

Agraarteadus  
1 \* XXVI \* 2015 : 30–39



Journal of Agricultural Science  
1 \* XXVI \* 2015 : 30–39

## EESTI PIIMAVEISETÕUGUDE GENEETILISE MITMEKESISUSE HINDAMISE TULEMUSTEST

### THE RESULTS OF A SURVEY ON THE GENETIC DIVERSITY OF ESTONIAN DAIRY CATTLE BREEDS

Sirje Värv

*Eesti Maailikool, veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut, Fr. R. Kreutzwaldi 62, 51014 Tartu*

Saabunud: 28.04.2015  
Received:  
Aktsepteeritud: 16.06.2015  
Accepted:

Avaldatud veebis: 16.06.2015  
Published online:

Vastutav autor: Sirje Värv  
Corresponding author:  
e-mail: sirje.varv@emu.ee

**Keywords:** genetic diversity, microsatellites, blood groups, milk proteins

Link: [http://agrt.emu.ee/pdf/2015\\_1\\_varv.pdf](http://agrt.emu.ee/pdf/2015_1_varv.pdf)

**ABSTRACT.** The Estonian dairy cattle breeds: Estonian Holstein, Estonian Red and Estonian Native, have been characterized using different types of genetic markers in order to measure genetic diversity within and between the breeds. In addition to the routine markers commonly used in the genotyping of cattle in Estonia, ISAG/FAO recommended markers were also included and therefore the data could be used to compare Estonian cattle populations in a wider context, and exploring their current status and uniqueness in the European context. The results showed that the Estonian dairy cattle breeds are genetically variable and the level of variation within the Estonian Red, Estonian Native and Estonian Holstein breeds is relatively similar. It can be concluded that inbreeding, causing loss of heterozygosity in a small population, was not found to be at a high level in these breeds. The within-breed diversity estimates, based on the DNA microsatellite data, were at the same level as those reported for other modern dairy breeds. It was demonstrated, by constructing a tree and network based on genetic relationships between the Baltic and Nordic cattle breeds, that the Estonian dairy cattle breeds are distinct from each other, and fall into different genetic clusters – the Estonian Holstein is in the Black-and-White breed group, the Estonian Red is in the European/Baltic Red group, and the Estonian Native Cattle is in the group of wider Nordic breeds, clustering closely with Western Finncattle.

© 2015 Akadeemiline Põllumajanduse Selts. Kõik õigused kaitstud. 2015 Estonian Academic Agricultural Society. All rights reserved.

#### Sissejuhatus

Üha enam väljendatakse muret seoses põllumajandusloomade geneetiliste ressursside väheneva mitmekesisusega, mis on suures osas põhjustatud selektsioonisurvest kõrgemate toodangute saamiseks ja sellest johtuvalt, tänu jõudluse kasvule, loomade arvu kahane misest. Ahenenud mitmekesisusega populatsiooni kohanemisvõime muutuvates keskkonningimustes halveneb. Populatsioonisiselt viib diversiteedi vähenemine selleni, et gameetide ühinemisel ei ole piisavalt valikut elujõuliste sügootide moodustumiseks (karja taastootmiseks), st tõuseb populatsiooni/tõu väljasuremise oht. Piimaveiste populatsioon moodustab olulise geneetilise ressursi tootmistevõimeks. Seetõttu on populatsiooni struktuuri ja trendide hindamine majandusliku tähtsusega, võimaldades täpsemalt planeerida ressurssidealast poliitikat, kindlustada tõugude aretus- ning säilitusprogramme ja rakendada ka regionaalset koostööd

geneetilise mitmekesisuse säilitamise vallas. Vastavalt 2007. a Interlakenis vastu võetud ülemaailmsele loomade geneetiliste ressursside alasele tegevuskavale (*Global Plan of Action for Animal Genetic Resources*), on riigid võtnud endale ülesandeks iseloomustada ja teostada monitooringut oma põllumajandusloomade geneetiliste ressursside ja sellest tulenevate riskide üle suunamaks geneetiliste ressursside säästlikku kasutamist (FAO, 2007).

Euroopa veisetõugude uurimine tänapäevaste meetoditega tähendab genoomi-info kasutamist. Veiste geneetiliseks iseloomustamiseks on tunnustatud DNA mikrosatelliidid, mida kasutatakse nii tõumaterjali impordil-ekspordil indiviidide identifitseerimiseks kui põlvnemisandmete kontrollimiseks ja teaduslikel eesmärkidel alates 1990ndaist. Käesolevaks ajaks on jõutud uute molekulaargeneetiliste markerite kasuta-

miseni. Neist laialdase kasutuse on leidnud ühenukleotiidsete polümorfismide (SNP) määramine. Nüüdsed efektiivsed genotüpiseerimise ja sekveneerimise tehnoloogiad võimaldavad geenikiipe kasutades võrrelda indiviide kuni miljoni SNP põhjal või genoomiüleselt, veiste puhul kõigi kolme miljardi aluspaari ulatuses. Mõlemad meetodid on rakendatud ka aretuskonsoortsiumide poolt genoom-aretusväärtuste hinnangute saamiseks. Kaasaegsetes (diversiteedi)uringutes kasutatavate mikrosatelliitide markerite puhul on oluline nende suhteline odavus, standardiseeritus (FAO, 2011) ja selektiivne neutraalsus (ei ole otseselt seotud valikuga), mis võimaldab mõõta mitmekesisust nn hüpoteeetilise tunnuse järgi (Meuwissen, 2009) ja erinevate uurimistulemuste võrdlemist. Euroopa veisetõugude geneetilise struktuuri uuringud (näiteks Beja-Pereira jt, 2003; Canon jt, 2001; Chikhi jt, 2004; Czernekova jt, 2006; Kantanen jt, 2000; Li jt, 2010; Loftus jt, 1999; MacHugh jt, 1994; Martín-Burriel jt, 2011; Mateus jt, 2004; Maudet jt, 2002; Medugorac jt, 2009; Ramljak jt, 2011) on näidanud varieeruvust nii tõusiseste kui tõugudevaheliste mitmekesisuse näitajate puhul ja nagu märgib Groeneveld jt (2010) ülevaateartiklis, võimaldab kogutud informatsioon optimeerida nii tõugude aretuse kui säilitamise strateegiaid. Eesti piimaveistest on uuritud eesti maatõu ja eesti punase tõu diversiteedi näitajaid Põhjamaade ja Baltimaade ühise uurimisprojekti raames, kus hinnati ka iga tõu panust Põhjamaade kogupopulatsiooni mitmekesisusse tõugude säilitamise kontekstis (Tapio jt, 2006).

Eestis kasvatatakse kolme piimaveisetõugu, mis erinevad üksteisest välimiku, jõudluse, populatsiooni-mahu ja tõu ajaloolis-demograafilise kujunemise poolest. Viimase viieteistkümnelt aasta lõikes on Eesti piimaveiste arv olnud suhteliselt stabiilne, kuid sellele eelnev vähenemine 1990ndate algusest oli järsk. Muutunud on ka populatsiooni struktuur – praeguseks on kunagise populaarsuse kaotanud eesti punane tõug (praegu 20% 95 000st lehmast) ning samas suureneb holsteini tõugu veiste osakaal (79%); lehmadest 0,4% on eesti maatõugu (Eesti Jõudluskontrolli Aastaraamat 2014).

Uurimistöös on võrreldud eesti maa-, eesti punast ning holsteini tõugu piimaveiseid teiste Balti- ja Põhjamaades levinud (piima)veisetõugudega (Tapio jt, 2006; Värvi jt, 2009; Värvi jt, 2010). Tõuge iseloomustati geneetiliste markerite alusel eesmärgiga selgitada välja Eesti veisetõugude geneetiliste ressursside seisund ja erisused.

