



MAGYAR AGRÁR- ÉS
ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

**MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI
EGYETEM**

**GENETIKAI ÉS GENOMIKAI MÓDSZEREK
FEJLESZTÉSE MAGYARORSZÁGI
RAGADOZÓEMLŐS-FAJOK
POPULÁCIÓGENETIKAI VIZSGÁLATÁHOZ**

DOI: 10.54598/003930

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Fehér Péter Árpád
Gödöllő
2023**

A doktori iskola

megnevezése: Állatbiotechnológiai és Állattudományi Doktori Iskola

tudományága: Állattenyésztési tudományok

vezetője: **Dr. Mézes Miklós**
egyetemi tanár, MTA rendes tagja
MATE, Élettani és Takarmányozástani Intézet
Takarmánybiztonsági Tanszék

Témavezető(k): **Dr. Stéger Viktor**
Tanszékvezető, tudományos főmunkatárs
MATE, Genetika és Biotechnológia Intézet
Genetika és Genomika Tanszék

Dr. Szemethy László
egyetemi tanár
Pécsi Tudományegyetem
Természettudományi Kar, Biológiai Intézet

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

Dr. Mézes Miklós,
MTA rendes tagja

.....
A témavezető(k) jóváhagyása

Dr. Stéger Viktor,
Tud. főmunkatárs

.....
Dr. Szemethy László,
egyetemi tanár

Tartalomjegyzék

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK	1
1.1 Bevezetés.....	1
1.2. Célkitűzések.....	2
2. ANYAG ÉS MÓDSZERTAN	4
2.1. Mintavétel és DNS izolálás	4
2.2. Populációgenetikai vizsgálatok STR markerekkel	4
2.2.1. Szürke farkas	5
2.2.2. Macskafélék: Eurázsiai hiúz és vadmacska	6
3. EREDMÉNYEK	8
3.1. Szürke farkas	8
3.1.1. Genetikai diverzitás	8
3.1.2. A magyarországi farkas egyedek közötti rokonsági kapcsolatok.....	9
3.1.3. Genetikai struktúra.....	10
3.2. Eurázsiai hiúz	12
3.3. Vadmacska.....	13
3.3.1. A genetikai diverzitás	13
3.3.2. Genetikai struktúra és hibridizáció	14
4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	19
4.1. Szürke farkas	19
4.2. Eurázsiai hiúz	20
4.3. Vadmacska.....	21
4.4. Javaslatok.....	23
5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	25
6. FONTOSABB TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK	26
7. IRODALOMJEGYZÉK	30

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

1.1 Bevezetés

A nagytestű ragadozók a leginkább vitatható és kihívásokkal teli állatcsoportok közé tartoznak, abból a szempontból, hogy megőrizzük őket modern és zsúfolt világunkban (Chapron et al. 2014). Védelmük a fejlett európai országokban szigorú feltételekhez kötött nem csak az élőhely és a zsákmány hozzáférhetősége szempontjából, hanem a helyi közösségek és érintettek (állattartók és vadgazdálkodók) szempontjából is (Linnell et al. 1999, Berger 2006).

Ezek a fajok fontos szereplői az ökoszisztémáknak, mivel többnyire a táplálkozási piramis magasabb szintjein vagy csúcsragadozóként helyezkednek el. Ebből adódóan szabályozhatják az alattuk elhelyezkedő élőlények állományát, stabilizálhatják a társulást és javíthatják a zsákmányfajok populációinak minőségét (Heltai & Szemethy 2010). Továbbá a ragadozók nagyon jó indikátorok is lehetnek, mivel szerepükből adódóan jellemezhetik a tápláléklánc és az ökoszisztéma állapotát. A zsákmánypopulációk állományának mennyiségi és minőségi változása befolyásolja a ragadozókat, szabályozhatja azok létszámát, a két populáció tehát hat egymásra (Török & Fodor 2002). Napjainkra Európában több nagyragadozó populációja növekvő tendenciát mutat – úgy, mint a szürke farkas és a barna medve (Deinet et al. 2013) –, mely elsősorban az elmúlt évtizedekben kialakuló védelmi programoknak, jogi védelemnek, a közvélemény tudatosság javításának, illetve az élőhely-rehabilitációknak köszönhető (Chapron et al. 2014).

A biológusok számára mindig is kihívást jelentett, hogy miképpen vizsgálják a ritka állatfajokat, mint például a ragadozókat is (Long et al. 2008), ugyanis ezek a fajok nehezen megfigyelhetők rejtőzködő életmódjuknak

köszönhetően. Ezen fajok vizsgálatára megfelelő monitorozási technikák a nem invazív módszerek (Boitani & Powell 2012), melyek közül néhány alacsony költségvetésű vizsgálatot tesz lehetővé (Heurich et al. 2012). Emlős fajok jelenlétének kimutatására igen gyakori módszerek például a nyomolvasás és az ürülék, vagy vizelet minták gyűjtése (Liebenberg 1990; MacKay et al. 2008; Schwartz & Monfort 2008), az akusztikus monitoring (Comazzi et al. 2016), kameracsapdás felmérések (Meek et al. 2014), illetve a szőrmintákon végzett felmérések is (Kendall & McKelvey 2008). Ezekkel a vizsgálati módszerekkel az azonosítás általában csak család szintig lehetséges, a faj és egyed szintű határozás sok esetben nem végezhető el (Kendall & McKelvey 2008, Heinemeyer et al. 2008). Faj és egyed szintű határozáshoz, illetve populációs jellemzők vizsgálatához (palacknyakhatás, rokonsági fok, sűrűség) genetikai vizsgálatokra van szükség. A módszerek közül az ürülékből és vizeletből történő határozás, illetve a szőrhatározás genetikai vizsgálatokat is lehetővé tesz (Kendall & McKelvey 2008).

1.2. Célkitűzések

A Bükki Nemzeti Park Igazgatóság, a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Vadgazdálkodási és Természetvédelmi Intézete (korábban SZIE VadVilág Megőrzési Intézet), illetve Genetika és Biotechnológia Intézete (korábban Nemzeti Agrár- és Innovációs Központ, Mezőgazdasági Biotechnológia Intézet) 2014 óta dolgozik együtt hazai védett ragadozó fajok terepi és genetikai monitorozásában. Ennek kapcsán kezdődött el egy ezen fajok genetikai vizsgálatára alkalmas protokoll kidolgozása és optimalizálása macskafélékre (vadmacska, eurázsiai hiúz) és kutyafélékre (szürke farkas, aranysakál, kutya) egyaránt (Fehér et al. 2017). Ezekbe a vizsgálatokba bekapcsolódva PhD kutatási munkám során a következő célkitűzéseket fogalmaztam meg:

1. Nemzetközi szakirodalomban leírt és használt mikroszatellit markerek optimalizálása vadon élő kutyafélék (*Canidae*) és macskafélék (*Felidae*) elsősorban nem invazív módszerrel gyűjtött mintáinak vizsgálatára.
2. A szürke farkas esetében célkitűzésem az Északi-középhegységbe visszatelepülő egyedek eredetének feltárása elsősorban szlovákiai és magyarországi terepen gyűjtött szürke farkas minták, valamint Magyarországon zárt térben tartott farkas minták felhasználásával.
3. Esetleges rokon kapcsolatok feltárása a szürke farkas egyedek között.
4. Az eurázsiai hiúz esetében célt volt vizsgálni, hogy a gyűjtött minták alkalmasak-e fajszintű azonosításra, minimális egyedszám és ivari összetétel meghatározására.
5. A vadmacska magyarországi állományában korábban kimutatott hibridizációs folyamat nyomon követése érdekében célt volt elsősorban az Északi-középhegységben előforduló vadmacska állomány genetikai diverzitásának felmérése, a házi macskával való esetleges hibridizáció kimutatása. Ennek sikeres bizonyítása esetében célt volt az általam használt markerek hibridizációra irányuló megbízhatóságának vizsgálata.

2. ANYAG ÉS MÓDSZERTAN

2.1. Mintavétel és DNS izolálás

Az egyes fajokon elvégzett vizsgálatok során használt mikroszatellit (STR) markereket nemzetközi publikációkból adaptáltam és optimalizáltam azokat multiplex körülmények között. Az optimalizálást kutya, macska, illetve zárttérben tartott (állatkerti) szürke farkas, vadmacska, eurázsiai hiúz és múzeumi mintákon végeztem. A természetben gyűjtött minták a Bükki Nemzeti Park Igazgatóság, a Duna-Ipoly Nemzeti Park Igazgatóság, a Hortobágyi Nemzeti Park Igazgatóság, a Duna-Dráva Nemzeti Park Igazgatóság, Szlovákiából a Tátra-hegység területeiről származtak. Vizsgálataim során összesen 117 darab szürke farkas mintát, 10 darab eurázsiai hiúz mintát, valamint 27 darab vadmacska terepen gyűjtött mintáját dolgoztam fel.

Teljes genomi DNS izolálását a terepi gyűjtésű, illetve a referencia mintákból ürülék, vizelet, szőr, csontszövet, vér és izomszövet mintákon végeztem el. A mintákat laboratóriumban $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltam azok felhasználásáig.

