



MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

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

**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

.....
A témavezető(k) jóváhagyása
Dr. Stéger Viktor

.....
A témavezető(k) jóváhagyása
Dr. Szemethy László

Tartalomjegyzék

1. JELÖLÉSEK ÉS RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	5
2. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉSEK	6
2.1. Bevezetés.....	6
2.2. Célkitűzések.....	8
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	10
3.1. A ragadozók helyzete és szerepe.....	10
3.2. A szürke farkas populációinak alakulása Európában.....	12
3.3. Az eurázsiai hiúz populációinak alakulása Európában.....	15
3.4. A vadmacska populációinak alakulása Európában.....	17
3.5. Populációgenetikai vizsgálatok.....	20
3.5.1. Szürke farkas.....	21
3.5.2. Eurázsiai hiúz.....	25
3.5.3. Vadmacska.....	28
3.5.4. Hibridizáció.....	29
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	34
4.1. Mintavétel és DNS izolálás.....	34
4.1.1. Szürke farkas minták.....	34
4.1.2. Eurázsiai hiúz minták.....	35
4.1.3. Vadmacska minták.....	37
4.2. DNS izolálás különböző minta típusoskból.....	38
4.3. Populációgenetikai vizsgálatok STR markerekkel.....	40
4.3.1. Szürke farkas.....	40
4.3.2. Macskafélék: Eurázsiai hiúz és vadmacska.....	41
5. EREDMÉNYEK	44
5.1. Szürke farkas.....	44
5.1.1. Genetikai diverzitás.....	44
5.1.2. A magyarországi farkas egyedek közötti rokonsági kapcsolatok.....	46
5.1.3. Genetikai struktúra.....	47
5.2. Eurázsiai hiúz.....	50
5.3. Vadmacska.....	52
5.3.1. Genetikai diverzitás.....	52
5.3.2. Genetikai struktúra és hibridizáció.....	53
5.4. Esettanulmány.....	57
6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	61
6.1. Szürke farkas.....	61
6.2. Eurázsiai hiúz.....	64
6.3. Vadmacska.....	65
6.4. Javaslatok.....	68

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	69
8. ÖSSZEFOGLALÁS	70
9. SUMMARY	71
10. MELLÉKLETEK	72
10.1. Irodalomjegyzék (M1)	72
10.2. Melléklet (M2)	103
10.3. Melléklet (M3)	107
10.4. Melléklet (M4)	111
10.5. Melléklet (M5)	116
11. FONTOSABB TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK	117
12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	118

1. JELÖLÉSEK ÉS RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

BIC	Bayesian Information Criterion / Bayes-féle információs kritérium
bp	Base pair / bázispár
DAPC	Discriminant Analysis of Principal Components / Főkomponens diszkriminancia analízis
DNS	Deoxyribonucleic acid / deoxiribonukleinsav
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid / etilén-diamin-tetraecetsav
FIS	Inbreeding coefficient / Beltenyésztési együttható
Fst	Fixation index / fixációs indexek
GPS	Global Positioning System / globális helymeghatározó rendszer
H _E	Expected Heterozygosity / várt heterozigotitás
H _O	Observed Heterozygosity / megfigyelt heterozigotitás
HWE	Hardy-Weinberg Equilibrium / Hardy-Weinberg egyensúly
I	Shannon Information Index / Shannon-Weaver információs Index
IUCN	International Union for Conservation of Nature / Természetvédelmi Világszövetség
K	Cluster / klaszter
LCIE	Large Carnivore Initiative for Europe / Nagytestű ragadozókra vonatkozó európai kezdeményezés
mtDNS	Mitochondrial DNA / mitokondriális DNS
N _a	Number of alleles / allélszám
PCA	Principal Component Analysis / főkomponens analízis
PCoA	Principal Coordinates Analysis / főkoordináta analízis
PIC	Polymorphism Information Content / Polimorfizmus információs tartalom
PCR	Polymerase Chain Reaction / polimeráz láncreakció
SNP	Single Nucleotide Polymorphism / egyponos nukleotid polimorfizmus
STR	Short Tandem Repeat / rövid, egymás után ismétlődő DNS szakasz

2. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉSEK

2.1. 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). Sokuk az előző évszázadban bekövetkező illegális vadászatnak és az élőhelyek darabolódásának, beszűkülésének köszönhetően veszélybe került, populációik napjainkban is csökkenő félben vannak (Ripple 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 (Heinemeyer et al. 2008, Kendall & McKelvey 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).

A szürke farkas (*Canis lupus*) történelmi szempontból széles körben elterjedt faj, melyet a 18-20. század között folyamatosan visszaszorítottak Európában. A 20. század második felétől kezdődő védelmi intézkedéseknek és folyamatos monitoring programoknak köszönhetően Európa számos farkasállománya növekedőben van (Chapron et al. 2014). A kontinensen jelenleg 10 populációt különítenek el. Európai állományát több, mint 12.000 egyedre becsülik, ebből a kárpáti populáció körülbelül 3.300 egyedet jelent, melyből hazánkban csak 10-25 példány található 2011-es adatok szerint (Kaczensky et al. 2013). A 20. század végétől kezdődött meg a faj visszatelepülése Magyarországon, az Északi- középhegységben, illetve a Duna- Tisza köze déli részén (Szemethy & Márkus 2007a). A genetikai vizsgálati módszerek széles körben elterjedtek a faj esetében (de Groot et al. 2016). Ezek a módszerek lehetővé teszik számunkra az ökológiai és a gazdálkodással kapcsolatos kérdések széles körének kezelését (Randi 2011), olyan esetekben is, amikor nincs szükségünk közvetlen érintkezésre az állatokkal (Taberlet et al. 1999). Ezek a genetikai vizsgálatok lehetnek mitokondriális DNS-en alapulók, melyekkel a genetikai diverzitást és a faj filogeográfiai történetét vizsgálhatjuk regionális-, nemzetközi- és világviszonylatban (például Vilá et al. 1997), vagy mikroszatelliteken alapulók. Ilyen, mikroszatelliteken alapuló vizsgálattal mérték fel az európai populációkat (Pilot et al. 2006), de használhatjuk populációk közötti génáramlás szintjének becslésére is (Aspi et al. 2006), vagy populációméret becslésére (Marucco et al. 2009), a populáció töredezettségének vagy a palacknyakhatás vizsgálatára (Lucchini et al. 2004). Ezen kívül a módszer alkalmas a más kutyafélékkel, főleg a kutyával történő hibridizáció kimutatására is (Hindrikson et al. 2012, Randi et al. 2014). Az elmúlt években az SNP-k (Single nucleotide polymorphism- Egy pontos nukleotid polimorfizmus) is egyre népszerűbbek (de Groot et al. 2016). Előnyük, hogy közvetlenül összehasonlíthatók, ezért könnyen beépíthetők közös, megosztott adatbázisokba, hátránya viszont, hogy sokkal nagyobb lókuszkészletre van szükség ahhoz, hogy hasonló statisztikai értékkel bírjon, mint a mikroszatellitek (Hoban et al. 2014). A Kárpát-medence több országában is végeztek genetikai vizsgálatokat. Bakan et al. (2014) balkáni (Szerbia) és a kárpáti (Szlovákia) mintákon vizsgálták a genetikai diverzitást és a génáramlást mikroszatellit markerek segítségével. Több vizsgálat is azt mutatja, hogy a kárpáti populáció nagy része az északi területeken (Lengyelország, Szlovákia, Nyugat-Ukrajna) összpontosul (Pilot et al. 2006, Czarnomska et al. 2013).

A többi nagytestű ragadozóhoz hasonlóan az eurázsiai hiúz (*Lynx lynx*) volt az egyik legnagyobb mértékben üldözött faj Európában. Ez a hatás már a 16. században elkezdődött, csúcspontja pedig

a 19. századra tehető, ami a faj eltűnését vonta maga után az egész kontinensen (Schmidt et al. 2011). Magyarországon az 1980-as évekig kipusztult fajnak tekintették. Ezt követően a kárpáti állomány növekedésének köszönhetően újra megjelent hazánkban. Európában jelenleg Skandináviában, az Alpokban, a Balkánon és a Kárpátokban élnek a legjelentősebb populációi (Szemethy & Márkus 2007b, Kaczensky et al. 2013). A kárpáti populáció a 2001-es felmérések alapján megközelítően 2.300-2.400 egyedre tehető, melyből Magyarországon 1-3 egyed található (Kaczensky et al. 2013). Az eurázsiai hiúz esetében mitokondriális DNS (mtDNS) és mikroszatellit (STR) markerekkel vizsgálták többek között a genetikai diverzitást, beltenyésztettséget, az allélfrekvenciák és a diverzitási indexek változásának mértékét azért, hogy felmérjék a természetes bevándorlás lehetőségét, illetve a populációk létszámának változását (Hundertmark & Van Daele 2010, Sindičić et al. 2013a). A terjeszkedés nyomon követése, a forráspopulációk megtalálása is fontos feladat. Populációgenetikai módszerekkel azonosíthatóak a helyi populációk közötti kapcsolatok, és a megjelenő egyedek származása is. A módszer előnye, hogy nem invazív módszerekkel és viszonylag kis költséggel is hozzáférhető a molekuláris genetikai vizsgálatokhoz elegendő minta (Kendall & McKelvey 2008).