## Materjal ja meetodika

### Veisepopulatsioonid ja proovide kogumine

Uurimismaterjal koguti kõikidelt eesti piimaveisetõugudelt: eesti punaselt, holsteini ja eesti maatõult. Proovide kogumisel lähtuti sellest, et uuringusse ei satuks suguluses olevaid loomi vähemalt kolme eellas-põlve ulatuses. Geneetilise mitmekesisuse hindamiseks peetakse piisavaks populatsiooni kohta 25–30 indiviidi genotüpiseerimist, mis võimaldab tuvastada alleelid

(geenivariandid), mille esinemissagedus on üle 0,05 (Hale jt, 2012). Proovide arv eesti maatõu puhul oli 40, eesti punasel 40 ja eesti holsteini tõul 34. Vereproovid lehmadel koguti 14st eesti maatõugu, 7st eesti punast tõugu ja 17st eesti holsteini tõugu kasvatavast majandist. Eesti maatõu ja eesti punase tõu puhul koguti materjal ka 10 pulli kohta. Holsteini tõugu pulli DNA mikrosatelliitide ja veregruppide ning transferrini tüüpide põhjal läbiviidavas analüüsi ei võetud, kuna eesmärgiks olnud kohaliku geneetilise materjali iseloomustamiseks puudus bioloogiline materjal. Holsteini tõu puhul kasutati piimavalkude geneetilise varieeruvuse analüüsis lisaks 34 lehma andmeile ka 8 pulli andmeid. Uuringus on Eesti veisetõugude võrdlemiseks kasutatud Läti, Leedu, Poola, Taani, Soome, Norra, Rootsi ja Islandi kokku 33 tõu andmeid, kus loomade koguarv oli 1246, varieerudes tõuti 11st kuni 49ni.

### Geneetilised markerid ja genotüpiseerimine

Käesolevas uuringus kasutati Eesti veiste genotüpiseerimiseks 25 kõrge polümorfisusega mikrosatelliidi lookust (tabel 1), mis kuuluvad ISAG/FAO globaalseid diversiteediuuringuid toetava töörihma soovituslike markerite hulka. Mikrosatelliitide genotüüpide määramiseks kasutati komplekte *Bovine Genotypes Panel 1.1* ja *2.1 (Finnzymes Diagnostics, Soome)* ning *StockMarks for Cattle® Bovine Genotyping Kit (Applied Biosystems, USA)* vastavalt äratoodud juhenditele. Põhjamaadest ja teistest Baltimaadest pärit veisetõugude iseloomustamiseks oli kasutada 20 mikrosatelliidilookuse andmed (Põhja-Euroopa veisetõugude diversiteediuuringu N-Euro-CaD ühisprojekt; Tabio jt, 2006), mille alleelisuurused kohandati referentsproovide alusel samuti ISAGi nomenklatuurile.

Lisaks mikrosatelliitidele määrati loomadel kümne veregrupisüsteemi erütrotsüütide antigeenid (60 erütrotsüütide antigeeni, EA), mis täidavad Eestis käesoleva ajani veiste geneetilisel identifitseerimisel ja põlvnemisandmete kontrollimisel geneetiliste markerite rolli. Erütrotsüütide antigeenide määramiseks kasutati hemolüüsistesti, kus reaktsioonikomponentideks on uuritava indiviidi erütrotsüütide suspensioon, monospetsiifiline testseerum (antikehad) ja komplement reaktsiooni kiirendamiseks (küüliku vereplasma) (Neimann-Sørensen, 1958). Hemolüüsi korral loetakse vastav EA indiviidil tuvastatuks. Multifaktoriaalsete veregrupisüsteemide (EAB, EAC ja EAS) puhul oli indiviidide genotüpiseerimise aluseks (alleelide määramisel) perekonna-analüüs.

Ühtlasi määrati vereseerumi elektroforeesil (Smithies, 1955) transferrini (vereseerumi valk) ning kolme piimavalgu geeni – beeta-laktoglobuliini (*LGB*), beeta- ja kapa-kaseiini (*CSN2* ja *CSN3*) – põhilised polümorfismid. Piimavalkude polümorfismidest määrati Eesti tõugudel beetakaseiini geeni 7. eksoni mutatsioonid koodonites 67, 93, 106 ja 122, mis tuvastavad valguvariandid A1, A2, A3, B ja I; kapakaseiini 4. eksoni koodonite 148 ja 155 mutatsioonid A, B ja E alleelide tuvastamiseks ning beeta-laktoglobuliini 4. eksoni 118

koodoni mutatsiooni A ja B variantide tuvastamiseks. Genotüpiseerimiseks kasutati ASO-PCR (alleelspetsiifilist polümeeras-ahelreaktsiooni) ning PCR-RFLP (restriksioonanalüüs). *LGB* lookuse genotüpiseerimised viidi läbi vastavalt Medrano ja Aquilar-Cordova (1990) restriksioonanalüüsi meetodikale ning *CSN3* puhul kasutati Velmala jt (1993) meetodikat. *CSN2* lookuse genotüpiseerimisel lähtuti alleele määravate SNPde tuvastamisel kahesuunalisest alleelspetsiifilisest PCR meetodikast (Chessa jt, 2013), mida on optimeeritud vastavalt labori tingimustele (Värvi jt, 2009).

ASO-PCR tulemusi kontrolliti vastava DNA regiooni järjestuse määramisega, kasutades *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit*'i (*Applied Biosystems, USA*), mida analüüsiti geenianalüüsatoriga ABI Prism 3130 (*Applied Biosystems, USA*).

Kokku genotüpiseeriti 39 geneetilise markeri alusel 114 omavahel suguluses mitteolevat veist.

Mikrosatelliitide ning piimavalgugeenide analüüsimiseks eraldati DNA  $K_3EDTA$ ga täisverest või spermast kasutades Milleri jt (1988) meetodikat või Purgene GENTRA kitti (Minneapolis, USA).

### Statistiline andmetöötlus

Statistiline analüüs viidi läbi kokku 39 geneetilise markeri osas. Erinevat tüüpi markereid, DNA mikrosatelliite, veregrupe koos transferriniiga (EA/TF) ja piimavalke analüüsiti üksteisest eraldi.

Tõusisese diversiteedi näitajatest hinnati alleelide arvu, unikaalsete alleelide arvu, alleelirikkust, tegekku ja (statistiliselt) oodatavat heterosügootsust, kõrvalkallele olulisust markerlookustevahelise ahelduse (*linkage disequilibrium*, LD) ning Hardy-Weinbergi (HWE) tasakaalust. Kasutati statistikapakette FSTAT v.2.93 (Goudet, 2001) ning ARLEQUIN 2.000 (Schneider jt, 2000). Minimaalseks proovide arvaks, mille põhjal alleelirikkust hinnati, osutus mikrosatelliitide puhul 22 ja EA/TF puhul 15 (s.o madalaim genotüpiseeritud loomade arv (15) oli eesti holsteini tõus EAS lookuses). Alleelirikkuse erinevuse statistiline olulisus tõugude vahel määrati permutatsioonitesti (10 000 permutatsiooni). Hinnati tõugude inbriidingu määra ( $f$ ; Weir, Cockerham, 1984) mikrosatelliitide ja EA/TF alusel. Usaldusintervall ( $CI$  95%) näitajale leiti (markerlookuse) *bootstrappingut* (FSTAT) kasutades.