2.2. Populációgenetikai vizsgálatok STR markerekkel

A kutyafélék faj- és egyedazonosítására 14 darab tetranukleotid ismétlődésű jelölt primer párt, a macskafélék esetében 21 darab di- és tetranukleotid ismétlődésű jelölt primer párt használtam, melyeket multiplex körülmények között optimalizáltam. Az ivarhatározást az amelogenin gén segítségével végeztem el (Yan et al. 2013, Pilgrim et al. 2005). Az optimalizált multiplexek $25\text{ }\mu\text{l}$ végtérfogatban lettek összemérve, $45\text{-}240\text{ ng}$ templát DNS mintát, 2 x QIAGEN Multiplex PCR Master Mixet (QIAGEN, Németország) és optimalizált mennyiségű primert ($10\text{ }\mu\text{M}$) tartalmaztak, a végtérfogatot desztillált vízzel kiegészítve. A reakciók sikerességét, agaróz-

gélelektroforézis segítségével értékeltem 1,5%-os agaróz gélben, GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific, USA) segítségével. A PCR termékek kimutatása az allélméreték meghatározásához kapilláris elektroforézissel történt egy ABI 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) készülékben, melyet a BIOMI Kft. végzett. Az elektroferogramokat a PeakScanner (Applied Biosystems, USA) segítségével dolgoztam fel, a minták genotípusát Microsoft Excel táblázatban rögzítettem. E táblázat alapján alakítottam át a különböző szükséges formátumokra a genotípus adatokat a GenAIEx Excel bővítmény (Peakall & Smouse 2012) és a CONVERT v.1.31 szoftver (Glaubitz 2004) segítségével. A nullalélok és genotipizálási hibák feltárását MICRO-CHECKER program (Van Oosterhout et al. 2004) segítségével végeztem.

2.2.1. Szürke farkas

A lókuszonkénti és populációnkénti allélfrekvenciát, az allélszámot, az effektív allélok (N_E) és a megfigyelt és torzítatlan várt heterozigotizáció értékeit (H_O , H_E) a GenAIEx 6.5. program (Peakall & Smouse 2012) segítségével becsültem meg. Az allélgazdagság (AR) értékeit az FSTAT 2.9.3.2 program (Goudet 1995) segítségével számoltam ki. A STRUCTURE 2.3.4 program (Pritchard et al. 2000) segítségével a populációk előzetes meghatározása nélkül következtettem a genetikai klaszterek legvalószínűbb számára, illetve a magyarországi szürke farkasok, szlovákiai szürke farkasok és más zárttéri farkasok, illetve kutyák közötti lehetséges keveredés felmérésére. A genetikai klaszterek legvalószínűbb számának megállapításához a *“likelihood score”* értékét, valamint a második deriváltjának változását határoztam meg Structure Harvester (Earl & vonHoldt 2012) segítségével. Ezen eredmény alapján legvalószínűbb K érték négy legvalószínűbb becült értékét StructureSelector programmal (Li & Liu

2018) is megvizsgáltam (Puechmaille 2016). Főkomponens diszkriminancia-analízist (Discriminant Analysis of Principal Components – DAPC) az R 4.0.1. program (R Core Team 2018) adegenet 2.1.1. programcsomagjával (Jombart 2008) végeztem, amely populációgenetikai modell használata nélkül azonosítja az egyedek klasztereit. A klaszterek optimális számának azonosítására a Bayes-féle információs kritérium (Bayesian information criterion – BIC) alapján a „find.clusters()” függvényt használtam. A differenciálódás irányát az R 4.0.1. programban (R Core Team 2018) használt diveRsimy 1.9.90. csomaggal (Keenan et al. 2013) határoztam meg, és ezt az információt arra használtam, hogy a populációpárok közötti relatív migrációra következtessenek (Sundqvist et al. 2016). A magyarországi terepi gyűjtésű szürke farkasok közötti szülői és rokonsági kapcsolatok azonosításához és a családi csoportok (falkák) meghatározásához a Colony2 (Jones & Wang 2010) „parentage assignment” csomagot használtam.

2.2.2. Macskafélék: Eurázsiai hiúz és vadmacska

Az allélgyakoriságok, alléldiverzitások, a heterozigotitás értékek számítását, valamint a Shannon-Weaver diverzitás indexet a GenAlEx (Peakall & Smouse 2012) segítségével határoztam meg az egyedi genotípusok alapján. A klaszteranalízist a STRUCTURE program algoritmusával (Pritchard et al. 2000) végeztem el. A genetikai klaszterek legvalószínűbb számának megállapításához a „likelihood score” értékét, valamint a második deriváltjának változását (Evanno et al. 2005) határoztam meg Structure Harvester (Earl & vonHoldt 2012) segítségével. Az egyedeket akkor tekintetem egy klaszterhez (házi macska vagy vadmacska) tartozónak, ha a hozzárendelési érték ($q^{(i)} \geq 0,75$) volt. Azokat az egyedeket, melyeknél a $q^{(i)} < 0,75$ de nagyobb, mint 0,25 volt bármelyik klaszterhez keveréknek (házi macska és vadmacska hibrid) minősítettem. Annak érdekében, hogy

megvizsgáljam az STR markerek erejét a házi macska és vadmacska hibridizáció kimutatására, házi macska, vadmacska és hibrid genotípusokat generáltam a Hybridlab (Nielsen et al. 2006) segítségével. A mesterséges genotípusok létrehozásához olyan teljes empirikus mikroszatellit genotípusokat használtam fel (hiányzó lókusztól), melyek a STRUCTURE analízis alapján $\geq 0,75$ hozzárendelési valószínűség mellett valamelyik szülői fajhoz rendelhetők. A következő kategóriákban összesen 240 genotípust generáltam: szülői, F1, F2, valamint első és második visszakeresztezés bármelyik szülői fajhoz (csoportonként 30 mesterségesen létrehozott genotípus). A program által generált szülői és hibrid genotípusokkal újabb STRUCTURE analízist végeztem.

3. EREDMÉNYEK

3.1. Szürke farkas

3.1.1. Genetikai diverzitás

A magyarországi 86 darab terepi gyűjtésű feltételezett szürke farkas minta közül a vizsgálatok során 35 db minta teljes genotípusát, 22 db minta részleges genotípusát sikerült rögzíteni. A Szlovákiából származó minták közül 15 db-ot, a zárt térben tartott farkas minták közül 9 db-ot, míg a kutya minták közül 14 db-ot használtam fel az elemzésekben. Ezek a minták minden esetben sikerült azok teljes genotípusát rögzíteni. A magyarországi terepen gyűjtött minták esetében is csak a teljes genotípussal rendelkező mintákat használtam fel. A lókuszonkénti és csoportokra számított diverzitásadatok az 1. táblázatban találhatóak.

1. táblázat: Kutyaafélékre kidolgozott specifikus autoszómás mikroszatellitek (STR) diverzitás értékei a magyarországi és a szlovákiai terepen gyűjtött szürke farkas minták csoportjaiban.

Magyarországi terepi szürke farkas								Szlovákiai terepi szürke farkas						
STR	N	N _A	H ₀	H _E	HWE	PIC	I	N	N _A	H ₀	H _E	HWE	PIC	I
c2001	25	4	0,64	0,73	***	0,62	1,21	15	5	0,73	0,73	ns	0,69	1,411
c2054	25	6	0,92	0,71	ns	0,68	1,43	15	5	0,80	0,71	ns	0,67	1,422
FH2538	25	7	0,60	0,78	ns	0,67	1,44	15	8	0,87	0,78	ns	0,76	1,781
PEZ3	25	4	0,52	0,71	ns	0,6	1,18	15	6	0,60	0,71	***	0,67	1,431
PEZ8	25	6	0,72	0,54	ns	0,69	1,50	15	4	0,47	0,54	ns	0,49	0,993
PEZ19	25	3	0,56	0,29	ns	0,46	0,88	15	3	0,20	0,29	ns	0,26	0,534
FH2088	25	6	0,68	0,73	***	0,68	1,50	15	5	0,73	0,73	ns	0,68	1,410
PEZ02	25	5	0,60	0,66	ns	0,63	1,27	15	4	0,40	0,66	*	0,6	1,196
FH3377	25	6	0,68	0,68	ns	0,62	1,37	15	5	0,80	0,68	**	0,63	1,297
FH2010	25	6	0,36	0,64	***	0,47	1,06	15	5	0,53	0,64	ns	0,59	1,237
FH2004	25	8	0,44	0,76	***	0,62	1,41	15	7	0,73	0,76	ns	0,73	1,615
FH2107	25	11	0,72	0,87	*	0,87	2,23	15	12	0,80	0,87	ns	0,86	2,248
FH2309	25	5	0,40	0,76	***	0,47	1,01	15	6	0,80	0,76	ns	0,72	1,563
FH3313	25	11	0,60	0,80	***	0,78	1,93	15	8	0,80	0,80	ns	0,77	1,820
Átlag	-	6,29	0,60	0,68	-	0,63	1,39	-	5,93	0,66	0,69	-	0,65	1,43

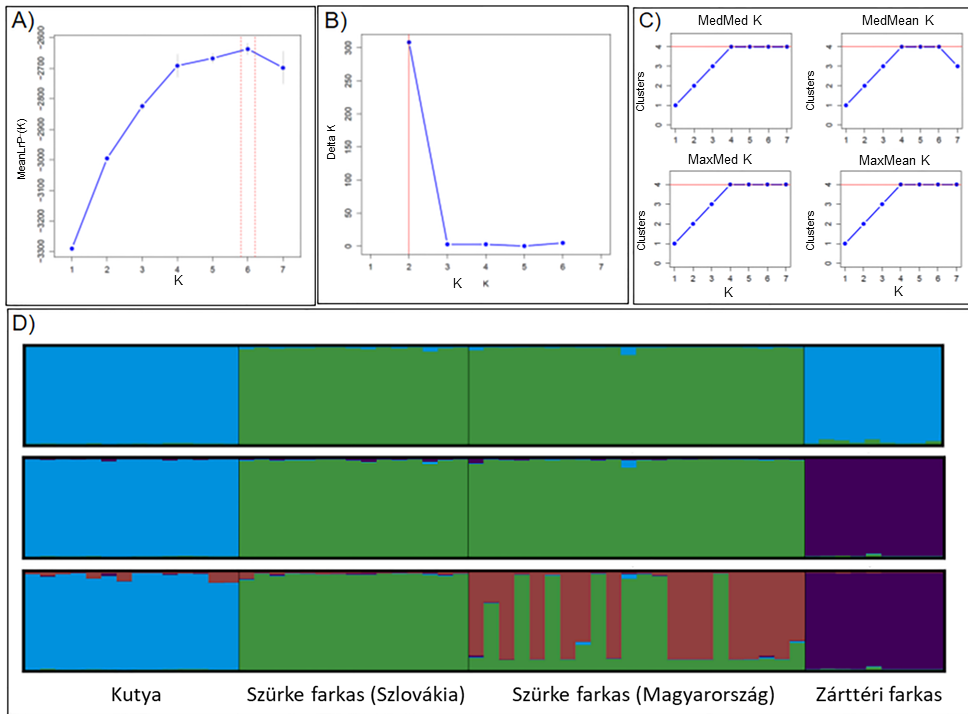
Vizsgált minták száma (N), kimutatott (detektált) allélek száma (N_A), megfigyelt heterozigotitás értékek (H₀), várt heterozigotitás értékek (H_E), Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés (HWE), Shannon-Weaver diverzitás index (I) értékek lókuszonként és összesítve. ns = nem szignifikáns; * = p<0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001.