Az európai vadmacska (*Felis silvestris*) az egyik legszélesebb körben elterjedt macskaféle (Bíró et al. 2007). A 20. században végbemenő élőhelyvesztés, illetve az intenzív vadászat voltak a fő tényezők a faj létszámcsökkenésének, olyannyira, hogy az 1900-as évek elején az európai állomány majdnem kipusztult (Steyer et al. 2013, Jerosch et al. 2017). Napjainkra a helyzet ugyan javult, azonban az állományok fő veszélyeztető tényezői továbbra is élőhelyének eltűnése és darabolódása, illetve az illegális vadászat és a házimacskával történő hibridizáció (Pierpaoli et al. 2003). A magyar állományt először az 1980-as években mérték fel. Veszélyeztető tényezői megegyeznek az egyéb európai állományokéval (Bíró et al. 2007). Mivel a faj fennmaradását egyik veszélyeztető tényező a házimacskával történő hibridizáció, ezért a kutatások részben ezzel a kérdéskörrel foglalkoznak. Pierpaoli et al. (2003) több európai vadmacska populációt vizsgáltak morfológiai és genetikai módszereket együttesen használva annak érdekében, hogy kimutatható legyen a házimacskával történő hibridizáció mértéke. Steyer et al. (2013) mitokondriális DNS-t és mikroszatellit markereket is használtak egy kis egyedsűrűségű populáció felmérésére. Továbbá Steyer et al. (2016) szintén genetikai módszereket használva vizsgálták a faj genetikai struktúráját nagyobb földrajzi léptékben is.

2.2. Célkitűzések

A Bükk 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 magyarországi védett ragadozó fajok terepi és genetikai monitorozásában. Ennek az együttműködésnek a célja egy genetikai vizsgálatra alkalmas protokoll kidolgozása és optimalizálása, mely segítségével elsősorban terepen gyűjtött nem invazív mintákból végezhető el macskafélék (vadmacska, eurázsiai hiúz) és kutyafélék (szürke farkas, aranyakál, kutya) faj- és egyedazonosítása egyaránt (Fehér et al. 2017). Ezekbe a vizsgálatokba bekapcsolódva doktori 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 fajszerű 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.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A ragadozók helyzete és szerepe

A ragadozók rendjébe (*Carnivora*) közel 250 szárazföldi faj tartozik, amelyek a Föld szinte minden élőhelyén előfordulnak (Hunter 2019). Ezekben a fajokban általában az a közös, hogy nagyrészt más állatokkal táplálkoznak és a táplálékhálózat csúcsán elfoglalt helyük miatt természetükből adódóan ritkák (Ceballos & Ehrlich 2002, Morrison et al. 2007). A különböző testméretű ragadozók fontos szerepet játszanak az ökoszisztémák szabályozásában (Beschta & Ripple 2009, Prugh et al. 2009, Estes et al. 2011, Ritchie et al. 2012). Különösen a nagytestű ragadozókra igaz, hogy magas az energiaigényük, alacsony populációsűrűséggel rendelkeznek, és nagyobb területet kell bejárniuk elegendő mennyiségű zsákmány elejtésére (Carbone et al. 1999, Cardillo et al. 2004, Cardillo et al. 2005).

Táplálékösszetétel tekintetében a szürke farkas magyarországi adatok alapján az év nagy részében főként vadon élő patásokat fogyaszt. Az ürülékekben talált leggyakoribb zsákmányfaj a vaddisznó volt, a második leggyakoribb a gímszarvas, ezt követte az európai őz, illetve a muflon (Lanszki et al. 2012). Magyarországon a vadmacskák táplálékában legnagyobb részben a kisemlősök, ezen belül is a mezei pocok és az erdei egér szerepel. Második helyen a madarak állnak, ezt követi a nyúl- és dögfogyasztás (Bíró et al. 2005). Magyarországi megfigyelések alapján az Eurázsiai hiúz rágcsálók, madarak mellett elsősorban őzet és muflont eszik (Szabó et al. 2001).

A nagyragadozók száma és elterjedése a történelem folyamán csökkent (Ripple et al. 2014), és jelenlegi védelmük összefonódott a szélesebb körű érzelmi, politikai és társadalmi-gazdasági kérdésekkel, amelyek tovább bonyolítják ezt a vitát (Chapron & López-Bao 2014). Számos ragadozó populációt védelem alá helyeztek nemzeti és európai jogszabályok is (1982. évi Berni Egyezmény; 1992. évi élőhelyvédelmi irányelv), miután a vadon élő állatokkal kapcsolatos közvélemény jelentősen megváltozott a természetvédelemben, amely számos országban ebben az időben következett be. Szintén ebben az időszakban az európai vadon élő növényevő populációk is helyreállításra kerültek, melyek hasonló sorsra jutottak a 19. században, mint a ragadozó fajok. A 20. század elején és közepén bekövetkezett helyreállításukhoz nagymértékben hozzájárultak a vadászat által motivált áttelepítések és a vadászati jogszabályok javítása, melyek célja a patás fajok fenntartható vadgazdálkodása volt (Linnell & Zacos 2011). Emellett az európai erdősültség is kezdett helyreállni a korábbi erdőirtások után, egyrészt az erdészeti politikák, másrészt az erdőkre nehezedő emberi nyomás csökkenése miatt a nagyarányú vidékről városba irányuló migráció következtében. Ez mind a ragadozók, mind a zsákmányállatok élőhelyének növekedéséhez

vezetett, valamint az emberi tevékenység csökkenésével enyhült a ragadozókra nehezedő üldözési nyomás is (Linnell & Zachos 2011).

Ennek megfelelően a nagyragadozók életképes populációinak védelmét nagyon széles skálán kell megtervezni és koordinálni, gyakran számos országon belüli és nemzetközi, határokon átnyúló gazdálkodást igényelve (Linnell & Boitani 2012).

Mivel Európában több mint 500 millió ember él és hiányoznak az érintetlen, nagy kiterjedésű lakatlan területek, ahol a nagytestű emlősök háborítatlan körülmények között élhetnek, úgy tűnhet, hogy a kontinens nem sokat tud nyújtani például a nagyragadozók védelme szempontjából. Azonban az elmúlt néhány évtizedben a társadalmi-gazdasági változások és az emberek természetire és biológiai sokféleségre vonatkozó értékrendje megváltozott és új lehetőségeket teremtett a nagyragadozók számára. Mindezek mellett fontos a nagyragadozók és az érdekcsoportok közötti konfliktusok feltárása, nyomon követése és az azonosított konfliktusok kezelése is (Grossmann et al. 2020).

Európában hagyományosan négy ragadozó faj számít nagyragadozónak, ezek a szürke farkas (*Canis lupus*), a barna medve (*Ursus arctos*), az eurázsiai hiúz (*Lynx lynx*) és a rozsomák (*Gulo gulo*). Európa nagyragadozói jelenleg 42 nemzet között oszlanak meg, amelyek mindegyike egyedi kulturális értékekkel rendelkezik a biológiai sokféleség tekintetében, illetve különböző jogi platformokkal ezek megőrzésére vonatkozóan. Ez a kulturális, politikai és jogi sokféleség Európán belül komoly kihívást jelent a nemzetközileg jegyzett fajok megőrzése szempontjából, amelyek gyakran több határon átnyúló populációval rendelkeznek, amelyek több nemzetközileg jegyzett joghatóságot érintenek. Ezeknek a fajoknak minden olyan jellemzőjük megvan, amelyek nehezen kezelhetők Európa kis közigazgatási egységeinek léptékében: alacsony egyedsűrűségben élnek (jellemzően kevesebb, mint 3/100 km²), az otthonterületük mérete akár 1000 km² is lehet és képesek akár több mint 1.000 km-es elvándorlásra is (Linnell & Boitani 2012). A ragadozókkal való gazdálkodás megkönnyítése érdekében az Európai Bizottság jóváhagyta az „Irányelvek a populációsintű gazdálkodási tervekhez” (Guidelines for population level management plans) (Linnell et al. 2008) dokumentumcsomagot, valamint meghatározta a kontinensen előforduló nagyragadozó fajok főbb populációit. A 33 populáció közül mindösszesen négy fordul elő egyetlen országon belül, némelyik populáció azonban nyolc országot is felölelhet. Kaczensky et al. (2013) nemrégiben áttekintették az európai nagyragadozók 2012-es természetvédelmi helyzetét egy Európa-szerte működő szakértői hálózat által gyűjtött adatok alapján. A következő szakaszok az ő jelentésükből származnak.