Tõugudevahelise diversiteedi analüüsides kasutati diferentseerumisindeksi ja geneetilise distantsi näitajaid. Tõugudevaheline *chord*-distants (Cavalli-Sforza, Edwards, 1967) leiti GENETIX4.05 ([www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm](http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm)) abil ning diferentseerumise näitaja  $\theta$  (Weir, Cockerham, 1984) programmiga FSTAT. Paariviisiline tõugudevaheline diferentseerumise olulisus leiti permutatsioonide teel, mis viidi läbi programmiga GENEPOP v.3.4 (Raymond, Rousset, 1995). Eesti veisetõugude erinevuse/sarnasuse hindamiseks ning populatsiooniklastrite visualiseerimiseks viidi läbi faktoranalüüs (*analysis of factorial correspondence*, AFC (Lebart jt, 1984)) programmiga GENETIX v4.05. Lähinaabrite

meetodil (*neighbor-joining*) tõugude võrgustiku konstrueerimiseks kasutati programmi SplitsTree4 v4.11.3 (Huson, Bryant, 2006). Sama programmiga visualiseeriti ka ühisalleelide distantsi (*allele sharing distances*; Bowcock jt, 1994) maatriksi põhjal eesti maatõugu veiste sugulust teiste tõugudega.

## Tulemused ja arutelu

### Geneetiliste markerite iseloomustus

Kõik uuringus kasutatud geneetilised markerid olid polümorfed, alleelide arvuga 2 (sh kuus veregruposüsteemi, mikrosatelliit *ILSTS005* ja *LGB*) kuni 59 (B-veregrupisüsteem, EAB). Peamised markereid iseloomustavad näitajad on toodud tabelis 1.

**Tabel 1.** Kasutatud geneetiliste markerite kromosoomne paiknemine (BTA), alleelide arv ( $N_A$ ), oodatav heterosügootsus (H) ja fikseerumisindeks ( $f$ )

**Table 1.** The chromosomal location (BTA) of the marker, number of alleles ( $N$ ), expected heterozygosity ( $H$ ), and  $f$ -estimates

Marker	BTA	$N_A$	H	$f$
<i>Mikrosatelliidid/Microsatellites</i>				
<i>BM1818</i>	23	8	0,651	0,033
<i>BM1824</i>	1	5	0,751	0,036
<i>BM2113</i>	2	8	0,814	0,053
<i>CSSM66</i>	14	9	0,816	-0,022
<i>ETH003</i>	19	7	0,791	0,016
<i>ETH010</i>	5	10	0,810	-0,026
<i>ETH152</i>	5	8	0,743	0,055
<i>ETH225</i>	9	9	0,867	0,052
<i>HEL001</i>	15	9	0,720	0,068
<i>HEL005</i>	21	9	0,740	0,085
<i>HEL009</i>	8	12	0,731	0,004
<i>HEL013</i>	11	7	0,669	-0,152
<i>ILSTS005</i>	10	2	0,574	0,066
<i>ILSTS006</i>	7	9	0,797	0,030
<i>INRA005</i>	12	4	0,575	-0,255
<i>INRA023</i>	3	9	0,803	-0,043
<i>INRA032</i>	11	5	0,659	0,045
<i>INRA035</i>	16	6	0,579	0,255
<i>INRA037</i>	10	11	0,719	-0,009
<i>INRA063</i>	18	6	0,646	-0,198
<i>SPS115</i>	15	6	0,682	0,022
<i>TGLA053</i>	16	15	0,860	0,006
<i>TGLA122</i>	21	15	0,803	0,005
<i>TGLA126</i>	20	8	0,730	0,025
<i>TGLA227</i>	18	12	0,870	-0,023
<i>Veregrupid / Blood groups</i>				
EAA	15	3	0,328	-0,178
EAB	12	59	0,967	-0,020
EAC	18	39	0,941	-0,060
EAF	17	2	0,322	-0,162
EAJ	11	2	0,213	-0,124
EAL	3	2	0,092	-0,068
EAM	23	2	0,036	-0,021
EAR'	16	2	0,280	-0,103
EAS	21	5	0,441	0,016
EAZ	10	2	0,194	-0,107
<i>Verevalk / Blood protein</i>				
TF	1	4	0,680	0,027
<i>Piimavalgud / Milk proteins</i>				
<i>CSN2</i>	6	4	0,541	0,127
<i>CSN3</i>	6	3	0,410	0,044
<i>LGB</i>	11	2	0,339	-0,139

Veregruppide alleelid on haplotüüpsed EA kombinatsioonid, mis on erineva EA arvuga. Seega sõltub alleelide arv veregrupisüsteemi kuuluvate antigeenide arvust ja multifaktoriaarsed lookused (EAB, EAC) on teataval määral tõuspetsiifilised (Hines, 1999). Mitmekesisusuuringus kasutati 38 markeri andmeid. Mikrosatelliit *INRA035* jäeti kõrge  $f = 0,250$  tõttu edasiseist analüüsist võimaliku genotüpiseerimisvea (0-alleel) tõttu välja. Sama kõrge negatiivse  $f$ -väärtusega *HEL001*, mis viitas heterosügootsete genotüüpide liiale, ei näidanud (sarnaselt *INRA035ga*) statistiliselt olulist kõrvalekallet genotüüpide oodatavast proportsioonist ainult eesti holsteini tõus ja oli nii eesti punase

kui eesti maatõu puhul olulisuse nivool  $P < 0,05$  (*INRA035* puhul vastavalt  $P < 0,001$  ja  $P < 0,01$ ). Statistiliselt olulisi ( $P < 0,05$ ) kõrvalekaldeid genotüüpide oodatavast proportsioonist esines lisaks nimetatutele üksikute tõugude lõikes veel seitsmel juhul 75st lookus-tõug analüüsist.

### Tõusisene mitmekesisus

Eesti veisetõud osutusid tõusiseselt mitmekesisteks ning hoolimata erinevast populatsioonimahust jäi tõusisene geneetiline variatsioon kõikidel tõugudel suhteliselt sarnaseks. Analüüsi tulemused on toodud tabelis 2.

**Tabel 2.** Eesti piimaveisetõugude, eesti maatõu, eesti punase ja eesti holsteini geneetilise mitmekesisuse ja struktuuri näitajad tõusiseselt; mikrosatelliitide analüüs tõu nimetusega samas, ülemises, ja veregruppide/transferrini (EA+TF) analüüs alumises reas ( $H_{EXP}$  – teoreetiline heterosügootsus,  $R$  – alleelirikkus,  $A$  – unikaalsete alleelide arv,  $LD$  – paariviisilise lookustevahelise ahelduse sagedus (%) ja  $LD$  analüüsi  $P$ -väärtuste olulisus Fisheri täpse testi järgi (NS – mitteoluline) ja inbrüüdingu määr ( $f$ ) 95%-lise usaldusvahemikuga

**Table 2.** Within-breed diversity values and population structure derived from microsatellite loci (the 1st row) and blood groups and transferrin (EA+TF) data (the 2nd row). Mean expected unbiased heterozygosity ( $H_{EXP}$ ), allelic richness ( $R$ ), number of private alleles ( $A$ ), the frequency of significant ( $P < 0.05$ ) pair-wise linkage disequilibrium test ( $LD\%$ ), the pooled exact  $P$ -values in the  $LD$ -tests ( $\chi^2$ ) and within-population inbreeding coefficient ( $f$ ) with 95% confidence intervals (95% CI)