3.1.2. A magyarországi farkas egyedek közötti rokonsági kapcsolatok

A Colony2 program több testvér és szülő-utód kapcsolatot is azonosított a magyarországi terepi gyűjtésű szürke farkas egyedek között. A Bükk-hegységben a „Best Cluster” eredmények alapján egy falka három generációját sikerült azonosítani. A falka egyedeinek ivara négy hím és egy nőstény.

3.1.3. Genetikai struktúra

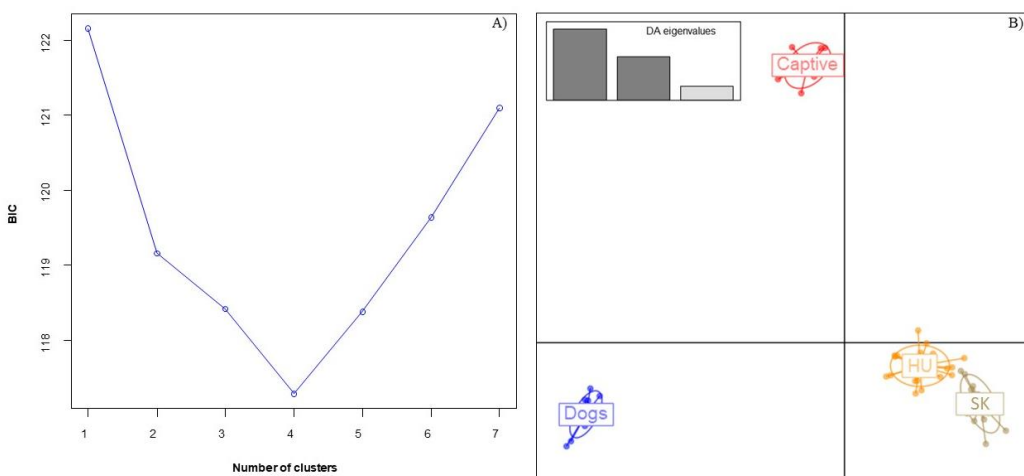
A STRUCTURE program hét előre feltételezett egység közül a legmagasabb átlagos valószínűség értéket („likelihood score”) hat genetikai egység ($K = 6$) esetében mutatta ki (1/A. ábra), míg a második legmagasabb átlagos valószínűségi érték a két genetikai egység ($K = 2$) esetében volt kimutatható (1/B. ábra). Az utóbbi esetben a természetben előforduló szlovákiai és magyarországi szürke farkasok alkották az egyik genetikai klasztert, míg a kutyák és a zárt térben tartott farkasok csoportja a másikat (1/D. ábra). A Puechmaille becslés mind a négy küszöbértéknél négy genetikai egység jelenlétét jelezte ($K = 4$) (1/C. ábra). Ebben az esetben a kutyák és a zárt térben tartott farkasok két különálló csoportot alkottak, és jól elkülönültek a többi mintától. A szlovákiai szürke farkasok egy másik csoportot alkottak néhány magyar mintával együtt, a többi magyar minta pedig a negyedik csoportot hozta létre (1/D. ábra).



1. ábra: A kutyák, szlovákiai szürke farkasok, magyarországi szürke farkasok és zárt térben tartott farkasok Bayes-féle klaszterezési analízisének eredménye. A) Az átlagos valószínűségi érték a klaszterek számának minden egyes értékére ($\text{LnP}(K)$). B) A klaszterek mérete szerinti modellek valószínűsége az átlagos valószínűségi értékek másodrendű változásának alapján ($\text{Delta}K$). C) A klaszterek optimális száma a becsült küszöbértékek alapján (MedMed K, MedMean K, MaxMed K, MaxMean K). D) Az egyedi genotípusok oszlopdiagramja $K = 2$ -től $K = 4$ -ig.

A főkomponens diszkriminancia-analízis (DAPC) szintén négy genetikai klaszter esetében mutatta a legalacsonyabb BIC értéket (2/A. ábra). Hasonlóan a STRUCTURE eredményeihez, a kutyák és a zárt térben tartott farkasok két különálló csoportot alkottak, és jól elkülönültek egymástól és a többi mintától. A természetben élő szürke farkasok két klasztert alkottak, amelyek megfeleltek a szlovákiai és a magyarországi mintáknak, de néhány magyar

minta ismét egy klaszterbe rendeződött a szlovákiai farkasokkal (2/B. ábra). A *diveRsity* segítségével jelentős relatív elmozdulás volt megfigyelhető a szlovákiai és a magyarországi természetben élő farkasok között. Az összes többi lehetséges vándorlási arány mértéke alacsony volt és nem volt szignifikáns. A természetben előforduló sűrű farkasok közötti vándorlás egyirányúnak tűnt: Szlovákiából Magyarország irányába.



2. ábra: A főkomponens diszkriminancia-analízis (DAPC) az egyedek klasztereinek azonosítására populációgenetikai modell használata nélkül. A) Bayes-féle információs kritérium (BIC) a DAPC-ben szereplő klaszterek száma szerint. A legvalószínűbb klaszterek száma az, ahol a BIC a legalacsonyabb. B) DAPC szórási diagram, amely a természetben élő farkasok (HU, SK), kutyák (dogs) és zárt térben tartott farkasok (captive) genetikai elkülönülését mutatja; a DA sajátértékek a bal felső sarokban láthatók.

3.2. Eurázsiai hiúz

A referencia mintákon a vadmacskán használt 21 autoszómás mikroszatellit lókuszt közül egy kivételével mindegyik adott kimutatható jelet

a fragment-analízis során. A további 20 lókuszt közül három bizonyult monomorfnek, illetve négy lókuszt dimorfnek. Ezeket a markereket a további eredmények ismertetéséhez már nem használtam fel. A terepi gyűjtésű minták közül 8 ugyan azzal a genotípussal rendelkezett, egy minta esetében két lókuszon, egy másik minta esetében pedig egy lókuszon volt eltérés. Egy mintán a PCR reakció többszöri megismétlésével sem sikerült allélhosszúságot kimutatni egy lókuszon. Az utóbb említett két mintán tapasztalt eltérések a lókusztok homozigóta formájában nyilvánultak meg, amik lehetnek allélvesztések is, a terepi gyűjtésű ürülék és vizelet minták degradáltságából adódóan. Ennek figyelembevételével a természetből származó minták származhatnak egy egyedtől is. Az ivarhatározás során a minták minden esetben hím ivarúak voltak. A vizsgálatokba így bevont 13 lókuszt allélszáma 3 és 6 között változott, az átlagos lókuszonkénti allélszám 3,69.

3.3. Vadmacska

3.3.1. A genetikai diverzitás

A vizsgált minták között a MICRO-CHECKER program genotipizálási hibákat nem észlelt, null allél viszont megfigyelhető volt a házi macska mintákban egy lókuszon, illetve a vadmacska mintákban három lókuszon. Ezeket a lókusztokat a további vizsgálatokban nem használtam, így összesen 17 lókuszt segítségével végeztem el a további analíziseket.

Ezekben az autoszómás markerekben viszonylag magas diverzitás volt tapasztalható, a lókuszonkénti és a csoportokra vonatkozó diverzitás értékeket az 2. táblázatban mutatom be.

2. táblázat: Macskafélékre kidolgozott specifikus autoszómás mikroszatellitek (STR) diverzitás értékei a házi macska, illetve a vadmacska minták csoportjában.

STR	Házi macska							Vadmacska						
	N	N _A	H _O	H _E	HWE	PIC	I	N	N _A	H _O	H _E	HWE	PIC	I
FCA043	17	6	0,59	0,68	*	0,63	1,35	30	8	0,80	0,78	ns	0,75	1,69
FCA023	17	7	0,82	0,71	ns	0,67	1,50	30	8	0,80	0,72	ns	0,68	1,51
FCA097	17	9	0,65	0,80	*	0,78	1,84	30	8	0,83	0,77	ns	0,74	1,72
FCA132	17	11	0,82	0,88	*	0,87	2,23	30	11	0,80	0,76	ns	0,74	1,84
FCA223	17	9	0,76	0,81	ns	0,79	1,89	30	8	0,73	0,71	ns	0,67	1,52
FCA698	17	6	0,59	0,69	ns	0,66	1,45	30	9	0,73	0,73	*	0,68	1,59
FCA149	17	7	0,88	0,81	*	0,78	1,75	30	7	0,77	0,78	*	0,75	1,66
FCA310	17	6	0,47	0,53	ns	0,49	1,08	30	3	0,07	0,07	ns	0,06	0,17
FCA126	17	10	0,65	0,80	ns	0,78	1,91	30	7	0,83	0,77	ns	0,73	1,61
FCA220	17	3	0,47	0,38	ns	0,34	0,68	30	9	0,83	0,78	**	0,75	1,76
FCA090	17	6	0,71	0,65	ns	0,62	1,34	30	9	0,93	0,81	ns	0,79	1,83
FCA559	17	7	0,82	0,78	ns	0,75	1,70	30	4	0,47	0,47	ns	0,44	0,91
FCA008	17	9	0,82	0,77	ns	0,75	1,81	30	11	0,87	0,81	ns	0,79	1,96
FCA045	17	8	0,65	0,80	*	0,77	1,77	30	9	0,80	0,83	ns	0,8	1,91
FCA001	17	8	0,94	0,79	ns	0,76	1,76	30	9	0,93	0,81	***	0,79	1,85
FCA506	17	11	1,00	0,87	*	0,85	2,16	30	13	0,97	0,85	*	0,84	2,20
F115	17	12	0,82	0,83	ns	0,82	2,10	30	13	0,83	0,89	ns	0,88	2,30
Átlag	17	7,94	0,73	0,74	-	0,71	1,67	30	8,59	0,76	0,73	-	0,70	1,65

Vizsgált minták száma (N), kimutatott allélek száma (N_A), megfigyelt heterozigotitás értékek (H_O), várt heterozigotitás értékek (H_E), Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés (HWE), Polimorfizmus információs tartalom (PIC), Shannon-Weaver diverzitás index (I) értékek lókuszonként és összesítve. ns = nem szignifikáns; * = p<0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001.