Európában körülbelül 17.000 barna medve, 12.000 szürke farkas, 9.000 eurázsiai hiúz és 1.200 rozsomák él (Fehéroroszország, Oroszország és Ukrajna nélkül). A hiúz 11, a medve és a farkas 10-10, a rozsomák pedig 2 ismert populációban fordul elő a kontinensen. A 33 nagyragadozó-

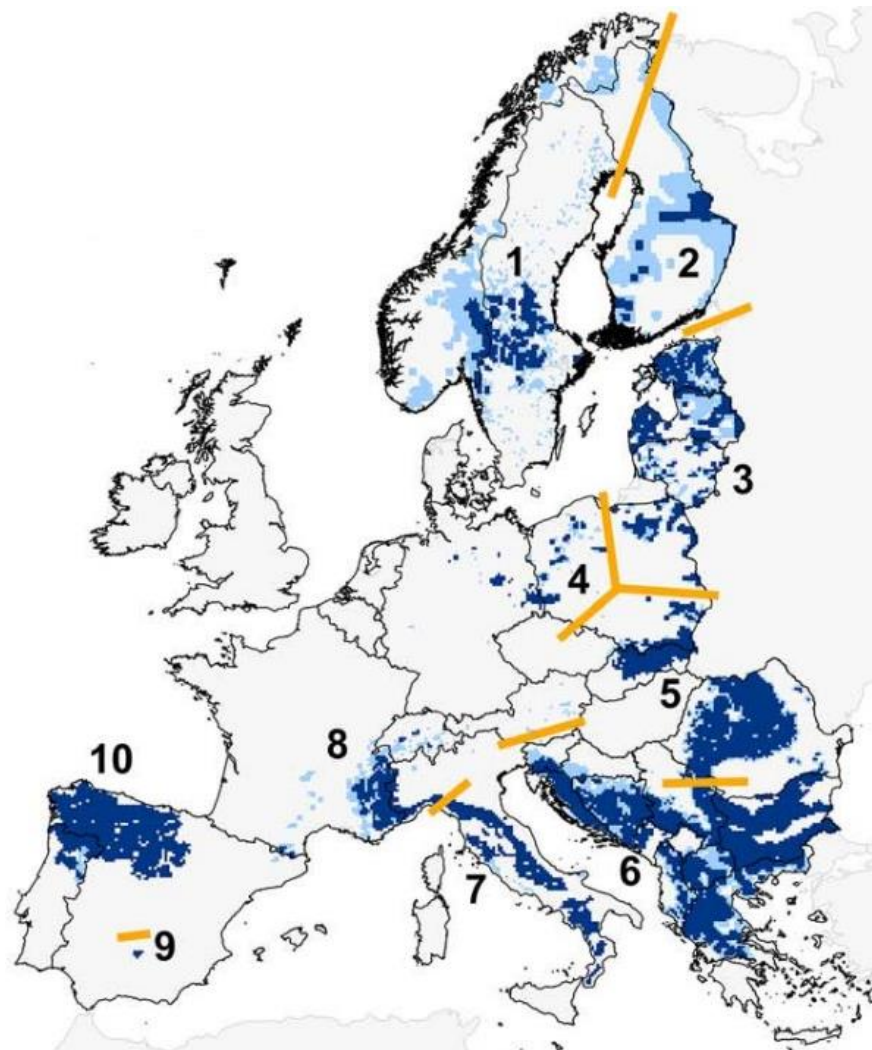
populáció közül nyolc kis méretű és erősen elszigetelt (ebből hatot visszatelepítettek, vagy az adott állományt visszatelepítéssel megerősítettek), míg 14-ben populációként több mint 1.000 egyed él. Mivel disszertációmban a nagyragadozó fajok közül a szürke farkassal és az eurázsiai hiúzzal foglalkozom, ezért a későbbiekben az európai és a magyarországi állomány alakulását csak -e két faj esetében mutatom be.

A nagyragadozókra vonatkozó európai kezdeményezés hatására egy szakértői csoport 2012-ig, majd ezt frissítve 2016-ig felmérte az európai nagyragadozók helyzetét. A Kárpátok és a Dinári-Balkán régió valószínűleg refúgiumként működött az utolsó glaciális idején (kb. 23.000-16.000 évvel ezelőtt) számos faj, köztük a nagyragadozók számára is (Sommer & Nadachowski 2006) és fontos területei az európai genetikai sokféleségnek (Salvatori et al. 2002).

3.2. A szürke farkas populációinak alakulása Európában

A szürke farkast a történelem folyamán évszázadokon keresztül üldözték Európában, aminek következtében korábbi elterjedési területének jelentős részéről eltűnt. Ez a szám az 1940-1960-as években érte el a minimumot (Chapron et al. 2014). Egykor elsősorban a közbiztonságra, haszonállatokra és a vadállományra jelentett fenyegetést, de a közelmúltban az ökoszisztémában kulcsszerepet játszó csúcsragadozóként ismerték el (Bruskotter et al. 2011). Az elmúlt néhány évtizedben a faj természetes regenerálódáson ment keresztül és újra megjelent olyan területeken, ahonnan régebben kiirtották (például Nyugat-Európa egyes országai, Skandinávia), bár becsült sűrűsége igen eltérő (Salvatori & Linnell 2005, Musiani et al. 2009). Ez továbbá köszönhető az európai természetközeli területek védelmének, a társadalmi-gazdasági változásoknak, az innovatív törvényeknek, a közvélemény és a politika elkötelezettségének, illetve a vadon élő patás fajok állománynövekedésének (Boitani 1992, Musiani et al. 2009, Musiani et al. 2010, Randi 2011, Chapron et al. 2014, Leonard 2014, Gilroy et al. 2015, López-Bao et al. 2015). A faj jelentős diszperziós képességgel rendelkezik (Wabakken et al. 2007, Ciucci et al. 2009), és ökológiailag rugalmas (Mech & Boitani 2003), ezért az élőhelyek széles skáláján képesek túlélni, feltéve, hogy elegendő táplálék áll rendelkezésre és a vadászat vagy üldözés a fenntartható határokon belül marad. A szakemberek a legfontosabb korlátozó tényezőnek az antropogén nyomást, valamint a megfelelő szaporodóhelyek jelenlétét tartják (Salvatori & Linnell 2005). Ugyanakkor vannak olyan európai populációk is, amelyek a közelmúltban kihaltak, mint például a dél-portugáliai Alentejo régió populációja az 1980-90-es években (Álvares 2004), vagy a kihalás szélén állnak, mint például a dél-spanyolországi Sierra Morena populációja (López-Bao et al. 2015). Napjainkban a tudomány 10 különálló populációt különít el Európában (Kaczensky et al. 2013):

1) skandináv, 2) karéliei, 3) balti, 4) Közép-európai síksági, 5) kárpáti, 6) balkáni, 7) Olasz-félszigeti, 8) alpi, 9) Sierra Morena-i, 10) ibériai (1. ábra).



1. ábra. Szürke farkas előfordulása Európában 2011-ben. A sötétkék szín az állandó előfordulási területeket jelöli, a világoskék szín a szórványos előfordulási területeket, a narancssárga vonalak pedig a populációk közötti feltételezett határokat. Forrás: Chapron et al. (2014).