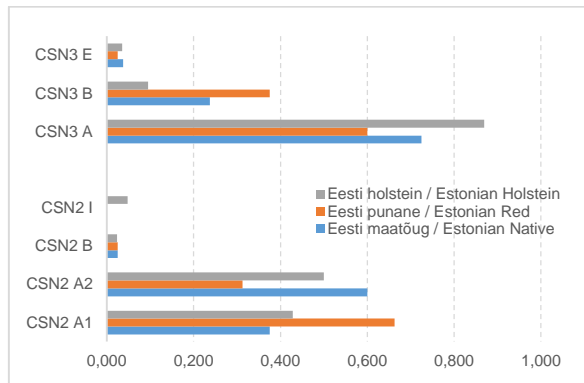
Tõug / Breed	Mikrosatelliidid / Microsatellites ja / and EA+TF					
	$H_{EXP}$	$R$	$A$	$LD, \%$	$\chi^2$	$f[95\% CI]$
Eesti maatõug / Estonian Native	0,715	6,01	16	5,4	573,1 <sup>NS</sup>	-0,017 [-0,065 0,003]
	0,404	4,94	26	0	63,9 <sup>NS</sup>	-0,107 [-0,163 -0,086]
Eesti punane / Estonian Red	0,699	5,97	20	4,7	511,6 <sup>NS</sup>	0,026 [-0,022 0,048]
	0,405	5,14	28	0	37,9 <sup>NS</sup>	-0,010 [-0,083 0,031]
Eesti holstein / Estonian Holstein	0,694	5,87	15	3,3	481,2 <sup>NS</sup>	-0,016 [-0,076 0,009]
	0,361	4,53	16	0	49,8 <sup>NS</sup>	-0,034 [-0,119 0,009]

Alleelirikkuselt ületas eesti maatõug teisi tõuge mikrosatelliitide ja eesti punane veregruppide põhjal. Alleelirikkuselt erinesid paariviisilisel võrdlusel statistiliselt oluliselt (kahepoolne 10 000 permutatsioonitest,  $P < 0,05$ ) eesti maatõug ja holstein mikrosatelliitide ning eesti punane ja eesti holstein veregruppide/TF põhjal. Kolme tõu alleelirikkuse erinevus jäi sama testiga mõlemate markeritüüpide puhul mitteoluliseks. Eesti punane tõug oli suurima unikaalsete alleelide arvuga – vastavalt 20 ja 28 mikrosatelliitide ning EA/TF alusel. Markerite põhjal leitud tõugude keskmised inbrüüdingu- ehk sisearetuse määrad ( $f$ ) ei erinenud statistiliselt oluliselt nullist. Ehkki eesti maatõu puhul oli veregruppide/TF puhul 95%  $CI$  negatiivne (-0,107 [-0,163 -0,086]) ja leiti TF lookuse HWE kõrvalekalle  $P = 0,02$ , jäid pärast analüüsi, kui arvesse oli võetud veel kolme vereseerumi (amülaas-1, amülaas-2, seruloplasmiin) elektroforeetiliste tüüpide andmed nii eesti maatõu kui eesti punase  $f$ -väärtused 95%  $CI$  alusel nullist mitteerinevaks. Seega võis EA/TF esialgseid tulemusi pidada mitteusaldusväärseks. Tõuti ei tuvastatud Fisheri täpse testiga statistiliselt olulisi kõrvalekaldeid Hardy-Weinbergi tasakaalust veregruppide/TF alusel, mikrosatelliitide põhjal oli  $P < 0,01$  kõrvalekalle eesti punases tõus.

$LD$  analüüs näitas eesti maatõu puhul teiste tõugudega võrreldes lisaks suhteliselt kõrgele heterosügootsusele ka proportsionaalset kõrgemat (marker)

lookustevahelist aheldust (5,4%).  $LD$ -test näitab nii lookuste füüsilist aheldust kui võimalikku juhusliku geenitriivi efekti, mis võib ilmned demograafilistel põhjustel (tänu väikesele loomade arvule populatsioonis), kuid  $LD$  määrab mõjutavad ka migratsioon ja populatsioonide segunemine (Lewontin, 1988; Martín-Burriel jt, 2007). Eesti punasel ja eesti holsteini tõul oli  $LD$  määr alla juhuslikku 5% ning ka eesti maatõu puhul ei osutunud nimetatud näitaja Fisheri täpse testi järgi statistiliselt oluliseks.

Piimavalkude beeta- ja kapa-kaseiini variantidest domineerisid Eesti tõugudel sarnaselt Euroopa piimatõugudega A alleel kapa-kaseiini ja A1 ning A2 alleelid beeta-kaseiini (joonis 1). Eesti maatõuga seonduvas Jõudu jt (2007) analüüsis leiti, et eesti maatõu piimavalkude geneetiliste variantide esinemis-sagedused on väga sarnased lääne-soome tõule. Käesoleva analüüsi põhjal eristus eesti holsteini tõug ühe harvaesineva alleeli, beetakaseiini I alleeli poolest. I alleeli puhul leiti aheldus kapa-kaseiini B-alleeliga eesti holsteini tõus ( $P < 0,001$ ) ning beetakaseiini A1 ja kapa-kaseiini B aheldus eesti punasel ja eesti maatõul ( $P < 0,001$ ). Hilisemates uuringutes on näidatud, et *CSN2 I* on koos *CSN3 B* variandiga positiivse mõjuga piima laapumisomadustele eesti holsteini (Vallas jt, 2012).



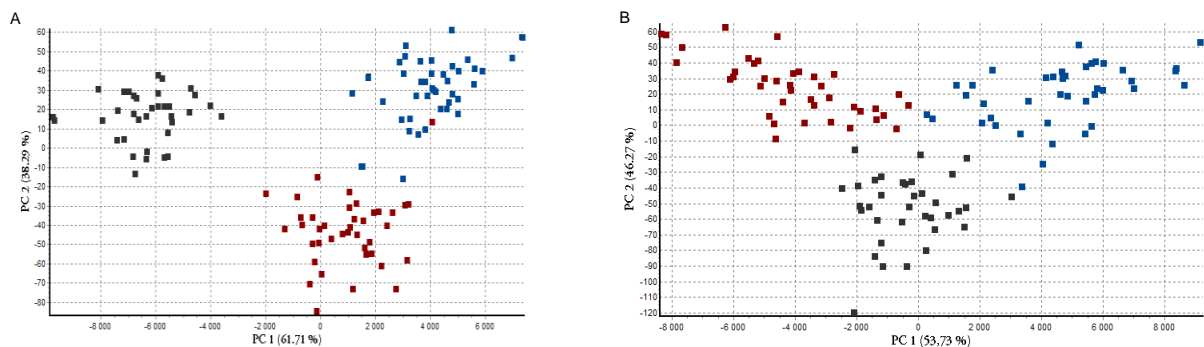
**Joonis 1.** Alleelisageduste võrdlus beeta-kaseiini (CSN2) ja kapa-kaseiini (CSN3) lookustes

**Figure 1.** Allele frequencies in beta-casein (CSN2) and in kappa-casein (CSN3) locus

Beeta-laktoglobuliini puhul oli kõikide tõugude puhul sagedaseim B alleel, eesti maatõul esinemissagedusega 0,813, eesti punasel 0,863 ja eesti holsteinil 0,681.

#### Eesti tõugude tõugudevaheline mitmekesisus ja sugulus teiste tõugudega

Diferentseerumisindeksi ( $\theta$ ) alusel oli tõugudevaheline geneetiline erinevus suhteliselt väike, vastavalt  $\theta = 0,062$ ,  $\theta = 0,043$  ja  $\theta = 0,066$  mikrosatelliitide, veregruppide/transferrini ja piimavalkude genotüüpide põhjal, kuid kõik väärtused hinnati statistiliselt oluliselt erinevaks nullist. Sõltuvalt markeri tüübist kirjeldavad need indeksid geneetilisest koguvariatsioonist 93,4% kuni 95,7% tõusisese ehk indiviididevahelise ning 4,3% kuni 6,6% tõugudevahelise variatsioonina.