3.3.2. Genetikai struktúra és hibridizáció

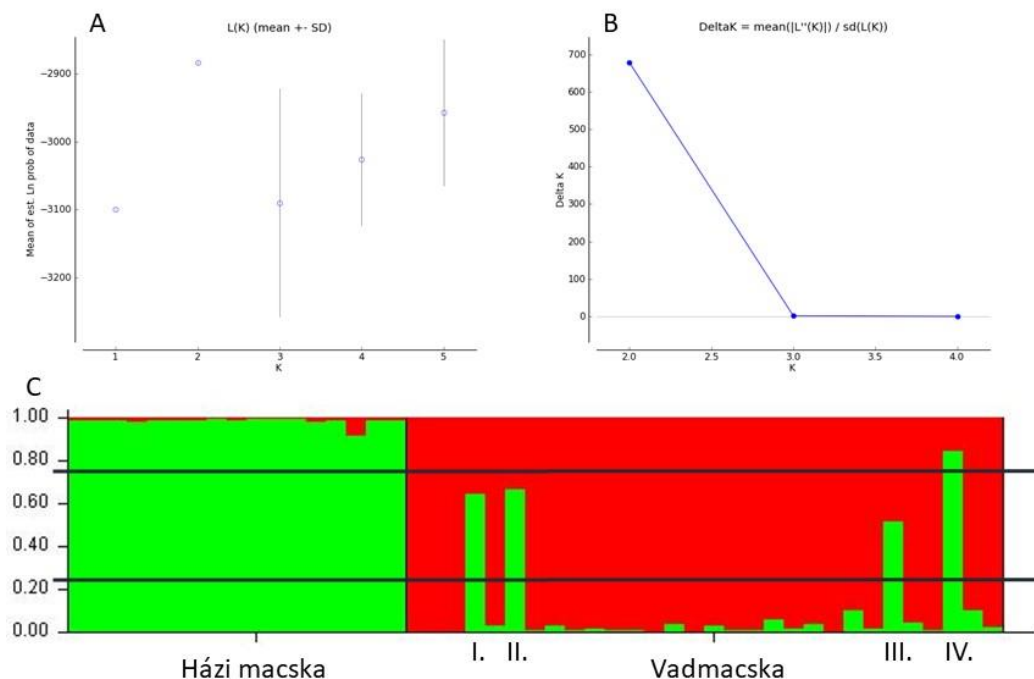
A Structure klaszterező program alapján a kettő genetikai egységre való bontásnak (K = 2) volt a legmagasabb átlagos valószínűség értéke („likelihood

score”). Ennek értelmében a házi macska minták csoportja (zöld szín) és a referencia és terepi gyűjtésű feltételezett vadmacskák csoportja (piros szín) egyértelműen elkülönültek egymástól. A csoportokon belüli egyedi genotípusok vizsgálatánál a vadmacska klaszterben előfordultak olyan feltételezett vadmacska egyedek, melyek kevesebb, mint 75%-ban ($q^{(i)} \leq 0,75$ hozzárendelési érték) tartoztak genetikailag a csoporthoz, viszont több mint 25%-ban ($q^{(i)} \geq 0,25$ hozzárendelési érték) hasonlítottak genetikailag a házi macska csoporthoz (3. táblázat). Ezeket a mintákat a vizsgálat alapján hibridnek tekintetem (3/C. ábra I.; II.; III.). A vadmacska klaszterben található egy olyan terepi gyűjtésű feltételezett vadmacska minta is, mely kevesebb, mint 25 %-ban ($q^{(i)} \leq 0,25$) hasonlít genetikailag a vadmacska klaszterhez, viszont több mint 75%-ban ($q^{(i)} \geq 0,75$) hasonlít genetikailag a házi macska klaszterhez (3. táblázat). Ez a természetes élőhelyéről származó egyed a vizsgálat alapján házi macska (3/C ábra IV.).

3. táblázat: A Structure analízis eredményéből származtatott $q^{(i)}$ érték.

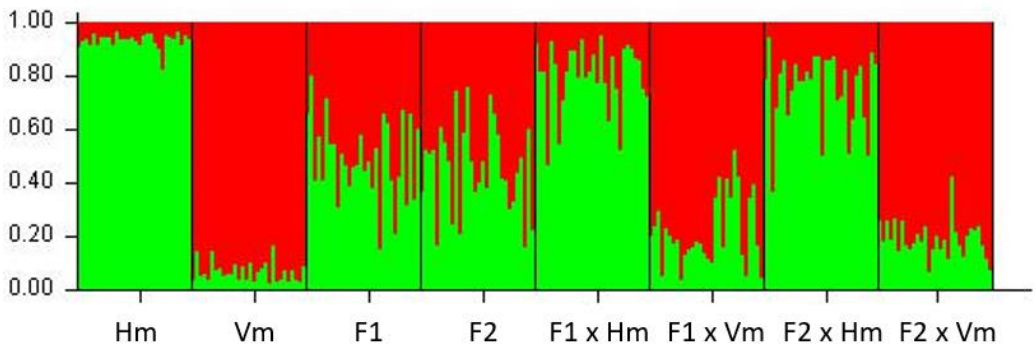
Egyed azonosítója	$q^{(i)}$ érték házi macska csoporthoz	$q^{(i)}$ érték vadmacska csoporthoz
I.	0,64	0,35
II.	0,67	0,33
III.	0,52	0,48
IV.	0,84	0,16

Az I.; II. és III. feltételezett vadmacska egyed esetében ez az érték nagyobb, mint 0,25 és kevesebb, mint 0,75, ami alapján ezek az egyedek hibridnek bizonyulnak. A IV. egyed esetében ez az érték a házi macska csoportjához viszonyítva nagyobb, mint 0,75, ezért ez az egyed házi macskának bizonyul.



3. ábra: Az utozómás STR markerek alapján számított log-valószínűség értékei (L) („A”) és azok változása (DeltaK) egymás utáni klasztereknél („B”) Structure analízis alapján. A legmagasabb DeltaK érték alapján a két klaszterre való bontás (K = 2) a legvalószínűbb, ennek eredménye látható a „C” ábrán.

A Hybridlab által generált mikroszatellit genotípusokat Structure analízis segítségével teszteltem (4. ábra). A korábban használt $q^{(i)} \geq 0,75$ küszöbértéket használva a mesterségesen generált házi macskák és vadmacskák csoportjaiban lévő egyedek 100%-ban elkülönültek egymástól. A mesterségesen létrehozott F1 hibridek közül a genotípusok 10%-át tévesen a házi macska vagy a vadmacska csoportba sorolta a program a $q^{(i)}$ érték alapján. A mesterségesen létrehozott F2 hibridek esetében ez az arány 20% volt (4. táblázat).



4. ábra: Az autoszómás STR markerekkel Hybridlab programban generált szülői és különböző fokú hibrid csoportok Structure analízisének ábrája. Mindegyik csoportban 30-30 genotípus generálva, az analízis legmagasabb DeltaK értéke alapján két klaszterre ($K = 2$) bontásban. Hm – Házi macska; Vm – Vadmacska; F1 – elsőfokú hibridek; F2 – másodfokú hibridek.

1. táblázat: A Structure analízis átlagos $q^{(i)}$ értékei és a mesterségesen létrehozott genotípusok tartományai az adott szülői és különböző fokú hibridkategóriákra vonatkozóan.

Mesterségesen létrehozott genotípus kategóriák	Átlagos $q^{(i)}$ érték (tartomány)	nem osztályozott ($q^{(i)} < 0,75$; %)
Házi macska	0,94 (0,83 - 0,97)	0
Vadmacska	0,93 (0,83 - 0,97)	0
F1	0,51 (0,2 - 0,85)	90
F2	0,54 (0,24 - 0,84)	80
F1 X házi macska	0,80 (0,47 - 0,95)	26,67
F1 X vadmacska	0,78 (0,48 - 0,96)	30
F2 X házi macska	0,76 (0,37 - 0,95)	36,67
F2 X vadmacska	0,81 (0,58 - 0,93)	16,67

A táblázat 3. oszlopa az egyik szülői csoportba sem tartozó genotípusok %-os arányát mutatja. A 0,75 feletti $q^{(i)}$ értékek valamely szülői csoporthoz tartozást jelentik.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

4.1. Szürke farkas

A vizsgálatokhoz használt mikroszatellit markerek kellően polimorfak voltak az magyarországi állomány genetikai diverzitásának felméréséhez, valamint a genetikai struktúra vizsgálatához.