A skandináv populáció körülbelül 460 egyedből áll, melynek kb. 90%-a Svédországban, a többi Norvégiában vagy az ezen országok közötti határvidéken található (Wabakken et al. 2020). Az 1960-as években kiirtott és az 1980-as évek óta természetes módon, Finnországból (Karéliából) bevándorolt farkasok által (Wabakken et al. 2001, Vilà et al. 2003a) a skandináv populáció egyre növekszik, és jelenleg Svédország középső részén és Norvégia délkeleti részén fordul elő. Az Európai Bizottság 2012-2016 közötti felmérése alapján a kaléliei populáció körülbelül 200 egyedből áll, ami egy stagnáló populációt mutat (http1). A balti populáció, mely Észtország, Lettország, Litvánia és Északkelet-Lengyelország területén helyezkedik el, 1.700-2.240 egyedből áll (http1). Európa más részeihez hasonlóan a balti farkaspopulációt az 1970-80-as években

majdnem kiirtották (Jędrzejewski et al. 2005, Baltrūnaitė et al. 2013), ami palacknyakhatásra utaló jeleket hagyott az észtországi, lettországi (Hindrikson et al. 2013, Plumer et al. 2016) és a szomszédos Oroszországból származó állományokban (Sastre et al. 2011). A közép-európai alföldi populáció főként Lengyelország és Németország között oszlik meg (Reinhardt et al. 2015), azonban közelmúltban megjelent Dániában (Andersen et al. 2015), Csehországban és Hollandiában (Gravendeel et al. 2013) is. A populáció jelenlegi becsült mérete 780-1.030 példány közé tehető (http1). Ez a populáció az 1990-es évek végén alakult ki (Andersen et al. 2015), amikor az északkelet-lengyelországi farkasok kis csoportja (Czarnomska et al. 2013) újra benépesítette a Németország és Lengyelország közötti luszitainai határvidéket. Az olaszországi populáció az Appenninek mentén helyezkedik el, és körülbelül 1.100-2.400 egyedet számlál (http1). Az alpesi populáció körülbelül 420-550 egyedből áll és Olaszország, Franciaország, Svájc, Ausztria és Szlovénia területén található (http1). A dináriai-balkáni populáció kilenc ország körülbelül 4.000 farkasából áll (http1). A becslések szerint Albániában 200-250 egyed, Bulgáriában 700-800 egyed, Bosznia-Hercegovinában 650 egyed, Horvátországban 168-219 egyed, Görögországban 700 egyed, Macedónia-Macedónia volt Jugoszláv Köztársaságban 466 egyed, Szerbiában 750-850 egyed és Szlovéniában 32-43 egyed található, ezen kívül Montenegróban is előfordul a faj (Chapron et al. 2014). Az északnyugat-ibériai populáción Spanyolország és Portugália osztozik. Egy 2007-es felmérés alapján a populáció körülbelül 2.500 egyedből áll (http1). A 20. század elején az ibériai farkasok az egész félszigeten elterjedtek voltak (Rico & Torrente 2000). Más európai farkaspopulációkhoz hasonlóan azonban a 20. század közepén az ibériai farkaspopuláció eltűnt korábbi elterjedési területének nagy részéről, és az 1970-es évekre minden idők legalacsonyabb szintjére csökkent (Valverde 1971, Grande del Brío 1984, Blanco et al. 1990). A Sierra-Morena populáció elszigetelt és kritikusan veszélyeztetett (Blanco & Cortés 2012, López-Bao et al. 2015), a populáció méretéről nem állnak rendelkezésre adatok. A Kárpát-medence rejti Európa egyik legnagyobb farkas populációját, melynek becsült létszáma 3.500-3.800 egyedre tehető. A populáció főként Romániában, Szlovákiában és Lengyelországban található, de előfordul Csehországban, Szerbiában, Ukrajnában és Magyarországon is (Linnell & Cretois 2018). A sötét farkas Magyarországon is hasonló állományváltozásokon ment keresztül, mint Európa más részein. Számuk és elterjedési területük a 19. század végére jelentősen csökkent (Demeter 1984). A 20. században szórványos előfordulásokat jegyeztek fel az ország több részén (Demeter 1984, Faragó 1989). Ezek elsősorban az ország északi részén, a szlovák határ közelében, ahol a megfelelő élőhelyek folyamatos folyosót alkotnak és megkönnyítik napjainkban is a terjeszkedést (Köck et al. 2014). A farkasok előfordulása az ország más területein szórványosabb, mert a különböző akadályok megnehezítik a faj terjeszkedését. Becslések szerint 2005-ben 3-6 egyed volt megtalálható az ország északi részén, melyek a kárpáti populációhoz tartozhattak (Salvatori &

Linnell 2005). A közelmúltban mintegy 12-18 egyedről számoltak be a Bükki Nemzeti Park Igazgatóság területén és annak környékén, különböző észlelések és nyomok/jelek alapján (Wallendums 2018). Az északi Nemzeti Park Igazgatóságok felmérései alapján 2013-2018 évek között az országban becsült szürke farkas állomány 40-60 egyed közé volt tehető (http2, http3, http4, http5).

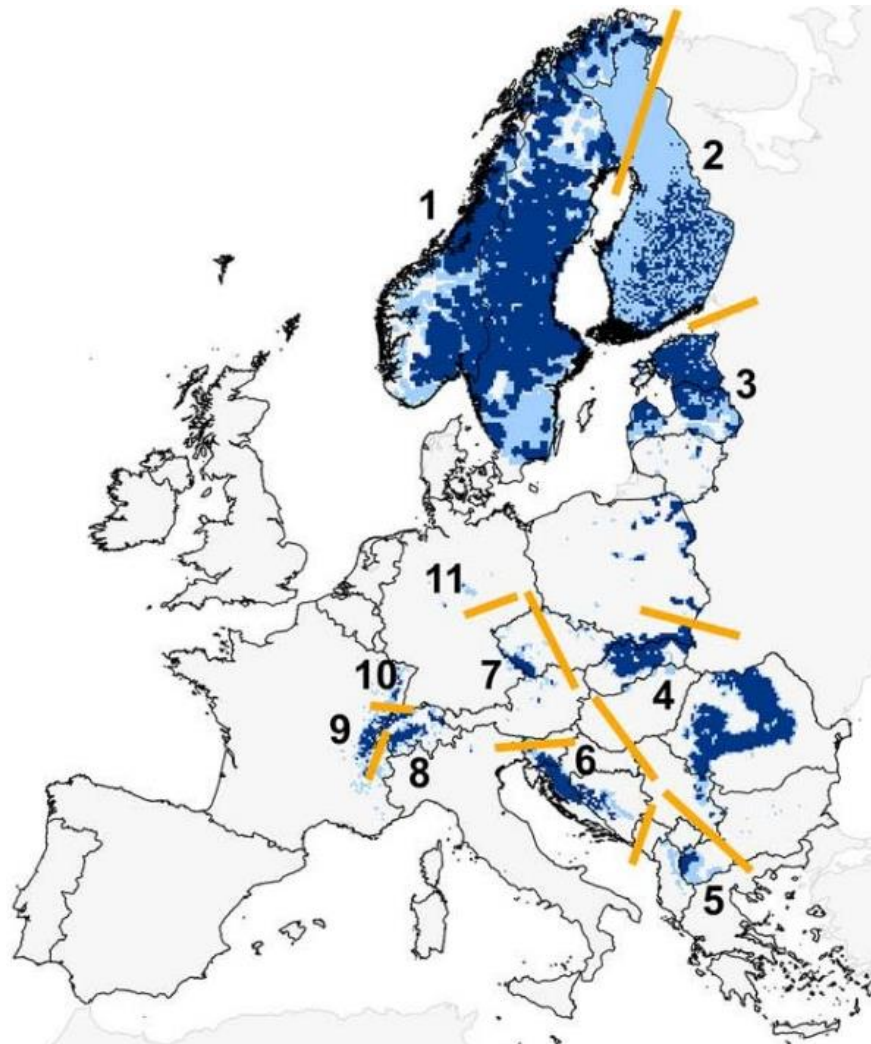
3.3. Az eurázsiai hiúz populációinak alakulása Európában