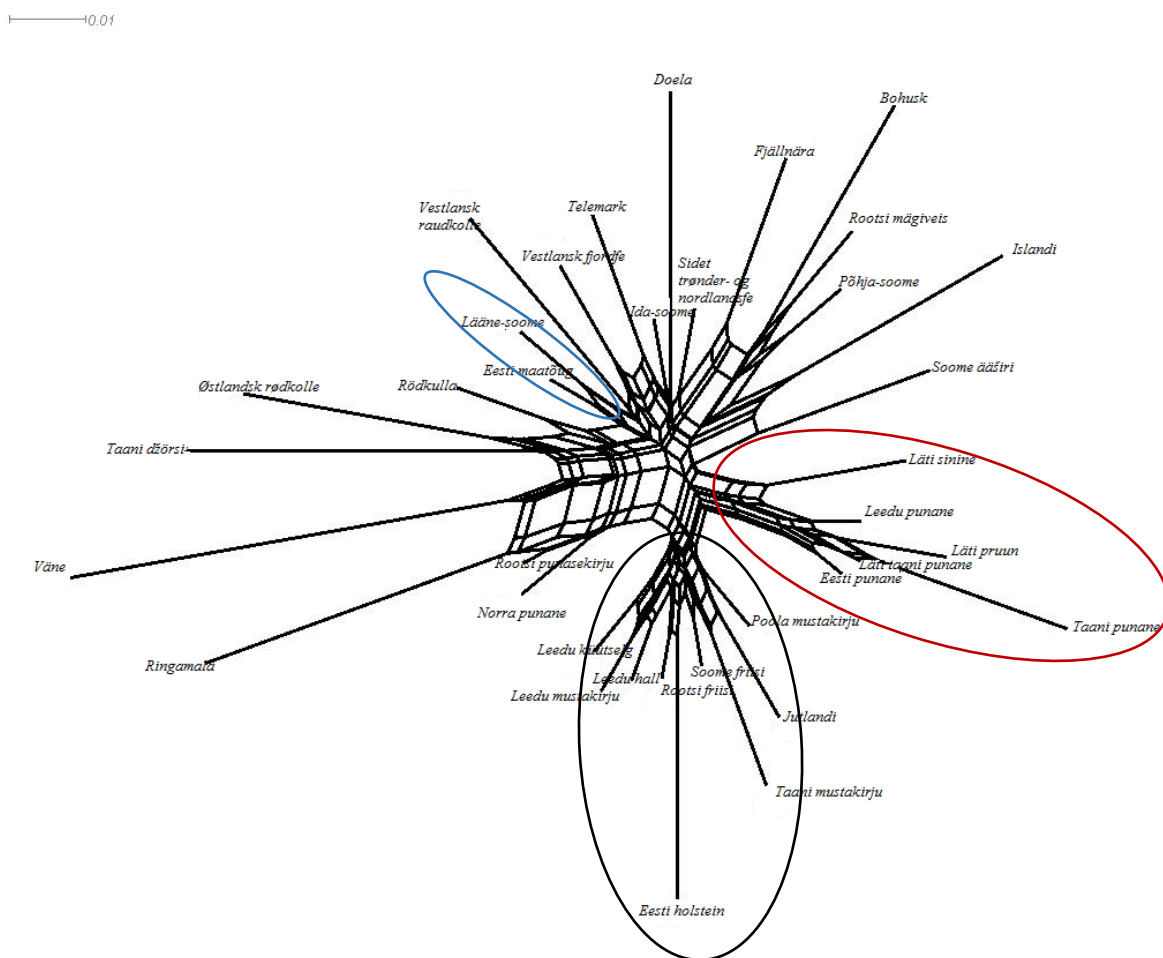
**Joonis 2.** Faktoranalüüsi (AFC) tulemused. Kolm geneetilist klasterit A) mikrosatelliitide analüüsi ja B) veregruppide ja transferrini genotüüpide alusel. Mustad ruudud – eesti holsteini tõugu, sinised – eesti maatõugu ja punased – eesti punast tõugu veised  
**Figure 2.** Plotted representation of three breed clusters as defined by analysis of factorial correspondence (AFC) A) based on microsatellites and B) EA systems/TF. The red squares – Estonian Red individuals, blue – Estonian Native, black – Estonian Holstein

Eesti veisetõugude paariviisilisel võrdlusel selgus, et eesti maatõugu ja eesti holsteini tõugu veised ei eristunud teineteisest statistiliselt oluliselt ei piimavalgugeenide ega ka veregruppide/transferrini põhjal. Erinevate piimavalgugeenide genotüüpide põhine diferentseerumine osutus statistiliselt oluliseks vaid eesti punase ja maatõu CSN2 lookuses ning eesti punase ja holsteini tõu vahel LGB, CSN2 ja CSN3 lookustes.

Eesti veisetõugude faktoranalüüs näitas kahe esimese komponendi 61,7% ja 38,3% koguvariatsioonist kui kasutati mikrosatelliite ja 53,7% ning 46,3% veregruppide ja transferrini lookuse puhul (joonis 2 A ja B).

Jooniselt lähtub, et tõugudevaheliste erinevuste määramiseks on mõlemat tüüpi geneetilised markerid kohased, ehkki sarnaselt  $\theta$ -väärtustele, on tõugudevahelised piirid selgemad DNA mikrosatelliitide analüüsi põhjal.

Suurema arvu (36) Põhja- ja Baltimaade tõugudega läbiviidud uuringus mikrosatelliitide põhjal grupeerisid Eesti tõud erinevatesse geneetilistesse klasteritesse (joonis 3). Eesti punane tõug grupeerus Baltimaade punaste tõugude (6 tõugu), eesti holstein mustakirjutute tõugude (9) ning eesti maatõug suurde mitmekesisusse tõugude gruppi (21), mis jaotus omakorda mitmesse Põhjamaade tõugude alamgruppi. NJ (neighbor-joining) dendrogrammil moodustas eesti maatõug koos lääne-soome tõuga ülejäänud tõugudest statistiliselt oluliselt erineva geneetilise klasteri. Nende kahe tõu geneetilise sarnasuse/eristatavuse hindamiseks viidi läbi analüüs tõugudega, kellelt eesti maatõu populatsioonil on ajalooliselt geneetilisi mõjutusi.



**Joonis 3.** Põhja-Euroopa 36 tõu chord-distsantside põhjal konstrueeritud tõugude võrgustik (*neighbor-net*)

Sinises ringis eesti maatõu ja lääne-soome klaster, punase ringiga on märgitud Euroopa punaste tõugude klaster ja mustas ringis on mustakirjude tõugude klaster