A magyarországi természetben élő szürke farkasok genetikai diverzitásának szintje mérsékelt volt ($H_o = 0,60$; $H_E = 0,69$). Hasonló szintű heterozigotitást talált Szlovákiában Rigg et al. (2014) ($H_o = 0,65$, $H_E = 0,64$), Szewczyk et al. (2019) ($H_o=0,65$, $uH_E=0,678$) és Hulva et al. (2018) ($H_o=0,694$, $H_E=0,733$), illetve Szerbiában, beleértve a Kárpátok legdélebbi részét is, Đan et al. (2016) ($H_o=0,69$; $H_E=0,75$). Bakan et al. (2014) a szlovákiai ($H_o=0,539$; $H_E=0,707$) és a szerbiai ($H_o=0,539$; $H_E=0,707$) állományban szintén hasonló heterozigotitásról számoltak be ($H_o=0,526$; $H_E=0,637$). Ezek az eredmények összhangban vannak a fajon Európában máshol elvégzett genetikai vizsgálatok diverzitásértékeivel (Hindrikson et al. 2017), kivéve Olaszországot, ahol a heterozigotitás értékek alacsonyabbnak találták ($H_o=0,57$; $uH_E=0,58$), mivel a populáció súlyos genetikai beszűkülésen ment keresztül. (Fabbri et al. 2014).

A genetikai struktúrára irányuló vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy a szlovákiai populáció valószínűleg természetes terjedés útján járult hozzá a magyarországi szürke farkasok génállományához, de nem biztos, hogy ez az egyetlen populáció, amely részt vett Magyarország újbóli benépesítésében, mivel a szakemberek a faj terjedéséről szerzett eddigi tapasztalatai alapján távolabbi állományokból is érkezhettek egyedek (pl. Wabakken et al. 2007, Ciucci et al. 2009, Andersen et al. 2015, Bartoń et al. 2019, vagy a legfrissebb észlelés alapján például Svájcból), amelyek részt vehettek a szaporodásban. Az eredmények nem támasztják alá azt a hipotézist, hogy a szabadon élő

farkasok jelenléte Észak-Magyarországon állatkertekből vagy más fogságban tartott létesítményekből történő szabadon engedés eredménye lett volna (Kovács 2018, Fluck 2020). Ugyanakkor a fogságban tartott farkasoktól származó minták száma korlátozott volt, és bár nem zárható ki teljesen az ilyen kibocsátások lehetősége, a vizsgált minták genetikai struktúrája alapján ez vagy legalábbis a szaporodásba való bekapcsolódásuk nem tűnik valószínűnek. A szóródást elősegíthetik a megfelelő élőhelyek és ökológiai folyosók (Köck et al. 2014), így a különböző populációkból származó egyedek keveredhetnek és hozzájárulhatnak egy adott populáció jelenlegi genetikai állományához, ahogy azt Európa több régiójában is bizonyították már (pl. Ražen et al. 2016, Hulva et al. 2018, Szewczyk et al. 2019). Így azok a magyarországi szürke farkasok, melyek a genetikai struktúrálásra irányuló analízis $K = 4$ eredményénél elkülönülnek a szlovákiai és a zárt térben tartott farkasoktól is, lehetnek a szlovákiaitól eltérő populációból bevándorolt egyedek is, vagy ilyen egyedek leszármazottai.

A vizsgált magyarországi farkas egyedek között a hímek száma magasabb volt, mint a nőstényeké, ami tükrözheti a nemek közötti szétszóródási különbségeket. A természetes szürke farkas populációk szétszóródásában általában hím egyedek vesznek részt, hajlamosabbak a szétszóródásra (Stansbury et al. 2016). Ez arra utal, Magyarországon még mindig a kezdeti betelepülési fázisban van a farkasállomány felépülése és még mindig erősen függ a szlovákiai forráspopulációkból való utánpótlástól.

4.2. Eurázsiai hiúz

A referencia minták között, melyek Romániából és Szlovákiából származtak, illetve a magyarországi terepi gyűjtésű minták között igen alacsony lókuszonkénti allélszám volt tapasztalható. Az eurázsiai hiúz genetikai vizsgálataival foglalkozó kutatások túlnyomó része a macska genom

alapján fejlesztett mikroszatellit lókuszokat használja fel (Menotti-Raymond & O'Brien 1995, Menotti-Raymond et al. 1997, Menotti-Raymond et al. 1999). A macska genom alapján fejlesztett mikroszatellit lókuszokon kívül az eurázsiai hiúz mikroszatellit alapú vizsgálatára az eredetileg kanadai hiúzra (*Lynx Canadensis*) és a szumátrai tigrisre (*Panthera tigris sumatrae*) fejlesztett lókuszokat is használnak (Carmichael et al. 2000, Williamson et al. 2002).

Az európai populációk jelentős részében tapasztalható alacsony genetikai diverzitás egyik oka a mesterséges visszatelepítéseknél tapasztalható alacsony alapító egyedszám (Linnell et al. 2009). A több évnnyi Börzsöny hegységben gyűjtött hiúz mintákon végzett mikroszatellit alapú vizsgálatok egy egyedet azonosítanak, mely eredmény megerősíti a terepi szakemberek kameracsapdás eredményeit, mely szerint feltehetően egy egyed található a hegységben (Bedő Péter, Darányi László szóbeli közlés). A Szlovákiából, Romániából és zárttérből származó referencia minták, továbbá a terepi gyűjtésű mintákból azonosított magyarországi hím ivarú egyed alacsony lókuszonkénti allélszáma megegyezik azokkal a szakirodalmi eredményekkel, melyek a Kárpátokban élő hiúzok alacsony heterozigotizációjáról számolnak be (Schmidt et al. 2011, Krojerová-Prokešová et al. 2019).

4.3. Vadmacska

Az európai vadmacska állományon végzett mikroszatellit alapú genetikai vizsgálatok jelentős részét a Menotti-Raymond & O'Brien (1995) és Menotti-Raymond et al. (1999, 2003) által házi macskában leírt mikroszatellit primerekkel végezték (pl. Randi et al. 2001, Lecis et al. 2006, Hertwig et al. 2009, Eckert et al. 2010, Say et al. 2012, Steyer et al. 2013, Mattucci et al. 2013, Mattucci et al. 2016).

A magyarországi minták esetében a megfigyelt heterozigotitás (H_O) 0,76, a várt heterozigotitás (H_E) pedig 0,73 volt. Ez az eredmény közel azonos a Say et al. (2012) által Franciaországban 18 lókuszt felhasználásával vizsgált 131 európai vadmacska diverzitásértékeivel ($H_O = 0,70$; $H_E = 0,73$), illetve Urzi et al. (2021) eredményeivel is, ahol szintén 18 lókuszt vizsgálva horvátországi mintákban az előzőekhez hasonló diverzitásértékeket írtak le ($H_O = 0,72$; $H_E = 0,72$).

A hibrid egyedek azonosítására az első generáción (F1) túl gyenge diszkriminációs képesség jellemző, amint például azt a mikroszatellit szimulált adataira vonatkozó Bayes-megközelítésekkel (Vähä & Primmer 2006), vagy hibrid egyedek szimulálásával, vadmacska és házi macska szülőktől származó empirikus mikroszatellit adatok felhasználásával is kimutatták (Hertwig et al. 2009, O'Brien et al. 2009, Oliveira et al. 2008). Az általam szimulált genotípusok alapján kapott eredmények azt mutatják, hogy a használt mikroszatellit lókusztok nagymértékben (90%-ban) alkalmasak a fajtisza és a kevert egyedek elkülönítésére az első hibrid (F1) generációig. A mikroszatellit azonban nem tették lehetővé a különböző hibrid osztályok megkülönböztetését, beleértve a visszakeresztezéseket is. Steyer et al. (2018) vizsgálatában a mikroszatelliteken kívül SNP alapú vizsgálatot is végeztek, melyben megállapították, hogy az általuk használt mikroszatellit 100%-ban alkalmasak voltak az első hibrid generáció (F1) elkülönítésére, azonban a különböző hibrid osztályok megkülönböztetésére az általuk használt lókusztok sem voltak kellőképpen alkalmasak. Ellenben az általuk szimulált SNP genotípusok nagy bizonyossággal választották el a szülői generációktól még a második hibrid generációt (F2) is (12%-os tévedés a szimulált genotípusok között). Azonban a szimulált hibridek azonosításának sikere a második generáción túl SNP-ken alapuló vizsgálat esetében is korlátozott (Nussberger et al. 2013).

4.4. Javaslatok

A genetikai vizsgálatok a terepi adatgyűjtési módszereket kiegészítve több fontos információval szolgálhat a populációk múlt- és jelen állapotáról, főleg a rejtett életmódot folytató állatfajok esetében, ahol azok állapotának nyomon követése nehéz feladat. Mivel ezek a populációk nagyon sok esetben több ország területén találhatóak és bizonyítottan nagy távolságokra képesek elvándorolni, ezért fontos lenne Európa, de legalább jelen esetben a Kárpát-medencén belül egy egységesített genetikai módszertan kidolgozására és alkalmazására annak érdekében, hogy az eredmények összehasonlíthatóak legyenek egymással. Ez nagyban megkönnyítené a populációk állapotának és esetleges további terjeszkedésének nyomon követését, és hozzájárulna az Európai Unió irányelveit követő, határokon átnyúló természetvédelmi és kezelési programokhoz.