Az eurázsiai hiúz a barna medve és a szürke farkas után a harmadik legnagyobb ragadozó Európában. Kontinensünk legnagyobb macskaféléje, az ibériai hiúz súlyának kétszerese, a vadmacskának pedig 3-4-szerese (Breitenmoser et al. 2000). A hiúz szerű macskák (*Lynx*) egy nemzetségbe tömörülnek, négy fajjal (*lynx*, *pardinus*, *rufus*, *canadensis*). Ma már csak az északi féltekén fordulnak elő, az eurázsiai hiúz (*Lynx lynx*) és az ibériai hiúz (*Lynx pardinus*) a palearktikumban, a vörös hiúz (*Lynx rufus*) és a kanadai hiúz (*Lynx canadensis*) a nearktikumban (von Arx et al. 2004). A paleontológiai adatok arra utalnak, hogy az eurázsiai hiúz egykor az Ibériai-félsziget kivételével egész Európában előfordult (Kratochvil 1968). A ragadozó emlősökre jellemző ökológiai tulajdonságokkal rendelkeznek, mint például nagy kiterjedésű élőhelyet tart fenn, nagy távolságokat tesz meg és alacsony a populációk sűrűsége. Az előbb említett tulajdonságok azonban nagymértékben eltérnek az egyes populációk között, ami az ökológiai és éghajlati viszonyok széles spektrumában való kiterjedt földrajzi elterjedésből adódik (Herfindal et al. 2005). A vándorlási, ezáltal a populációk közötti géncserére való képességét tekintve a hiúz rendkívül mobilis állatnak tűnik: a fajjal kapcsolatban több száz kilométeres léptékű diszperziót is feljegyeztek már (Schmidt 1998, Andersen et al. 2005). Ez nagy lehetőségeket rejt magában a távoli populációk közötti egységes genetikai struktúra fenntartásában. A leghosszabb szétszóródási távolságokat Skandináviában jegyezték fel, akár 450 km-es távolságot is (Andersen et al. 2005), a legrövidebbet pedig a Jura-hegységben visszatelepített, erősen fragmentált populációban (Zimmermann et al. 2007). Az évszázadok alatt elterjedési területének nagy részéről kipusztult. A faj visszaszorulása feltehetőleg már a 16. században elkezdődött, de a folyamat csak két évszázaddal ezelőtt erősödött fel. A folyamat legkorábban az elterjedési terület nyugati felén kezdődött és kelet felé haladt. A hiúz csontvázmaradványainak Angliában talált leletei például azt mutatták, hogy Nagy-Britanniában a korai középkorig fennmaradt, ami arra utal, hogy kihalását olyan antropogén tényezők okozták, mint az erdőirtás és az üldözés (Hetherington et al. 2006). A faj üldözése a 20. század második felére a jogi szabályozás egész Európára való kiterjesztésének köszönhetően visszaszorult, ami megállította elterjedési területének zsugorodását és rögzítette akkori elterjedési területének határait (Kratochvil 1968). Az akkori állomány végül négy különálló

részre oszlott: i) a legerősebb Nyugat-Oroszországban, ii) a Kárpátokban, iii) a Balkán-félszigeten, és egy maradék populáció iv) Skandináviában. Azóta a helyi hiúz populációk növekedését észlelték (von Arx et al. 2004). A faj jelenlegi populációi az Oroszország európai részén élő, a balti országokig terjedő törzsállományból, a Fennoskandináviában élő populációból, valamint a Kárpátok és a Balkán térségében élő elszigetelt populációkból áll (von Arx et al. 2004). Közép Európában több más, egymástól nagyrészt elszigetelt, meglehetősen kis populációt hoztak létre visszatelepítéssel (von Arx et al. 2004). Az 1970-es évektől egészen a 2000-es évek közepéig folytak a visszatelepítések Ausztria, Csehország, Franciaország, Németország, Olaszország, Szlovénia, Svájc és Lengyelország területén egyaránt (Linnell et al. 2009). Ezen visszatelepítési hullámon kívül 2015-ben Nagy-Britanniában is elkezdődött egy kezdeményezés a faj visszatelepítéséről Dél-Skóciába, Wales-be és Angliába. A visszatelepítés ökológiai megvalósíthatóságának felmérése már elkészült (Johnson & Greenwood 2020). Az eurázsiai hiúz védelméről szóló első páneurópai jelentések az Európai Tanács megbízásából készültek és az 1980-as (Breitenmoser & Breitenmoser-Würsten 1990) és 1990-es év állapotát mérték fel (Breitenmoser et al. 2000). Ezt követően a hiúzállomány helyzetét nem csak országos szinten, hanem az egyes populációkra vonatkozóan is összeállították, a 11 populációból 10 határon átnyúló (von Arx et al. 2004). Az IUCN SSC (International Union for Conservation on Nature and Natural Resources, Species Survival Commission) nagyragadozókra vonatkozó európai kezdeményezése (Large Carnivore Initiative for Europe – LCIE) indítványozta az európai nagyragadozók állományhelyzetének rendszeres felülvizsgálatát, amelynek eredményeit Linnell et al. (2008), Kaczensky et al. (2013), illetve Chapron et al (2014) publikáltak. A jelenlegi ismeretek alapján Európában 11 populációja ismert a fajnak (2. ábra). Ezek a 1) skandináv, 2) karéliei, 3) balti, 4) kárpáti, 5) balkáni, 6) dinári, 7) cseh-bajor-osztrák, 8) alpi, 9) jura, 10) vogézi, 11) Harz-hegységi. A populációk becsült nagysága jelenleg 8-9000 példány lehet. A 11 ismert populáció közül a kárpáti igen jelentős létszámot képvisel, számuk 2100-2400 közé tehető (Kaczensky et al. 2013, [http1](http://)). A kárpáti populáció stabil állományának köszönhetően az elmúlt évtizedekben sikeres visszatelepítési programok forrásává vált Közép-, Nyugat- és Dél-Európa számos területén, például a svájci Alpokban, a francia Jura-hegységben és a Bajor-erdőben, vagy a szlovéniai Dinári-hegységben (Červený & Bufka 1996, Weingarth et al. 2012, Pesenti & Zimmermann 2013, Blanc et al. 2013, Gimenez et al. 2019). A faj fennmaradását veszélyeztető fontosabb tényezők az illegális elejtések és élőhelyeik elvesztése, beszűkülése, illetve a helytelenül megválasztott gazdálkodási struktúrák (Kaczensky et al. 2013).

Magyarországon az Északi-középhegység erdeiben mindhárom Nemzeti Park Igazgatóság területén (Duna-Ipoly Nemzeti Park, Bükk Nemzeti Park, Aggteleki Nemzeti Park) az elmúlt években rendszeresen az észlelések (többnyire kameracsapdás és hóban történő nyomolvasás

során) (http6, http7, http8). Ezen hagyományos terepi vizsgálati módszerek segítségével esetenként csak nagy pontatlansággal és bizonytalansággal határozható meg ezeknek a faj pontos létszáma, a terepi mintákból dolgozó genetikai vizsgálatok azonban sok esetben pontosabb eredményeket szolgáltathatnak (Kendall & McKelvey 2008).



2. ábra. Eurázsiai hiúz előfordulása Európában 2011-ben. A sötétkék szín az állandó előfordulási területeket jelöli, a világoskék szín a szórványos előfordulási területeket, a narancssárga vonalak pedig a populációk közötti feltételezett határokat. Forrás: Chapron et al. (2014).

3.4. A vadmacska populációinak alakulása Európában

Az európai vadmacska (*Felis silvestris silvestris*) olyan közepes testméretű ragadozó macskaféle. Nincs egyetértés abban, hogy a világszerte elterjedt vadmacska (*Felis silvestris*) morfológiájának és genetikájának földrajzi változékonyságát, hogyan kell összefüggésbe hozni annak rendszertanával (Kitchener & Rees 2009). Bizonyos filogeográfiai értelmezések alapján a