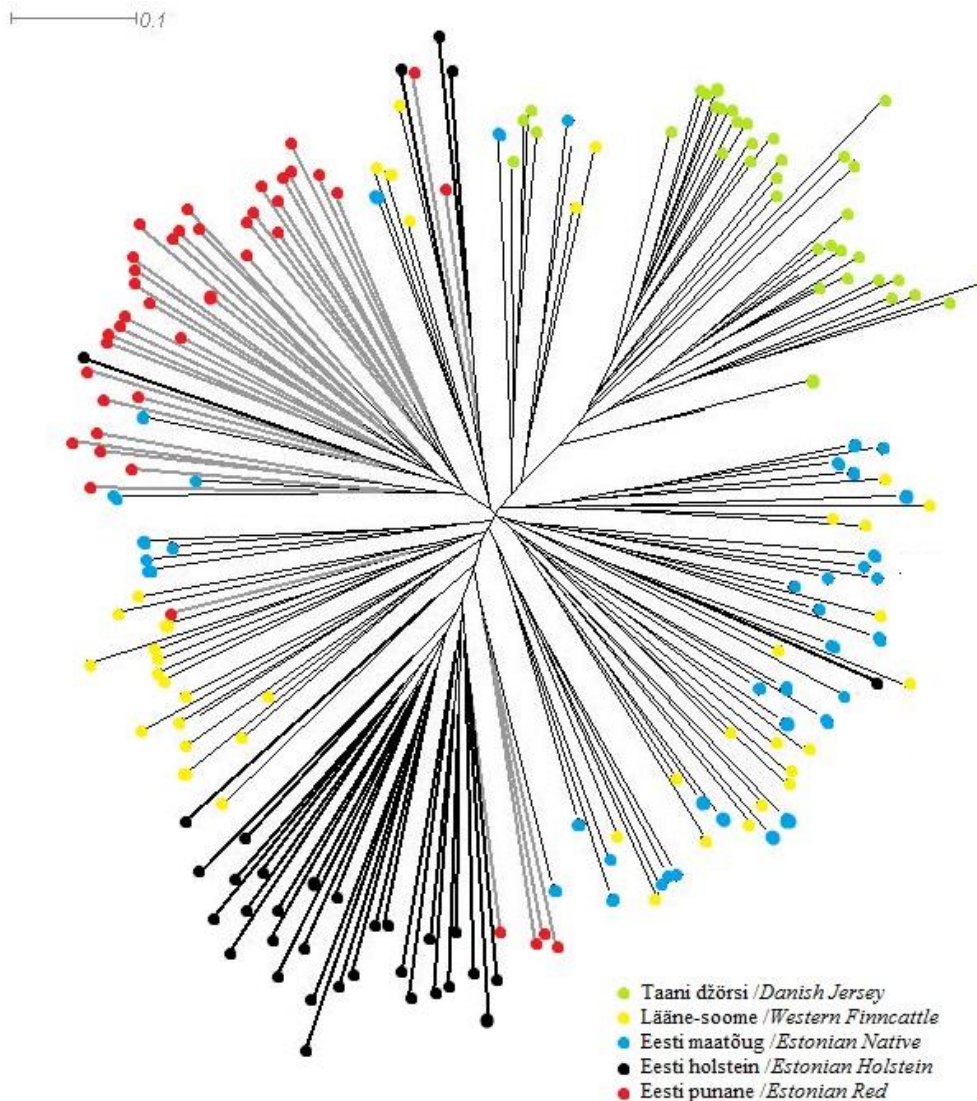
**Figure 3.** The *neighbor-net* of 36 Northern European breeds constructed from a Chord distances. Blue line indicate the closest subcluster of Western Finncattle and Estonian Native within the Nordic breeds, the red line – European red cattle breeds, black line – black-and-white cattle cluster (eesti holstein – Estonian Holstein; eesti maatõug – Estonian Native; eesti punane – Estonian Red; ida-soome – Eastern Finncattle; islandi – Islandic; leedu hall – Lithuanian Grey; leedu küütselg – Lithuanian White Backed; leedu mustakirju – Lithuanian Black-and-White; leedu punane – Lithuanian Red; läti pruun - Latvian Brown; läti sinine – Latvian Blue; läti-taani punane – Latvian Danish Red; lääne-soome – Western Finncattle; norra punane – Norwegian Red; Östlandsk rødkolle – Eastern Red Polled (Norway); poola mustakirju – Polish Black-and-White; põhja-soome – Northern Finncattle; rootsi friisi – Swedish Friesian; rootsi mägiveis – Swedish Mountain; rootsi punasekirju – Swedish Red-and-White; Rödkulla – Swedish Red Polled; soome friisi – Finnish Friesian; soome äärširi – Finnish Ayrshire; taani džörsi – Danish Jersey; taani mustakirju – Danish Black Pied; taani punane – Danish Red; Vestlansk roedkoll – Western Red Polled (Norway)

Kolmest Eesti tõust, lääne-soome ja džörsi tõust indiviidide (195) geneetiliste kauguste (*allele-sharing distance*) maatriksi abil konstrueeritud dendrogrammil grupeerusid omavahel eraldi klastritesse eesti holsteini, eesti punast ja taani džörsi tõugu veised. Eesti maatõugu ja lääne-soome tõugu veised jagunesid klastritesse läbisegi ning eesti maatõu ja lääne-soome tõu eristumist kasutatud mikrosatelliitidega ei tuvastatud (joonis 4).

Seega näitas läbiviidud analüüs, et eesti maatõu geneetilisest unikaalsusest saab rääkida kohalikus kontekstis, kuid geneetiline lähedus lääne-soome tõuga vähendab mõnevõrra eesti maatõu säilitamise tähtsust laiemas, Põhjamaade vanade tõugude kontekstis.

Baltimaade teised kohalikud tõud (läti sinine, leedu küütselg ja leedu hall tõug) grupeerusid vastavalt punaste ja mustakirjude tõugude klastritesse. Sama tulemus saadi ka suurema arvu populatsioonide

molekulaargeneetilisel klassifitseerimisel. Leiti, et läti sinine liigitub Feliuse (Felius, 1995) 2A Lääne-Euroopa punaste veisetõugude rühma ja Leedu kaks tõugu 2B Lääne- ja Põhja-Euroopa musta- ja punasekirjude tõugude gruppi (Li jt, 2010). Geneetiliste ressursside säilitamise puhul on tõugudel kahtlemata oluline roll ja iga kohalik tõug (hoolimata ka ristamisest teiste tõugudega) omab olulist väärtust traditsioonide ja kultuurilise järjepidevuse vaatenurgast, eriti kui tõule iseloomulikke omadusi säilitatakse (Felius jt, 2015). Nagu jooniselt 3 näha, paiknesid Skandinaavia vanad tõud võrgustiku tsentrist võetuna kaugemal, näiteks Doela (Norra) ja Väike (Rootsi) tõud, mis viitab nende geneetilisele unikaalsusele, kuid ka madalamale heterosügootsusele ehk tõusisesele geneetilise mitmekesisuse vähesusele võrreldes võrgustiku tsentri lähemalolevaile, sh Baltimaade kohalikele tõugudele.



**Joonis 4.** Üksikindiviidide (*allele-sharing*) geneetiliste distantside maatriksi põhjal konstrueeritud *NJ*-puu. Igale harule vastab üks 195st genotüpiseeritud veisest.

**Figure 4.** *NJ* tree based on an *allele-sharing* matrix of 195 individuals from 5 breeds. Each branch represents an individual.

Geneetilise mitmekesisuse vähenemine tõugudes ja tõu(gude) kadu võib ohustada loomaliigi elujõulisust ja eksistentsi. Peamiseks ohuteguriks peetakse alleel-sageduste fikseerumist (0 või 1) inbriidingu ja geeni-triivi tõttu, mis on tõenäolisem väikesearvulistes tõugudes. Seetõttu on geneetilise struktuuri hindamine Eesti veisepopulatsioonis geneetilise mitmekesisuse säilitamiseks erilise tähtsusega eesti maatõu osas. Loomade väikese arvu tõttu on eesti maatõug FAO kriteeriumite järgi ohustatud-säilitatava tõu staatuses. Kuna oma piimajõudluse-alaselt geneetiliselt potentsiaalilt ei konkureeri eesti maatõug holsteini tõuga, on eesti maatõu esiletõstmiseks ja populatsioonimahu vähenemise ärahoidmiseks vajalik rakendada alternatiivseid strateegiaid, näiteks alternatiivsete (niši)toodete väljatöötamist piimast.