A szürke farkason végzett vizsgálatok eredménye alapján a faj Szlovákiából vagy Szlovákia irányából mutat terjeszkedést, viszont nem zárható ki, hogy más populációk is részt vesznek a bevándorlásban. Ezen kívül célszerű lenne Magyarországon belül is egységes mintagyűjtési protokollt és vizsgálati módszertant követni annak érdekében, hogy átfogó képet kaphassunk az ország nagyragadozó állományának jelenlegi helyzetéről. A szürke farkas esetében a disszertációban bemutatott 14 tetranukleotid ismétlődést mutató mikroszatellit lókuszt és egy ivar meghatározására szolgáló marker alkalmasnak bizonyult a faj- és egyedazonosításra, valamint a rokonsági kapcsolatok felmérésére. Az eurázsiai hiúz esetében a Kárpát-medencei és a magyarországi mintaszám növelésével, illetve további szakirodalmi mikroszatellit lókuszok bevonásával szeretnénk részletesebb képet kapni a faj magyarországi helyzetéről. A vadmacska esetében a 2000-es évek első felében közzétett publikációk hasonló módszerrel már vizsgálták a magyarországi állomány genetikai diverzitását és esetleges hibridizációját a házi macskával,

amit sikeresen ki is mutattak. Ahhoz azonban, hogy pontosabb képet kaphassunk a magyarországi vadmacska állomány genetikai állapotáról és hibridizáltsági fokáról, érdemes lenne a vadmacska ismert előfordulási helyeiről származó átfogó mintavételezésre. A hibridizáltsági fokok pontosabb meghatározásához pedig a genetikai módszerek közül az SNP (egyponos nukleotid polimorfizmus) panelek alkalmazására, mivel szakirodalmi adatok alapján bizonyos SNP panelek képesek nagy genetikai valószínűséggel akár az F2-es hibrid egyedek azonosítására is.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Genetikai módszerek alkalmazásával igazoltam, hogy a szürke farkas Északi-középhegységbe való visszatelepülésében természetes terjedés útján részt vett a szlovákiai állomány. Továbbá, elemzésem nem támasztja alá azt a feltételezést, hogy zártkertekből származó egyedek vettek volna részt a hazai szürke farkas állomány visszatelepülésében.
2. A terepi gyűjtésű szürke farkas minták genetikai vizsgálata alapján megbecsültem a minimális farkas egyedszámot és az ivari eloszlást. Megállapítottam, hogy a hazai szürke farkas magyarországi visszatelepülésében valószínűleg több egyed vett részt, különböző időpontban.
3. A rekonstruált rokonsági kapcsolatok alátámasztják, hogy az Északi-középhegység területén vizsgált farkasállományt nemcsak szétszóródó egyedek alkotják, hanem szaporodó párok is kialakultak.
4. Az eurázsiai hiúz fajjal kapcsolatban sikerült elvégeztem az első magyarországi genetikai alapú előfordulás vizsgálatot, többségében a Börzsöny-hegységből származó mintákon. Bizonyítottam, hogy a több éven keresztül nem invazív módszerrel gyűjtött minták egyetlen hím-től származtak.
5. Felmértem a vadmacska Északi-középhegységi, jelentős hazai populációjának genetikai diverzitását. A nemzetközi szakirodalmakból adaptált és optimalizált mikroszatellit markerek segítségével a mintákon sikeres besorolást végeztem az európai vadmacska, a házi macska és a hibrid kategóriákba. Ezeknek a markereknek a hibridizációra irányuló megbízhatóságát is megvizsgálva azt találtam, hogy az elsőfokú (F1) hibrid egyedek ezekkel a markerekkel 90%-os megbízhatósággal elkülöníthetők.

6. FONTOSABB TUUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés témájában és módszertanában megjelent impakt faktoral rendelkező tudományos cikkek:

- ❖ **Fehér P.***, Frank K.*, Gombkötő P., Rigg R., Bedő P., Újváry D., Stéger V.✉, Szemethy L.✉ (2022): The origin and population genetics of wolves in the north Hungarian mountains. *Mammalian Biology*, open access. <https://doi.org/10.1007/s42991-022-00287-7>: **Q1 IF: 1,99** független idéző közlemények száma: **3**
- ❖ Kemenszky P.*, **Fehér P.***, Farkas A., Jánoska F., Frank K., Bedő P., Barta E., Varga L., Szemethy L.✉, Stéger V.✉ (2021): Genetic differentiation of the Golden Jackal (*Canis aureus*) populations in southern Hungary and southern Romania as revealed by microsatellite data analysis. *North-Western Journal of Zoology*, 17 (1), 111-116. **Q3 IF: 0,78** független idéző közlemények száma: **1**
- ❖ Schally G., Frank K., Heltai B., **Fehér P.**, Farkas Á., Szemethy L., Stéger V. (2018): High genetic diversity and weak population structuring in the Eurasian Woodcock in Hungary during spring. *Ornis Fennica*, 95 (2), 61-69. **Q2 IF: 1,39** független idéző közlemények száma: **3**

Az értekezés témájában megjelent impakt faktoral nem rendelkező tudományos cikkek:

- ❖ **Fehér P.**, Frank K., Szemethy L., Stéger V. (2020): *Nagyaragadozók Magyarországon II., Molekuláris biológiai módszerek a vadbiológiában.* WWF Magyarország Alapítvány, Budapest. 23pp.

Az értekezés témájában megjelent impakt faktorról nem rendelkező ismeretterjesztő cikk:

- ❖ Frank K., **Fehér P.**, Mihalik B., Stéger V. (2019): Genetikai vizsgálatok a vadgazdálkodás szolgálatában. Vadászévkönyv 2019, Dénes Natúr Műhely, 150-157p.

Az értekezés témakörében tartott előadások:

- ❖ Gombkötő P., **Fehér P.**: Vadmacska GSM alapú egyedi jelölésének első tapasztalatai a Bükki Nemzeti Park Igazgatóság működési területén. A lopakodás nagymestere végveszélyben II., A vadmacska (Felis silvestris) helyzete a Pilis-Budai hegység térségében szakmai konferencia, Budakeszi Vadaspark, 2022.12.08. – meghívott előadó
- ❖ **Fehér P.**, Gombkötő P., Bedő P., Frank K., Ninausz N., Szemethy L., Stéger V. (2021): A szürke farkas (Canis lupus) visszatelepülésének nyomon követése molekuláris genetikai módszerek segítségével. Emlőskutatók Szakmai Napja 2021, Budapest, 2021.12.09., 9-10 p., ISBN: 9789639877467
- ❖ **Fehér P.**: Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása a hazai vadmacska monitoringban. A lopakodás nagymestere végveszélyben I., A vadmacska (Felis silvestris) helyzete a Pilis-Budai hegység térségében szakmai konferencia, Budakeszi Vadaspark, 2021.11.03. – meghívott előadó
- ❖ **Fehér P.**: Genetikai módszerek alkalmazása a hazai ragadozó fajok monitorozásában. Life EuroLargeCarnivores Program, Haszonállat védelem- és nagyragadozók szakmai konferencia, Parádfürdő, 2021.10.20-22. – meghívott előadó (magyar nyelvű)

- ❖ **Fehér P.:** Genetika a természetvédelem és a vadgazdálkodás szolgálatában. Life EuroLargeCarnivores Program, Falka Napok, Aggtelek, 2021.08.07-08. – meghívott előadó (magyar nyelvű)

- ❖ **Fehér P.,** Ninausz N., Pásztor A., Szabó L., Szemethy L., Heltai M., Stéger V., Varga L. (2021): Analysis of MC1R pigmentation gene in the Hungarian population of golden jackal (*Canis aureus*). 18th Wellmann International Scientific Conference, 2021.05.13., 31 p., ISBN: 9789633067901

- ❖ **Fehér P.,** Gombkötő P., Bedő P., Rigg R., Frank K., Varga L., Barta E., Szemethy L., Stéger V.: Molekuláris biológiai módszerek a vadbiológiában. Life EuroLargeCarnivores Program, Nagyragadozók jelenlétének kimutatása online workshop. 2020.12.16. – meghívott előadó (magyar nyelvű)

- ❖ **Fehér P.,** Frank K., Szepesi K., Heltai B., Barta E., Újváry D., Gombkötő P., Szemethy L., Stéger V. (2017): A hazai macskafélék (*Felidae*) genetikai monitorozási módszerének fejlesztése. Magyar Biológiai Társaság XXX. Vándorgyűlése, Budapest, 2017.02.17-18., 45-46 p. ISBN:9789638734389.

Az értekezés témakörében bemutatott poszterek:

- ❖ **Fehér P.,** Frank K., Kemenszky P., Farkas A., Jánoska F., Bedő P., Barta E., Varga L., Szemethy L., Stéger V. (2022): A population genetics-based study of the recolonization of the golden jackal (*Canis aureus*) in two core areas in southern Hungary and southern Romania. 3rd International Jackal Symposium, Gödöllő, 2022.11.02-04., 59 p., ISBN: 9789636230128

- ❖ **Fehér P.**, Heltai B., Frank K., Kemenszky P., Jánoska F., Szemethy L., Varga L., Stéger V. (2019): Population genetic survey of the golden jackal (*Canis aureus*) in the southern transdanubian region. 17th Wellmann International Scientific Conference, Hódmezővásárhely, 2019.05.08., 26-27 p., ISBN: 9789633066539
- ❖ **Fehér P.**, Szepesi K., Frank K., Heltai B., Mihalik B., Újváry D., Szilágyi I., Gombkötő P., Szemethy L., Stéger V. (2018): Development of genetic monitoring methods for Hungarian large carnivores. Fiatal Biotechnológusok Országos Konferenciája (FIBOK 2018), Budapest, 2018.03.28-29., 67 p., ISBN: 9789633153703
- ❖ **Fehér P.**, Frank K., Heltai B., Szepesi K., Mihalik B., Barta E., Újváry D., Gombkötő P., Szemethy L., Stéger V. (2017): Genetic monitoring of Hungarian carnivores. Hungarian Molecular Life Sciences 2017, Eger, 2017.03.31-2017.04.02., 249-250 p. ISBN: 9786155270345

7. IRODALOMJEGYZÉK

- ANDERSEN, L. W., HARMS, V., CANIGILIA, R., CZARNOMSKA, S. D., FABBRI, E., JĘDRZEJEWSKA, B., KLUTH, G., MADSEN, A. B., NOWAK, C., PERTOLDI, C., RANDI, E., REINHARDT, I. & STRONEN, A. V. (2015): Long-distance dispersal of a wolf, (*Canis lupus*), in northwestern Europe. *Mammal Research*, 60 163–168. p.
- BAKAN, J., VUKAN, L., POPOVIĆ, Z. & PAULE, L. (2014): Genetic differentiation of grey wolf population (*Canis lupus L.*) from Balkan and Carpathians. *Balkan J Wildl Res*, 1 87–93. p.
<https://doi.org/10.15679/bjwr.v1i1.17>
- BARTOŃ, K. A., ZWIJACZ-KOZICA, T., ZIĘBA, F., SERGIEL, A. & SELVA, N. (2019): Bears without borders: long-distance movement in human-dominated landscapes. *Global Ecology and Conservation*, 17, e00541.
- BERGER, K. M. (2006): Carnivore–livestock conflicts: effects of subsidized predator control and economic correlates on the sheep industry. *Conservation Biology*, 20: 751–761. p.
- BOITANI, L. & POWELL, R. A. (2012): Carnivore Ecology and Conservation. Oxford University Press. Oxford, 528 p.
- CARMICHAEL, L. E., CLARK, W. & STROBECK, C. (2000): Development and characterization of microsatellite loci from lynx (*Lynx canadensis*), and their use in other felids. *Molecular Ecology*, 9(12) 2197–2199. p.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2000.105323.x>
- CHAPRON, G., KACZENSKY, P., LINNELL, J. D. C., VON ARX, M., HUBER, D., ANDRÉN, H., ET AL. (2014): Recovery of Large carnivores in Europe's modern human-dominated landscapes. *Science*, 346: 1517–1519. p.