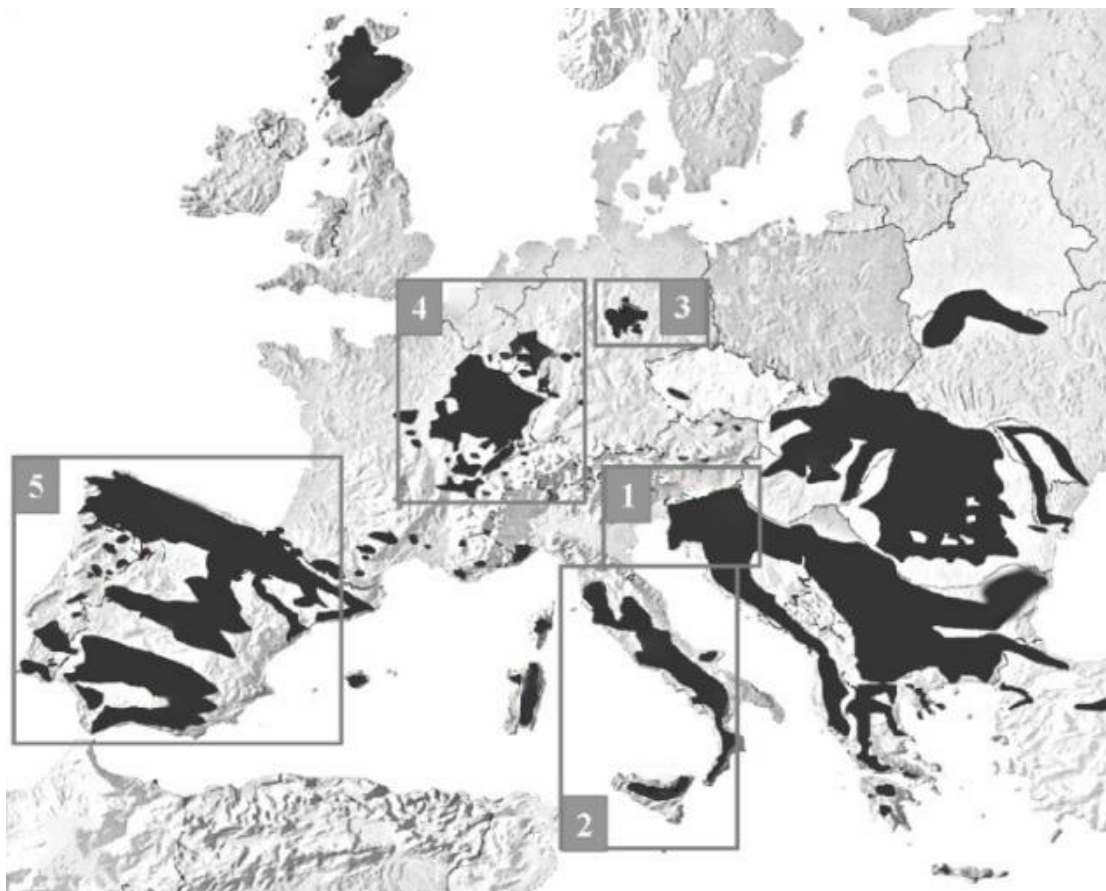
vadmacska öt alfajcsoportból áll (Driscoll et al. 2007, Macdonald et al. 2010), közülük három hagyományos alfajcsoport (Nowell & Jackson 1996, Stuart et al. 2013): az afrikai vadmacska (*Felis silvestris lybica*), az ázsiai vadmacska (*Felis silvestris ornata*), és az európai vadmacska (*Felis silvestris silvestris*), ezeken kívül a dél-afrikai vadmacska (*Felis silvestris cafra*) elismerése mellett megtörtént a kínai alpesi sztyeppmacska (*Felis silvestris bieti*) alfaj szintű besorolása is. Viszont egy alternatív rendszertani besorolás alapján önálló fajként is kezelhetjük őket (Kitchener & Rees 2009, Macdonald et al. 2010). Dolgozatomban rendszertani szempontból faj szinten kezelem az európai vadmacskát. A paleontológiai, biokémiai és molekuláris adatok azt mutatják, hogy az afrikai és az európai faj közeli genetikai kapcsolatban állt egymással egészen az utolsó eljegesedési időszakáig (Pierpaoli et al. 2003).

A faj a történelem során hagyományosan mindig is nagy üldöztetésnek volt kitéve. Ez a tényező az élőhelyvesztéssel súlyosbítva a populációk csökkenését eredményezte az faj egész elterjedési területén (Langley & Yalden 1977, Stahl & Artois 1991, Pierpaoli et al. 2003). A vadmacska számos régióból eltűnt, létszáma a 20. század elejére érte el a legalacsonyabb szintet (McOrist & Kitchener 1994). Állományainak helyreállítása több helyen is az 1990-es években vált lehetségessé, amikor csökkent a populációira és azok élőhelyeire nehezedő emberi ráhatás (például Easterbee et al. 1991). Mindazonáltal ez a helyreállítás lassú folyamat volt, a populációk elszigeteltsége és töredezettsége miatt (Stahl & Artois 1991). Így az európai vadmacska továbbra is veszélyeztetett, a Berni Egyezmény és az Európai Unió (92/43/EGK irányelv) fokozottan védett fajnak nyilvánította.

E jogi védelem ellenére a faj továbbra is számos olyan fenyegetéssel néz szembe, amelyek korlátozzák populációinak helyreállítását, megőrzését. Ezek a főbb fenyegetések elsősorban a vadmacska számára potenciális élőhelyek elvesztése (Klar et al. 2008, 2012), az ember okozta mortalitás – különösen a közúti gázolások (Nowell & Jackson 1996, Lüps et al. 2002, Krone et al. 2008, Bastianelli et al. 2021), az orrvadászat (Bastianelli et al. 2021), a genetikai sodródás miatt bekövetkező allélváltozatok elvesztése (Stahl & Artois 1991), illetve a házi macskával való hibridizáció (Nowell & Jackson 1996, Randi 2001, 2008, Pierpaoli et al. 2003, Driscoll et al. 2007, Oliveira et al. 2008a, b, Senn et al. 2019, Beugin et al. 2020), melyek – egyes feltételezések szerint – már egyes helyi populációk kipusztulásához vezettek (Suminski 1962). A házi macskák – a ház körül élő és kikóborló társállattól a visszavadult egyedekig – ezen a tényezőn kívül még különböző módon és mértékben tudják befolyásolni az élővilágot és ezáltal hatással lehetnek a vadmacskára is. A hibridizáción kívül az ismert hatások közé tartozik még a zsákmányolás (például Biró et al. 2005, Széles et al. 2018, Mori et al. 2019), versengés (például Merson et al. 2019), zavarás (például Loss & Marra 2017), illetve a különböző betegségek terjesztése is (például Loss & Marra 2017). Azonban ez, a házi macskából vadmacskába történő génáramlás Európa-szerte változó intenzitású

lehet, és jelentős helyi különbségeket mutathat, amelyek valószínűleg történelmi, vagy ökológiai okokra vezethetők vissza (Beaumont et al. 2001, Randi et al. 2001). Például a skóciai és a magyarországi vadmacska populációban magas hibridizációs arányt találtak a kutatók (Beaumont et al. 2001, Pierpaoli et al. 2003, Breitenmoser et al. 2019), míg olaszországi, bulgáriai, portugál és német vadmacska populációkban alacsony hibridizációs szintet (Hertwig et al. 2009, Mattucci et al. 2019, Oliveira et al. 2008a, b, Steyer et al. 2018).

A kontinensen Skócia területét és többek között Kelet Európát nem vizsgálva a faj öt különböző biogeográfiai csoportját azonosították Bayes-féle klaszterelemzés módszerrel, ezek a következők (3. ábra): 1) észak-balkáni régió, 2) Olaszország és a szicíliai régió, 3) Németország középső része, 4) Közép-Európa, 5) Ibériai-félsziget (Dinári Alpok) (Mattucci et al., 2016; Mattucci et al., 2019).



3. ábra. Vadmacska biogeográfiai csoportok. 1) észak-balkáni régió, 2) Olaszország és a szicíliai régió, 3) Németország középső része, 4) Közép-Európa, 5) Ibériai-félsziget. Sötét szürke színnel a faj elterjedési területe van jelölve. Forrás: Mattucci et al. (2015) alapján.

Az elmúlt évtizedekben bekövetkezett élőhelyvesztés és fragmentáció a populációk genetikai diverzitásának csökkenéséhez vezetett (Pierpaoli et al. 2003). Annak ellenére, hogy tudatában vagyunk annak, fontos, hogy betekintést nyerjünk és ismerjük a helyi populációk genetikai variabilitását, integritását, a populációszerkezetre vonatkozó adatok a legtöbb ország esetében

hiányoznak az európai régióban, kivételt képez ez alól Olaszország (Mattucci et al. 2013), Franciaország (Say et al. 2012), Németország (Hertwig et al. 2009, Eckert et al. 2010) és Spanyolország (Oliveira et al. 2008a, b). Kutatók azt feltételezik, hogy az európai vadmacska populációk a pleisztocén közepétől a holocénig tartó glaciális időszakot számos fragmentált refúgium területen vészelték át (Mattucci et al. 2013). A kontinensen a faj genetikai diverzitását a pleisztocén klimatikus viszonyai alakíthatták (Kitchener & Rees 2009), az európai vadmacskák átfogó filogeográfiája azonban még mindig hiányos.

Hazai elterjedésével kapcsolatban az információk korlátozottak. Magyarországi elterjedését először 1987-ben mérték fel, mely három fő részre tagolható. A Bakonytól a Zempléni-hegységig terjedő a legstabilabb, ez a terület az Északi-Kárpátokhoz csatlakozik, a Tiszántúl, mely a Keleti-Kárpátokhoz tartozik, illetve a Tisza menti ártéri erdőkben, délen pedig a Duna árteréhez kapcsolódó mecseki területeken fordul elő (Biró et al. 2007).