Praeguseks on üha ulatuslikumalt laienemas ka genoomaretusväärtustega tõuloomade kasutamine, millest tulenevalt on tõusnud risk geneetilise

muutlikkuse vähenemiseks. Molekulaargeneetilise info põhjal (SNPd) arvatatud kõrgem inbriidingu tase (homosügootsus) on negatiivse mõjuga nii taastootmisele kui toodangule (Bjelland jt, 2013). Käimasolevad mikrosatelliitide uuringud näitavad viimase kümnendi trendina eesti punase ja eesti holsteini tõu puhul geneetilise distantsi vähenemist ning holsteini tõul homosügootsuse tõusu (andmed avaldamata). Eesti kontekstis on sarnaselt veisetõugudele vajadus ka teiste põllumajandusloomade tõugude monitooringuks. Molekulaargeneetiliste markeritega hinnatud populatsioonigeneetiline tõugudevaheline ja -sisene struktuur aitaks teiste liikide, sh hobuste aretusel tegelevail ühendustel kujundada otsuseid, mis parandaksid tõugude jätkusuutlikku majandamist – põlvnemisandmete analüüsid on näidanud, et keskmine inbriidingu koefitsient Eesti hobusetõugudes kasvab (Rooni, Viinalass, 2012).

Läbi ajaloo on Eesti tõud kujunenud Euroopa ja hilisemal perioodil ülemaailmselt levivate populatsioonide/tõugude introduktiooni ja segunemise toel, säilitades siiski geneetilise omapära (Eesti veisetõud grupeeruvad erinevatesse geneetilistesse klastritesse). Kuivõrd geneetiliste ressursside säilitamise baasühikuks on tõug, on aretustegevuses oluline säilitada tõugudevahelist geneetilist variatsiooni ning impordi vajadusel eelistada tõumaterjali, mis ei oleks sama Eesti teistes tõugudes kasutatavaga.

### Järeldused

Genofondi monitooring näitas kolme eesti piimaveise geneetilise mitmekesisuse olukorda. Edasisi populatsioonigeneetilisi uuringuid tuleb oluliseks pidada esiteks ohustatud tõu staatuses eesti maatõu puhul, kus säilitus-aretusprogrammist tulenev aretusematerjali impordi piirang võib madalast populatsioonimahust tingituna põhjustada soovimatut inbriidingu kasvu. Teiseks vähendab eesti punase tõu laiaulatuslik ristamine punase holsteini tõuga vana ehk traditsioonilise eesti punase tõukarja osa, muutes seejuures geneetiliste ressursside struktuuri ja genofondi, mille edasine uurimine on seepärast tarvilik. Geneetilise variatsiooni monitooring on oluline ka eesti holsteini tõu puhul, kuna selle populatsiooni efektiivne populatsioonimaht on vähenev intensiivse selektsiooni tõttu ülemaailmselt. Edasistes uuringutes on vajalik läbi viia uue valimi genotüüpiseerimine tuginedes kehtivale (mikrosatelliidid) ja kaasajastatavale (SNPd) markerite paneelile, mis oleks vastavuses Ülemaailmsele geneetiliste ressursside uurimisealase tegevusplaani (FAO *Global Plan of Actions for Animal Genetic Resources*) ning Interlakeni deklaratsiooniga tõugude geneetilise iseloomustamise ja monitooringu kohta.

### Tänuavaldused

Uurimistöö viidi läbi Haridus- ja Teadusministeeriumi projektide SF1080022s07 ja IUT8-2 toetusel.

### Kasutatud kirjandus

- Beja-Pereira, A., Alexandrino, P., Bessa, I., Carretero, Y., Dunner, S., Ferrand, N., Jordana, J., Laloe, D., Moazami-Goudarzi, K., Sanchez, A., Canon, J. 2003. Genetic characterization of southwestern European bovine breeds: a historical and biogeographical reassessment with a set of 16 microsatellites. – *J. Hered.* 94, 243–250.
- Bjelland, D.W., Weigel, K.A., Vukasinovic N., Nkrumah, J.D. 2013. Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. – *J. Dairy Sci.* 96, 4697–4706.
- Bowcock, A.M., Ruiz-Linares, A., Tomfohrde, J., Minch, E., Kidd, J.R., Cavalli-Sforza, L.L. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. – *Nature* 368, 455–457.
- Cañón, J., Alexandrino, P., Bessa, I., Carleos, C., Carretero, Y., Dunner, S., Ferran, N., Garcia, D., Jordana, J., Laloe, D., Pereira, A., Sanchez, A., Moazami-Goudarzi, K. 2001. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. – *Genet. Sel. Evol.* 33, 311–332.
- Cavalli-Sforza, L.L., Edwards, A.W.F. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. – *Am. J. Human Genet.* 19, 233–257.
- Chessa, S., Bulgari, O., Rossoni, A., Ceriotti, G., Caroli, A.M. 2013. Bovine  $\beta$ -casein: Detection of two single nucleotide polymorphisms by bidirectional allele specific polymerase chain reaction (BAS-PCR) and monitoring of their variation. – *Open Journal of Animal Sciences* 3, 36–41.
- Chikhi, L., Goossens, B., Treanor, A., Bruford, M.W. 2004. Population genetic structure of and inbreeding in an insular cattle breed, the Jersey, and its implications for genetic resource management. – *Heredity* 92, 396–401.
- Czernekova, V., Kott, T., Dudkova, G., Sztankoova, Z., Soldat, J. 2006. Genetic diversity between seven Central European cattle breeds as revealed by microsatellite analysis. – *Czech J. Anim. Sci.* 51, 1–7.
- Eesti Jõudluskontrolli Aastaraamat 2014. Results of Animal Recording in Estonia 2014. (Eesti Põllumajandusloomade Jõudluskontrolli AS, 2015).
- FAO. 2007. Global plan of Action for Animal Genetic resources and the Interlaken Declaration. Rome, Italy, FAO.
- FAO. 2011. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. – FAO Animal Production and Health Guidelines, No. 9, Rome.
- Felius, M. 1995. Cattle Breeds. An Encyclopedia.
- Felius, M., Theunissen, B., Lenstra, J.A. 2015. Conservation of cattle genetic resources: the role of breeds. – *J. Agri Sci.* 153, 152–162.
- Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Groeneveld, L.F., Lenstra, J.A., Eding, H., Toro, M.A., Scherf, B., Pilling, D., Negrini, R., Finlay, E.K., Jianlin, H., Groeneveld, E. Weigend, S. 2010. The GLOBALDIV Consortium (2010) Genetic diversity in farm animals – a review. – *Anim Genet* 41, 6–31.
- Hale, M.L., Burg, T.M., Steeves, T.E. 2012. Sampling for Microsatellite-Based Population Genetic Studies: 25 to 30 Individuals per Population Is Enough to Accurately Estimate Allele Frequencies. *PLoS ONE* 7, e45170.
- Hines, H.C. 1999. Blood Groups and Biochemical Polymorphisms. In: *The Genetics of Cattle* (eds. R. Fries, A. Ruvinsky), 77–121. Wallingford, UK, CABI Publishing.
- Huson, D.H., Bryant, D. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. – *Mol. Biol. and Evol.* 23, 254–267.
- Jõudu, I., Henno, M., Värvi, S., Kaart, T., Kärt, O., Kalamees, K. 2007. Milk protein genotypes and milk coagulation properties of Estonian Native cattle. – *Agricultural and Food Science* 16, 222–231.