- CIUCCI, P., REGGIONI, W., MAIORANO, L. & BOITANI, L. (2009): Long-distance dispersal of a rescued wolf from the Northern Apennines to the Western Alps. *Journal of Wildlife Management*, 73 1300–1306. p. <https://doi.org/10.2193/2008-510>
- COMAZZI, C., MATTIELLO, S., FRIARD, O., FILACORDA, S. & GAMBA, M. (2016): Acoustic monitoring of golden jackals in Europe: setting the frame for future analyses. *Bioacoustics* 25: 267–278. p.
- ĐAN, M., ŠNJEGOTA, D., VELIČKOVIĆ, N., STEFANOVIĆ, M., OBREHT VIDAKOVIĆ, D. & ĆIROVIĆ, D. (2016): Genetic variability and population structure of grey wolf (*Canis lupus*) in Serbia. *Russian Journal of Genetics*, 52 821–827. p.
- DEINET, S., IERONYMIDOU, C., RCRAE, L., BURFIELD, I. J., FOPPEN, R. P., COLLEN, B. & BÖHM, M. (2013): Wildlife comeback in Europe: The recovery of selected mammal and bird species. ZSL, BirdLife International and the European Bird Census Council. London, 307 p.
- EARL, D. A. & VONHOLDT, B. M. (2012): STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2) 359–361. p. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>.
- ECKERT, I., SUCHENTRUNK, F., MARKOV, G. & HARTL, G. B. (2010): Genetic diversity and integrity of German wildcat (*Felis silvestris*) populations as revealed by microsatellites, allozymes, and mitochondrial DNA sequences. *Mammalian Biology*, 75(2) 160–174. p. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2009.07.005>
- EVANNO, G., REGNAUT, S. & GOUDET, J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation

- study. *Molecular Ecology*, 14(8) 2611–2620. p.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- FABBRI, E., CANIGLIA, R., KUSAK, J., GALOV, A., GOMERČIĆ, T., ARBANASIĆ, A., HUBER, D. & RANDI, E. (2014): Genetic structure of expanding wolf (*Canis lupus*) populations in Italy and Croatia, and the early steps of the recolonization of the Eastern Alps. *Mammalian Biology*, 79 138–148. p.
- FEHÉR, P., FRANK, K., HELTAI, B., SZEPESI, K., MIHALIK, B., BARTA, E., ÚJVÁRY, D., GOMBKÖTŐ, P., SZEMETHY, L. & STÉGER V. (2017): Genetic monitoring of Hungarian carnivores: *Felidae*. In: Hungarian Molecular Life Sciences (2017) (Eger), 249–250. p. ISBN 978-615-5270-34-5
- FLUCK, D. (2020): Észet farkasok, nem kutyadolog. 50-51. p. In: WALLENDUMS P (Eds.): *Magyar Vadaszlap*. Budapest: Virtuoz Kiado es Nyomdaipari Kft.
- GLAUBITZ, J. C. (2004): CONVERT: A useful-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. *Molecular Ecology Notes*, 4(2) 309–310. p.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00597.x>
- GOUDET, J. (1995): Fstat (Version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, 86 485–486. p. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111627>
- HEINEMEYER, K. S., ULIZIO, T. J., HARRISON, R. L., LONG, R. A. & MACKAY, P. (2008). Natural sign: tracks and scats. *Noninvasive survey methods for carnivores*, 45–74. p.
- HELTAI, M. & SZEMETHY, L. (2010): A ragadozók ökológiai és gazdasági szerepe. 87-98. p. In: Heltai M. (Szerk.): *Emlős ragadozók Magyarországon*. Budapest, Mezőgazda Kiadó.

- HERTWIG, S. T., SCHWEIZER, M., STEPANOW, S., JUNGNICHEL, A., BÖHLE, U-R. & FISCHER, M. S. (2009): Regionally high rates of hybridization and introgression in German wildcat populations (*Felis silvestris*, Carnivora, Felidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 47 283–297. p. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2009.00536.x>.
- HEURICH, M., MÜLLER, J. & BURG, M. (2012): Comparison of the effectivity off different snare types for collecting and retaining hair from Eurasian lynx (*Lynx lynx*). *European Journal of Wildlife Research*, 58 579–587. p.
- HINDRIKSON, M., REMM, J., PILOT, M., GODINHO, R., STRONEN, A. V., BALTRŪNAITĒ, L. ET AL. (2017): Wolf population genetics in Europe: a systematic review, meta-analysis and suggestions for conservation and management. *Biological Reviews*, 92: 1601–1629. p. <https://doi.org/10.1111/brv.12298>
- HULVA, P., BOLFIKOVÁ, Č. B., WOZNICOVÁ, V., JINDŘICOVÁ, M., BENEŠOVÁ, M., MYSLAJEK, R. W., ET AL. (2018): Wolves at the crossroad: Fission–fusion range biogeography in the Western Carpathians and Central Europe. *Diversity and Distributions*, 24 179–192. p. <https://doi.org/10.1111/ddi.12676>
- JOMBART, T. (2008): adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24 1403–1405. p. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
- JONES, O. R. & WANG, J. (2010): COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular. Ecology. Resources*, 10:551–555. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02787.x>

- KEENAN, K., MCGINNITY, P., CROSS, T. F., CROZIER, W.W. & PRODÖHL, P. A. (2013): Diversity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution*, 4 782-788. p. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.12067>
- KENDALL, K. C. & MCKELVEY, K. S. (2008): Hair collection. 141–182 p. In: LONG, A., R., MACKAY, P., ZIELINSKY, J., W. & RAY, C. J. (szerk.): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*. Washington: Island Press, 400 p.
- KOVÁCS, Z. (2018): Féljünk-e a farkastól? 128-132. p. In: JÁMBOR, L., BIRÓ, G., BORS, R., DÉNES, R., FÖLDVÁRI A., KOVÁCS, G., KOVÁCS Z., RUNG Á. & WALLENDMUS P. (Eds.): *Vadászévkönyv 2018*. Budapest: Országos Magyar Vadászkamara.
- KÖCK, M., TUDOR, P., VERGHELET, M., HOFMANN, C., FAVILLI, F., ELMI, M., ALBERTON, M., MEYER, H., KADLECIK, J. & SIPOS, K. (2014): Integrated management of biological and landscape diversity for sustainable regional development and ecological connectivity in the Carpathians. UNEP Vienna: Interim Secretariat of the Carpathian Convention (ISCC). 87 p.
- KROJEROVÁ-PROKEŠOVÁ, J., TURBAKOVÁ, B., JELENČIČ, M. BOJDA, M., KUTAL, M., SKRBINŠEK, T., KOUBEK, P. & BRYJA, J. (2019): Genetic constraints of population expansion of the Carpathian lynx at the western edge of its native distribution range in Central Europe. *Heredity*, 122 785–799. p. <https://doi.org/10.1038/s41437-018-0167-x>
- LECIS, R., PIERPAOLI, M., BIRO, ZS., SZEMETHY, L., RAGNI, B., VERCILLO, F. & RANDI, E. (2006): Bayesian analyses of admixture in wild and domestic cats (*Felis silvestris*) using linked microsatellite

- loci. *Molecular Ecology*, 15(1) 119–131. p.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02812.x>
- LI, Y. L. & LIU, J. X. (2018): StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources*, 18 176–177. p.
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.12719>
- LIEBENBERG, L. (1990): *The Art of Tracking: The Origin of Science*. s.l.: David Philip Publishers.
- LINNELL, J. D. C., ODDEN, J., SMITH, M. E., AANES, R. & SWENSON, J. E. (1999): Large carnivores that kill livestock: do problem individuals really exist? *Wild Soc. Bull.*, 27: 698–705.
- LINNELL, J. D. C., BREITENMOSER, U., BREITENMOSER-WÜRSTEN, C., ODDEN, J. & VON ARX, M. (2009): Recovery of Eurasian lynx in Europe: What part has reintroduction played? 72-91 p. In: HAYWARD, M. W., SOMERS, M. J. (EDS.): *Reintroduction of top-order predators*. Oxford: Wiley-Blackwell. 480 p.
- LONG, A. R., MACKAY, P., RAY, J. & ZIELINSKI, W. (2008): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*. Island Press, Washington, 385 p.
- MACKAY, P., ZIELINSKI, W. J., LONG, R. A. & RAY, J. C. (2008): Noninvasive Research and Carnivore Conservation. p. 1–7. In: LONG, A., R., MACKAY, P., ZIELINSKY, J., W. & RAY, C., J. (szerk.): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*. Washington, Island Press, 400 p.
- MATTUCCI, F., OLIVEIRA, R., BIZZARRI, L., VERCILLO, F., ANILE, S., RAGNI, B., LAPINI, L., SFORZI, A., ALVES, P. C., LYONS, L. A. & RANDI, E. (2013): Genetic structure of wildcat (*Felis silvestris*)