3.5. Populációgenetikai vizsgálatok

Az állatökológia különböző jellemzői, mint például a populáció sűrűsége, az élőhely mérete, a diszperziós távolság, a szaporodási ráta és a szociális viselkedések közvetlen vagy közvetett hatással lehetnek a populációk genetikai szerkezetére és változékonyságára (Freeland 2005).

A molekuláris biológiában a polimeráz láncreakció (PCR) megjelenése jelentett forradalmi újítást. A célzott régió nagy mennyiségű felsokszorozódásának (amplifikálódásának) következtében (általában 100-2.000 bázispár) a különböző molekuláris technikákkal történő további vizsgálatok elvégezhetők (Palumbi 1996).

A mikroszatellit (STR „Short Tandem Repeat”, SSR „Simple Sequence Repeat”) markerek rövid (1-10 bázispár, általában 2-5 bázispár hosszú) DNS szekvencia szakaszok tandem ismétlődéséből épülnek fel. Kedvező tulajdonságaik miatt populációbiológiában történő alkalmazásuk széles körben elterjedt. Az ismétlődések számának változása miatt polimorfak, és jellemző rájuk, hogy változatosak, konzervatívak, nincs fenotípust kialakító szerepük és kodominánsan öröklődnek (Edwards et al. 1991, Valdes et al. 1993, Yu et al. 2011, Castoe et al. 2012, Cai et al. 2013, Fernández-Silva et al. 2013). Megkülönböztetünk mono- (egy bázispáros), di- (két bázispáros), tri- (három bázispáros), tetra- (négy bázispáros), penta- (öt bázispáros) és hexa- (hat bázispáros) nukleotidokat. A tetranukleotid ismétlődések számítanak a legkedveltebbnek a méretkülönbségek kimutatásának viszonylagos egyszerűsége miatt.

A 1990-es évek óta, amikor a mikroszatellit markereket először használták a természetes populációk tanulmányozására (Ellegren 1991), a mikroszatellit markerek a molekuláris ökológiában és a természetvédelmi genetikában széles körben elterjedt módszerré váltak. A

módszer alkalmas a genetikai diverzitás, a beltenyésztettség, a populációk szerkezetének, a szubpopulációk közötti génáramlás, az egyedek közötti kapcsolatok, és a hibridizáció vizsgálatára is. Mindazonáltal, a mikroszatellitek egyik fő hátránya, hogy különböző laboratóriumokban keletkező adatok csak korlátozottan hasonlíthatók össze, ezért is lehet nehéz például a több határon is átnyúló populációk vizsgálata (de Groot et al. 2016).

3.5.1. Szürke farkas

Ma már széles körben alkalmaznak genetikai módszereket a farkasok elterjedésének és genetikai azonosításának tanulmányozására Európa-szerte (például De Groot et al. 2016, Hindrikson et al. 2017). A genetikai diverzitás jelentősen hozzájárul a populációk alkalmazkodóképességéhez, beleértve azt, hogy megfelelően reagáljanak a változó környezeti feltételekre és az antropogén hatásokra, amelyek közül talán az éghajlatváltozás, az élőhelyek változása és a zsákmányfajok állományaival kapcsolatos ingadozások és az újonnan megjelenő fertőző betegségek a legfontosabbak (Hindrikson et al. 2017). Súlyos esetekben a genetikai diverzitás elvesztése a beltenyésztés miatt, a populáción belüli fitness jelentős csökkenéséhez vezethet (Reed & Frankham 2003, Frankham 2005). Ez teszi a genetikai diverzitás paramétereinek értékelését különösen fontossá a természetvédelmi biológiában (Frankham 2005, Allendorf et al. 2013). Másrészt az európai farkasok által mutatott szélsőséges populációterjeszkedési és rekolonizációs dinamika a kontinens szintjén gyorsan változó elterjedést generál, ami a faj genetikai terjedésében is tükröződik (Randi 2011). Míg egyrészt a mesterségesen létrehozott kis farkaspopulációk genetikai és demográfiai palacknyakhatáson mennek keresztül, az ezzel járó problémákkal együtt (Frankham 2005, Allendorf et al. 2013), a forráspopulációk közötti génáramlás létrejötte új lehetőségeket teremt a kialakulóban lévő populációk hosszú távú életképessége szempontjából.

A farkasok tanulmányozására a kutatók az elmúlt évtizedekben hat fő genetikai marker típust használtak: 1) autoszomális, 2) egy pontos nukleotid-polimorfizmusok (SNP-k), 3) fő hisztokompatibilitási komplexek (MHC), 4) mitokondriális DNS (mtDNS), 5) Y kromoszóma mikroszatellitek és 6) Y kromoszóma egy pontos nukleotid-polimorfizmusok (Hindrikson et al. 2017). Míg kezdetben a mitokondriális DNS volt a leggyakoribb választás, az autoszomális mikroszatellitek gyorsan népszerűvé váltak, mivel a mitokondriális DNS-hez képest nagyobb mértékben alkalmasak az egyes fajok a populációgenetikai sokféleségének, a populáció szerkezetének és a populációk közötti génáramlás mértékének értékelésére (Hindrikson et al. 2017). A közelmúltban a populációelemzés mélységét tovább növelték a nagyméretű, genomszintű

SNP-adatok (vonHoldt et al. 2011, Stronen et al. 2013, Pilot et al. 2014a, Pacheco et al. 2022, Stronen et al. 2022).

A skandináviai populációt genetikai módszerekkel folyamatosan nyomon követik (Ellegren et al. 1996, Ellegren 1999, Flagstad et al. 2003, Vilà et al. 2003a,b, Seddon et al. 2005, 2006, Kardos et al. 2018, Smeds et al. 2021, Åkesson et al. 2022, Viluma et al. 2022). A kutatók a vizsgálatok során felfigyeltek a szomszédos finn/orosz (karéliei) farkaspopulációból történő folyamatos bevándorlásra (Flagstad et al. 2003, Vilà et al. 2003a, Seddon et al. 2006), amely egybeesett az orosz karéliei populáció jelentős növekedésével (Flagstad et al. 2003). Ezt megerősítette az is, hogy ebben az időszakban négy új egyedet is azonosítottak, mely valószínűleg Finnországból vándorolt át Svédországba (Seddon et al. 2006). A skandináv populációt egy súlyos beltenyésztési válság időszakán keresztül is vizsgálták. A beltenyésztési együttható (FIS) 0 és 0,42 között változott az 1983-2002 között született farkasok esetében (Liberg et al. 2005). Ezt követően egy keleti – feltételezhetően karéliei – farkaspopulációból származó egyetlen bevándorló egyednek köszönhetően jelentős mértékű genetikai diverzitásnövekedés volt megfigyelhető (Vilà et al. 2003a). Viszont a 2008-2013 időszakban a populáció beltenyésztettsége tovább nőtt. Azonban ebben az időszakban négy újabb finn/orosz kóborló farkas egyed jelent meg a skandináv populációban és ez ismét javított a populáció beltenyésztettségi mutatóin (Åkesson et al. 2016).

A kaléliei populáció finn és orosz részén élő farkasok genetikai szerkezetét és a populációban zajló folyamatokat, beleértve a farkasok közötti keveredést is, többségében mikroszatellitiek segítségével vizsgálták (Aspi et al. 2006, 2009, Jansson et al. 2012). A kutatók itt is megfigyeltek beltenyésztettségre utaló egyértelmű jeleket (Jansson et al. 2014, Niskanen et al. 2014). A 2000-es évek közepére a populáció méretének csökkenése és az orosz karéliei populációból származó génáramlás alacsony szintje együttesen (Aspi et al. 2006, 2009) demográfiai és genetikai összeomláshoz vezetett a finn karéliei részpopulációban, amely a megfigyelt heterozigotizáció jelentős csökkenésével és a beltenyésztés növekedésével volt magyarázható (Jansson et al. 2012). A történelmi finn farkaspopulációhoz képest a mikroszatellit allélok közel 20%-a nem volt megtalálható a populációban (Jansson et al. 2014). A szakemberek a populációban végzett genetikai vizsgálatok alapján feltételezték, hogy bár a populációt (beleértve Oroszországot is) gyakran egyetlen nagy gazdálkodási egységnek tekintik, az kisebb egységekből (szubpopulációkból) állhat (Aspi et al. 2009, Jansson et al. 2012).