- Kantanen, J., Olsaker, I., Holm, L.E., Lien, S., Vilkki, J., Brusgaard, K., Eythorsdottir, E., Danell, B., Adalsteinsson, S. 2000. Genetic diversity and population structure of 20 north European cattle breeds. – *J. Hered.* 91, 446–457.
- Lebart, L., Morineau, A., Warwick, K.M. 1984. *Multivariate Descriptive Statistical analysis: Correspondence Analysis and Related Techniques for Large Matrices.* – John Wiley and Sons, New York.
- Lewontin, R.C. 1988. On measures of gametic disequilibrium. – *Genetics* 120, 849–852.
- Li, M.H., Kantanen, J. 2010. Genetic structure of Eurasian cattle (*Bos taurus*) based on microsatellites: clarification for their breed classification. – *Anim. Genet.* 41, 150–158.
- Li, M.H., Tapio, I., Vilkki, J., Ivanova, Z., Kiselyova, T., Marzanov, N., Cinkulov, M., Stojanovic, S., Ammosov, I., Popov, R., Kantanen, J. 2007. The genetic structure of cattle populations (*Bos taurus*) in northern Eurasia and the neighbouring Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation. – *Mol. Ecol.* 16, 3839–3853.
- Loftus, R.T. 1999. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. – *Mol. Ecol.* 8, 2015–2022.
- MacHugh, D.E., Loftus, R.T., Bradley, D.G., Sharp P.M., Cunningham, P. 1994. Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. – *Proc.R.Soc.Lond.B* 256, 25–31.
- Martín-Burriel, I., Rodellar, C., Cañón, J., Cortés, O., Dunner, S., Landi, V., Martínez-Martínez, A., Gama, L., Ginja, C., Penedo, M.C.T., Sanz, A., Zaragoza, P., Delgado, J.V. 2011. Genetic diversity, structure, and breed relationships in Iberian cattle. – *J. Anim. Sci.* 89, 4, 893–906.
- Martín-Burriel, I., Rodellar, C., Lenstra, J.A., Sanz, A., Cons, C., Osta, R., Reta, M., De Arguello, S., Sanz, A., Zaragoza, P. 2007. Genetic Diversity and Relationships of Endangered Spanish Cattle Breeds. – *J. Hered.* 98(7), 687–691.
- Mateus, J.C., Penedo, M.C., Alves, V.C., Ramos, M., Rangel-Figueiredo, T. 2004. Genetic diversity and differentiation in Portuguese cattle breeds using microsatellites. – *Anim. Genet.* 35, 106–113.
- Maudet, C., Luikart, G., Taberlet, P. 2002. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. – *J. Anim. Sci.* 80, 942–950.
- Medugorac, I., Medugorac, A., Russ, I., Veit-Kensch, C.E., Taberlet, P., Luntz, B., Mix H.M., Forster, M. 2009. Genetic diversity of European cattle breeds highlights the conservation value of traditional unselected breeds with high effective population size. – *Mol. Ecol.* 18, 3394–3410.
- Meuwissen, T. 2009. Towards consensus how to measure neutral genetic diversity? – *J. Anim. Breed Genet.* 126, 333–334.
- Miller, S.A., Dykes, D.D., Polesky, H.F. 1988. A simple salting procedure for extracting DNA from human nucleated cells. – *Nucleic Acid Res.* 16, 1215.
- Neimann-Sørensen, A. 1958. Blood groups of cattle. Immunogenetic studies on Danish cattle breeds. – *A/S Carl Fr. Mortensen, København*, 177 pp.
- Rooni, K., Viinalass H. 2012. Assessment of inbreeding parameters in two Estonian local horse breeds. – *EAAP Book of Abstracts, Bratislava*.
- Ramljak, J., Ivanković, A., Veit-Kensch, C.E., Förster, M., Medugorac, I. 2011. Analysis of genetic and cultural conservation value of three indigenous Croatian cattle breeds in a local and global context. – *J. Anim. Breed Genet.* 128, 73–84.
- Raymond, M., Rousset, F. 1995. Genepop (Version 3.1d, updated version of Genepop v. 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. – *J. Hered.* 86, 248–249.
- Smithies, O. 1955. Zone electrophoresis in starch gels: Group variation in the serum proteins of normal human adults. – *Biochem. J.* 61, 629.
- Tapio, I., Väriv, S., Bennewitz, J., Maleviciute, J., Fimland, E., Grislis, Z., Meuwissen, T.H., Miceikiene, I., Olsaker, I., Viinalass, H., Vilkki, J., Kantanen, J. 2006. Prioritization for conservation of northern European cattle breeds based on analysis of microsatellite data. – *Conserv. Biol.* 20, 1768–1779.
- Vallas, M., Kaart, T., Väriv, S., Pärna, K., Jõudu, I., Viinalass, H., Pärna, E. 2012. Composite  $\beta$ - $\kappa$ -casein genotypes and their effect on composition and coagulation of milk from Estonian Holstein cows. – *J. Dairy Sci.* 95, 6760–6769.
- Väriv, S., Belousova, A., Sild, E., Viinalass, H. 2009. Genetic diversity in milk proteins among Estonian dairy cattle. – *Veterinarija ir Zootehnika (Vet Med Zoot)* 48 (70), 93–98.
- Väriv, S., Kantanen, J., Viinalass, H. 2010. Microsatellite, blood group and transferrin protein diversity of Estonian dairy cattle breeds. – *Agricultural and Food Science* 19, 284–293.
- Weir, B.S., Cockerham, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. – *Evol.* 38, 1358–1370.

### The results of a survey on the genetic diversity of Estonian dairy cattle breeds

Sirje Väriv

*Estonian University of Life Sciences,  
Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences,  
Fr. R. Kreutzwaldi 62, 51014 Tartu, Estonia*

### Summary

There are three dairy cattle breeds in Estonia that differ in their demographic history, phenotypic characteristics and current census sizes. The aim of the study was to characterize these breeds on the basis of genetic markers and to compare the results with those for other Baltic and Nordic dairy breeds in order to explore the current status and uniqueness of Estonian dairy cattle genetic resources. The Estonian dairy cattle breeds, the Estonian Holstein, the Estonian Red and the Estonian Native, were characterized using different

types of genetic marker in order to measure genetic diversity within and among the breeds. Besides the markers used in routine genotyping of cattle in Estonia, ISAG/FAO recommended markers were included, and therefore the data could be used for comparing Estonian cattle populations in a wider setting, and exploring their status and uniqueness in the European context. The results showed that the Estonian dairy cattle breeds are genetically variable (based on microsatellites  $H_{EXP} = 0,694-0,715$ ) and the level of variation within the Estonian Red, the Estonian Native and the Estonian Holstein is relatively similar (Table 2). It can be concluded that inbreeding, causing loss of heterozygosity in a small population, was not at a high level (the intra-breed inbreeding estimates computed from marker data, did not differ from zero) in Estonian Holstein, Estonian Red nor Estonian Native cattle. However, comparing Estonian Holstein with Estonian Red, the allelic richness and total number of unique alleles was higher in Estonian Red.

It was demonstrated by constructing a tree and network based on genetic relationships between the Baltic and Nordic cattle breeds (36) that the Estonian dairy breeds were distinct from each other, falling into different genetic clusters – the Estonian Holstein fell into the Black-and-White breed group (9), the Estonian Red into the European/Baltic Red group (21), and the Estonian Native Cattle into the group of wide Nordic breeds, clustering closely with Western Finncattle (Figure 3). According to the microsatellite based allelesharing distances among individuals, the genetic uniqueness of Estonian Native cattle was not confirmed in the Nordic-Baltic context. Due to prolonged gene flow from Western Finncattle, the genepool of the Estonian Native overlaps with that of Western Finncattle (Figure 4) which diminishes its genetic value among Northern European cattle breeds for conservation in terms of breed uniqueness. Nonetheless, the Estonian Native cattle is important in Estonian context due to its genetic distinctiveness from the two Estonian breeds, their degree of endangerment, the cultural-historical value of the breed and from an environment management perspective.