- populations in Italy. *Ecology and Evolution*, 3(8) 2443–2458. p.
<https://doi.org/10.1002/ece3.569>
- MATTUCCI, F., OLIVEIRA, R., LYONS, L. A., ALVES, P. C. & RANDI, E. (2016): European wildcat populations are subdivided into five main biogeographic groups: consequences of Pleistocene climate changes or recent anthropogenic fragmentation?. *Ecology and Evolution*, 6(1) 3–22. p. <https://doi.org/10.1002/ece3.1815>
- MEEK, P., FLEMING, P., BALLARD, G., BANKS, P., CLARIDGE, A., SANDERSON, J. & SWANN D. (2014): *Cara Trapping*. Clayton: CSIRO Publishing. 392 p.
- MENOTTI-RAYMOND, M. A. & O'BRIEN, S. J. (1995): Evolutionary conservation of ten microsatellite loci in four species of Felidae. *Journal of Heredity*, 86 319–321. p.
- MENOTTI-RAYMOND, M., DAVID, V.A., STEPHENS, J.C., LYONS, L.A. & O'BRIEN, S.J. (1997): Genetic individualisation of domestic cats using feline STR loci for forensic applications. *Journal of Forensic Sciences*, 42 1039–1051. p.
- MENOTTI-RAYMOND, M. A., DAVID, V. A., LYONS, L. A., SCHAFFER, A. A., TOMLIN, J. F., HUTTON, M. K. & O'BRIEN, S. J. (1999): A genetic linkage map of microsatellites in the domestic cat (*Felis catus*). *Genomics*, 57 9–23. p.
- MENOTTI-RAYMOND, M., DAVID, V. A., CHEN, Z. Q., MENOTTI, K. A., SUN, S., SCHÄFFER, A. A., AGARWALA, R., TOMLIN, F. J., O'BRIEN, J. S. & MURPHY, J. W. (2003): Second-generation integrated genetic linkage/radiation hybrid maps of the domestic cat (*Felis catus*). *Journal of Heredity*, 94(1) 95–106. p.
- NIELSEN, E. E. G., BACH, L. A. & KOTLICKI, P. (2006): HYBRIDLAB (version 1.0): A program for generating simulated hybrids from

- population samples. *Molecular Ecology Notes*, 6 971–973. p.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01433.x>.
- NUSSBERGER, B., GREMINGER, M. P., GROSSEN, C., KELLER, L. F. & WANDELER, P. (2013): Development of SNP markers identifying European wildcats, domestic cats, and their admixed progeny. *Molecular Ecology Resources*, 13 447–460. p.
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.12075>
- O'BRIEN, J., DEVILLARD, S., SAY, L., VANTHOMME, H., LÉGER, F., RUETTE, S. & PONTIER, D. (2009): Preserving genetic integrity in a hybridising world: Are European Wildcats (*Felis silvestris silvestris*) in eastern France distinct from sympatric feral domestic cats? *Biodiversity and Conservation*, 18 2351–2360. p. <https://doi.org/10.1007/s10531-009-9592-8>
- OLIVEIRA, R., GODINHO, R., RANDI, E. & ALVES, P. C. (2008a): Hybridization versus conservation: Are domestic cats threatening the genetic integrity of wildcats (*Felis silvestris silvestris*) in Iberian Peninsula? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 363 2953–2961. p.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0052>
- PEAKALL, R. & SMOUSE, P. E. (2012): GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 28 2537–2539. p.
- PILGRIM, K. L., MCKELVEY, K. S., RIDDLE, A. E. & SCHWARTZ, M. K. (2005): Felid sex identification based on noninvasive genetic samples. *Molecular Ecology Notes*, 5 60–61. p.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00831.x>

- PRITCHARD, J. K., STEPHENS, M. & DONNELLY, P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155 945–959. p. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x>
- PUECHMAILLE, S. J. (2016): The program STRUCTURE does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: Subsampling and new estimators alleviate the problem. *Mol. Ecol. Resour.*, 16:608–627. p. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12512>
- R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org/>
- RANDI, E., PIERPAOLI, M., BEAUMONT, M., RAGNI, B. & SFORZI, A. (2001): Genetic identification of wild and domestic cats (*Felis silvestris*) and their hybrids using Bayesian clustering methods. *Molecular Biology and Evolution*, 18 1679–1693. p.
- RAŽEN, N., BRUGNOLI, A., CASTAGNA, C., GROFF, C., KACZENSKY, P., KLJUN, F., KNAUERS, F., KOS, I., KROFEL, M., LUŠTRIK, R., MAJIĆ, A., RAUER, G., RIGHETTI, D. & POTOČNIK, H. (2016): Long-distance dispersal connects Dinaric-Balkan and Alpine grey wolf (*Canis lupus*) populations. *European Journal of Wildlife Research*, 62 137–142. p.
- RIGG, R., SKRBINŠEK, T. & LINNELL, J. (2014): Engaging hunters and other stakeholders in a pilot study of wolves in Slovakia using noninvasive genetic sampling. Bruxelles: Report to DG Environment, European Commission. 38 p. Contract no. 07.0307/2013/654446/SER/B
- SAY, L., DEVILLARD, S., LÉGER, F., PONTIER, D. & RUETTE, S. (2012): Distribution and spatial genetic structure of European wildcat in

- France. *Animal Conservation*, 15(1) 18–27. p.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2011.00478.x>
- SCHMIDT, K., RATKIEWICZ, M. & KONOPIŃSKI, M. K. (2011): The importance of genetic variability and population differentiation in the Eurasian lynx (*Lynx lynx*) for conservation, in the context of habitat and climate change. *Mammal Review*, 41(2) 112–124. p.
- SCHWARTZ, M., K. & MONFORT, S., L. (2008): Genetic and Endocrine Tools for Carnivore Surveys. 238–262. p. In: LONG, A., R., MACKAY, P., ZIELINSKY, J., W. & RAY, C., J. (szerk.): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*. Washington: Island Press, 400 p.
- SUNDQVIST, L., KEENAN, K., ZACKRISSON, M., PRODOHL, P. & KLEINHANS, D. (2016): Directional genetic differentiation and relative migration. *Ecology and Evolution*, 6 3461–3475. p.
<https://doi.org/10.1002/ece3.2096>
- STANSBURY, C. R., AUSBAND, D. E., ZAGER, P., MACK, C. M. & WAITS, L. P. (2016): Identifying gray wolf packs and dispersers using noninvasive genetic samples. *Journal of Wildlife Management*, 80 1408–1419. p. <https://doi.org/10.1002/jwmg.21136>
- STEYER, K., SIMON, O., KRAUS, R. H., HAASE, P. & NOWAK, C. (2013): Hair trapping with valerian-treated lure sticks as a tool for genetic wildcat monitoring in low-density habitats. *European Journal of Wildlife Research*, 59(1) 39–46. p. <https://doi.org/10.1007/s10344-012-0644-0>
- STEYER, K., TIESMEYER, A., MUÑOZ-FUENTES, V. & NOWAK, C. (2018): Low rates of hybridization between European wildcats and domestic cats in a human-dominated landscape. *Ecology and Evolution*, 8(4) 2290–2304 p. <https://doi.org/10.1002/ece3.3650>

- SZEWCZYK, M., NOWAK, S., NIEDŹWIECKA, N. HULVA, P., ŠPINKYTE, B., DEMJANOVIČOVÁ, K., BOLFÍKOVÁ, C. B., ANTAL, V., FENCHUK, V., FIGURA, M., TOMCZAK, P., STACHYRA, P., STEPNIAK, M. K., ZWIJACZ-KOZICA, T. & MYŚLAJEK, W. R. (2019): Dynamic range expansion leads to establishment of a new, genetically distinct wolf population in Central Europe. *Scientific Reports*, 9 19003. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55273-w>
- TÖRÖK, K. & FODOR, L. (szerk.) (2002): A természetes életközösségek megóvásának és monitorozásának aktuális problémái, ökológiai alapja, a természetvédelem feladatai. Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar (ELTE-TTK) (H); Szent István Egyetem, Környezetgazdálkodási Intézet (SZIE-KGI) (H); Környezetvédelmi Minisztérium Természetvédelmi Hivatal (KöM-TvH) (H), Budapest-Gödöllő-Madrid-Fort Collins.
- URZI, F., ŠPREM, N., POTOČNIK, H., SINDIČIĆ, M., KONJEVIĆ, D., ČIROVIĆ, D., REZIĆ, A., DUNIŠ, L., MELOVSKI, D. & BUZAN, E. (2021): Population genetic structure of European wildcats inhabiting the area between the Dinaric Alps and the Scardo-Pindic mountains. *Scientific Reports*, 11(1) 1–11. p. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-443648/v1>
- VAN OOSTERHOUT, C., HUTCHINSON, W. F. D., WILLS, D. P. & SHIPLEY, P. (2004): MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4 535–538. p. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
- WABAKKEN, P., SAND, H., KOJOLA, I., ZIMMERMANN, B., ARNEMO, J. M., PEDERSEN, H. C. & LIBERG, O. (2007): Multistage, long-range natal dispersal by a global positioning system-collared scandinavian

wolf. *Journal of Wildlife Management*, 71 1631–1634. p.
<https://doi.org/10.2193/2006-222>

WILLIAMSON, J. E., HUEBINGER, R. M., SOMMER, J. A., LOUIS, E. E.
& BARBER, R. C. (2002): Development and cross-species
amplification of 18 microsatellite markers in the Sumatran tiger
(*Panthera tigris sumatrae*). *Molecular Ecology Notes*, 2(2) 110–112. p.
<https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2002.00163.x>

YAN, S., BAI, C., LI, Y., HOU, J., ZHAO, Z. & HAN, W. (2013): Sex
identification of dog by PCR based on the differences in the AMELX
and AMELY genes. *Animal Genetics*, 44 606 p.
<https://doi.org/10.1111/age.12063>