM 310 Genetic Analyzer προκειμένου να υπολογιστούν τα μεγέθη των αλληλομόρφων ανά γενετικό τόπο, τα οποία διαπιστώθηκαν με τη χρήση αυτόματου γενετικού αναλυτή (SeqStudio, Applied Biosystems) και του προγράμματος GeneMapper™. Ακολούθως, έγινε προκαταρτική σύγκριση της παραλλακτικότητας που υπάρχει σήμερα εντός της φυλής προκειμένου να μελετηθεί μελλοντικά ο ρόλος της στη διαμόρφωση των τοπικών οικοσυστημάτων και της βιοποικιλότητας. Έπειτα, συντελέστηκε προκαταρτική σύγκριση ανάμεσα σε αυτή και στις εμπορικά βελτιωμένες φυλές που εκτρέφονται στο νησί. Παράλληλα, μελετήθηκαν άλλες σπάνιες αυτόχθονες φυλές που συναντώνται στη Μεσόγειο και έγινε προσπάθεια να αποσαφηνιστεί η μοναδικότητα της κάθε μιας από αυτές και να υπογραμμιστεί η σημασία διαφύλαξης και διάσωσής τους.

Συνολικά, τα προκαταρτικά πειράματα που διεξάχθηκαν στη παρούσα εργασία δείχνουν ότι το Εγχώριο Βοοειδές της Κύπρου εμφανίζει παρόμοια ή μεγαλύτερη παραλλακτικότητα εντός τους πληθυσμού συγκριτικά με την εμπορικά βελτιωμένη φυλή Holstein Friesian και παράλληλα παρατηρήθηκαν αρκετά κοινά αλληλόμορφα ανάμεσα στις δύο φυλές. Τα πρωτόκολλα που αναπτύχθηκαν και η απολυπλεξία των αλληλομόρφων θα αξιοποιηθούν περαιτέρω σε μελέτες με δειγματοληψία από το 10% του πληθυσμού ώστε να αποδειχθεί η μοναδικότητα της ντόπιας φυλής υπογραμμίζοντας παράλληλα την ανάγκη που υπάρχει για περαιτέρω διερεύνηση, αξιολόγηση και καταγραφή των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών της και των προοπτικών αξιοποίησής της.

Λέξεις Κλειδιά: Αυτόχθονες φυλές, Μικροδορυφορικοί δείκτες, Βοοειδή, Γενετική Ανάλυση.

ABSTRACT

The aim of this postgraduate research is the genetic analysis of the domestic cattle of Cyprus using microsatellites. Specifically, 18 genetic loci were investigated (TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, SPS113, RM067, TGLA126, TGLA122, INRA023, BM1818, CSRM60, MGTG4B, CSSM66, ILST006, ETH3, ETH225 and BM1824) which after being amplified by the method of Polymerase Chain Reaction (PCR) were genotyped on the ABI PRISM 310 Genetic Analyzer to calculate allele sizes per locus, which were determined using an automated genetic analyzer (SeqStudio, Applied Biosystems) and the GeneMapper™ program. Afterwards, a comparison was made of the variability within the breed in order to study its future role in the formation of local ecosystems and biodiversity. Then, was made a comparison between the local breed and the conventional breeds raised on the island to see how genetically isolated it is. At the same time, other rare indigenous tribes found in the Mediterranean were studied and an attempt was made to clarify the uniqueness of each one of them and to underline the importance of preserving and rescuing them.

Overall, the experiments conducted in this work show that the Cyprus Domestic Bovine shows similar or greater within-population variability compared to the commercially improved Holstein Friesian breed, and shared several alleles between the two breeds were also observed. The protocols developed and the polymorphism of the alleles will be further exploited in studies with sampling from 10% of the population to demonstrate the uniqueness of the local breed while underlining the need for further investigation, evaluation and recording of its special characteristics and perspectives its utilization.

Key Words: Indigenous breeds, Microsatellite, Cattle, Genetic analysis.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ABSTRACT.....	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	Error! Bookmark not defined.
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	Error! Bookmark not defined.
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	Error! Bookmark not defined.
ΑΠΟΔΟΣΗ ΟΡΩΝ	Error! Bookmark not defined.
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	Error! Bookmark not defined.
1.1. Βοοτροφία.....	Error! Bookmark not defined.
1.2. Αυτόχθονες Φυλές Βοοειδών.....	Error! Bookmark not defined.
1.3. Η Σημασία Διαφύλαξης των Σπάνιων Φυλών	Error! Bookmark not defined.
1.4. Δείκτες Γενετικής Ανάλυσης Βοοειδών	Error! Bookmark not defined.
1.5. Γενετικές Αναλύσεις Μικροδορυφόρων που Εκπονήθηκαν σε Σπάνιες Φυλές Βοοειδών.....	Error! Bookmark not defined.
ΣΚΟΠΟΣ.....	Error! Bookmark not defined.
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	Error! Bookmark not defined.
2.1. Δειγματοληψία.....	Error! Bookmark not defined.
2.2. Απομόνωση και Αξιολόγηση Ολικού Γονιδιωματικού DNA....	Error! Bookmark not defined.
2.3. Ενίσχυση Αλληλομόρφων	Error! Bookmark not defined.
2.4. Ηλεκτροφόρηση σε Πηκτή Αγαρόζης	Error! Bookmark not defined.
2.5. Γονοτύπηση σε Γενετικό Αναλυτή (ABI).....	Error! Bookmark not defined.
2.6. Υπολογισμός Μεγεθών Αλληλομόρφων ανά Γενετικό Τόπο Μέσω Αυτόματου Γενετικού Αναλυτή και Βιοπληροφορική Ανάλυση με Χρήση του Προγράμματος GeneMapper™	Error! Bookmark not defined.
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	Error! Bookmark not defined.
3.1. Αξιολόγηση Ολικού Γονιδιωματικού DNA.....	Error! Bookmark not defined.
3.2. Ενίσχυση Αλληλομόρφων και Επιβεβαίωση Μεγεθών και Συγκέντρωσης Προϊόντων Μέσω Ηλεκτροφόρησης σε Πηκτή Αγαρόζης.....	Error! Bookmark not defined.
3.3. Υπολογισμός Μεγεθών Αλληλομόρφων ανά Γενετικό Τόπο Μέσω Αυτόματου Γενετικού Αναλυτή.....	Error! Bookmark not defined.
3.4. Βιοπληροφορική Ανάλυση με τη Χρήση του Προγράμματος GeneMapper™	Error! Bookmark not defined.
3.5. Γενετικές Αναλύσεις Μικροδορυφόρων που Εκπονήθηκαν σε Σπάνιες Φυλές Βοοειδών.....	Error! Bookmark not defined.
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	Error! Bookmark not defined.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ **Error! Bookmark not defined.**