Napjainkban általánosságban elmondható, hogy számos más európai farkaspopulációhoz képest a balti populáció is viszonylag magas heterozigotizációs szintet mutat (Jędrzejewski et al. 2005, Baltrūnaitė et al. 2013, Czarnomska et al. 2013, Hindrikson et al. 2013). Ezen túlmenően, a populáció észt-lettországi részén érdekes genetikai strukturálódást találtak (Hindrikson et al. 2013), és a szakemberek azt feltételezik, hogy a négy azonosított genetikai csoport rávilágít a

legutóbbi populációt ért palacknyakhatásra, amit a súlyos vadászati nyomás és az bevándorlás okozott. Az elmúlt évtizedben a populáció észtországi része terjeszkedést mutat, újra benépesítette az ország két legnagyobb szigetét (Plumer et al. 2016).

Bár a közép-európai alföldi populáció folyamatosan terjeszkedik (Kaczensky et al. 2013), az erős alapítói hatások valószínűleg genetikai elkülönülést eredményeztek e populáció és a balti alapító populáció között (Szewczyk et al. 2019, 2021), annak ellenére, hogy szoros rokonságban állnak egymással és a génáramlásra utaló bizonyítékok is vannak (Czarnomska et al. 2013, Andersen et al. 2015).

Napjainkban az olasz populáció az Appenninek mentén szinte mindenhol elterjedt, bár a három genetikai alpopuláció (Észak-Appenninek, Közép-Appenninek és Dél-Appenninek) korlátozott génáramlása továbbra is fennáll (Fabbri et al. 2007, Scandura et al. 2011). Mikroszatellit alapú genetikai térképezés szempontjából ez az állomány valószínűleg az egyik legkiterjedtebben vizsgált farkaspopuláció Európában (Dolf et al. 2000, Lucchini et al. 2004, Fabbri et al. 2007, 2014, Scandura et al. 2011, Caniglia et al. 2014, Randi et al. 2014, Dufresnes et al. 2019, Angelici et al. 2019). A kutatók kimutatták, hogy az Olaszországból származó farkasok mikrosatellit allélfrekvenciái jelentősen különböznek a többi európai farkaspopulációtól (Randi et al. 2000, Randi & Lucchini 2002), kivéve az alpesi populációt (Fabbri et al. 2014) és a franciaországi Pireneusok és a spanyolországi Katalónia állományait (Lampreave et al. 2011, Sastre 2011), amelyeket olaszországi eredetű farkasokkal alapítottak újra.

Az olaszországi, svájci és franciaországi Nyugati-Alpokban (Lucchini et al. 2002, Valière et al. 2003, Fabbri et al. 2007, 2014) olasz farkasok vettek részt a visszatelepülésben, míg a Keleti- és a Közép-Alpokban az olaszországi és a Dinári-Balkán populációból származó farkasok kolonizáltak (Fabbri et al. 2014, Ražen et al. 2016). Másrészt az ebből a populációból származó farkasok délnyugat felé terjeszkedtek, 1999-ben elérték a Francia-középhegységet (Massif Central) és a Pireneusokat, 2000-ben pedig a spanyolországi Katalóniát, egy, az olasz farkasokra jellemző mtDNS-haplotípust hordozva (Vilà et al. 1997, Valière et al. 2003, Lampreave et al. 2011, Sastre 2011). Igaz, a katalán kormány folyamatos megfigyeléséből következően mindeddig nem volt bizonyítékuk a sikeres szaporodásra.

A dinári-balkáni populációban Szlovéniától Észak-Görögországig a farkas elterjedési területe jelentős folytonosságot mutat a Dinári-hegység és a Balkán-hegység mentén (Musiani et al. 2009, Gomerčić et al. 2010), továbbá Bakan et al. (2014) Szerbia és Bulgária között is azonosítottak génáramlást. Az európai farkaspopulációk közül ez terjed át a legtöbb országhatáron, és ebből következően a legkülönbözőbb monitorozási és kezelési módoknak van kitéve (Kaczensky et al. 2013). A populáció nagy részét, bulgáriai (Lucchini et al. 2004, Bakan et al. 2014, Moura et al. 2014, Pilot et al. 2014b), görögországi (Moura et al. 2014), szerbiai (Bakan et al. 2014),

horvátországi (Gomerčić et al. 2010), szlovéniai (Majić-Skrbinšek 2014) és bosnyák (Šnjegota et al. 2018, 2021) kutatók mikroszatellit markerekkel vizsgálták. A bulgáriai és a horvátországi állomány egy palacknyakhatáson mehetett keresztül a 19. századtól egészen az 1980-as évekig (Gomerčić et al. 2010, Moura et al. 2014). A dináriai-balkáni farkaspopuláció értékes genetikai diverzitás forrása a szomszédos populációk számára, amit a keleti és középső Alpok dináriai-balkáni farkasok általi folyamatos rekolonizációja (Fabbri et al. 2014, Ražen et al. 2016) is mutat. A populáció azonban már helyi szinten is szubpopulációs tagolódásra utaló jeleket mutat (Fabbri et al. 2014), jelezve, hogy további kutatásokra van szükség a belső genetikai és demográfiai kapcsolatrendszer megértéséhez, valamint a védelmi és kezelési programok létrehozásához. Továbbá, a 20. század második felében Magyarország déli, délnyugati részén is voltak szürke farkas észlelések (Szemethy & Heltai 1996), viszont genetikai vizsgálatok hiányában nem lehet biztosan állítani, hogy ezek az egyedek a dinári-balkáni régióból érkeztek-e az országba, vagy más populációkból.

Az északnyugat-ibériai populáció 20. században bekövetkezett súlyos demográfiai szűkület következtében a genetikai vizsgálatok alacsony populációméretet mutattak ki (Sastre et al. 2011), és a beltenyésztési együttható ebben a populációban közepesnek volt mondható (Ramirez et al. 2006, Sastre et al. 2011). Silva et al. (2018) az elmúlt két évtizedben gyűjtött genetikai minta feldolgozásával állapította meg, hogy a jelenkori populáció közepesen magas differenciáltsági szinttel rendelkezik, a különböző azonosított klaszterek pedig változó genetikai diverzitással rendelkeznek, aminek további vizsgálata fontos az ibériai populáció védelmi és kezelési intézkedéseinek kidolgozását illetően.

A Sierra-Morena-i populáció jó példája annak, hogy a különböző fenyegetések hogyan hatnak additív módon a nagyon kis populációkban. Gómez-Sánchez et al. (2018) a populációban azonosított utolsó egyedek egyikét és egy fogságban tartott ibériai farkas tenyésztő programban (Iberian Wolf Captive Breeding Program) szereplő egyed genom szekvenálásának eredményeit hasonlították össze, illetve vetették össze más farkas populációkból származó farkasok és kutyák genomjával. A Sierra-Morena-i farkasnál a hosszú elszigetelődésből adódóan rendkívül magas volt a beltenyésztettség és a homozigotitás mértéke, emellett a genom körülbelül egyharmada kutya eredetű volt. A kutyagének introgressziója ellenére a heterozigotitás alacsony maradt, mivel a beltenyésztés számos hibridizációs esemény után is folytatódott. Ezen eredmények alapján azt lehet feltételezni a Sierra Morena-i populációról, hogy az alacsony populációsűrűség kedvezhetett a hibridizációnak és a kutya allélok introgressziójának, de a folyamatos beltenyésztés azt eredményezhette, hogy a farkas eredetű nagy kromoszómateredékek teljesen eltűntek a populációból, és helyükre kutya eredetű kromoszómateredékek kerültek.

A kárpáti farkasok genetikai vizsgálatai nagyrészt az északi, lengyelországi és szlovákiai populációkra (Pilot et al. 2006, 2010, Gula et al. 2009, Czarnomska et al. 2013, Bakan et al. 2014, Rigg et al. 2014, Hulva et al. 2018), valamint a keleti romániai és ukrainai (Ericson et al. 2020) populációkra összpontosultak. A mikroszatellit és az mtDNS-adatok is arra utalnak, hogy a kárpáti farkasok genetikailag különböznek a szomszédos alföldi farkasok (Pilot et al. 2006, Czarnomska et al. 2013), és a Dinári-Balkán populációitól is (Bakan et al. 2014).

A szürke farkasok első magyarországi genetikai felmérését 2004-2006 között végezték el az Aggteleki Nemzeti Park Igazgatóság területén (Hausknecht et al. 2010). A vizsgálatok eredményei állandóan a területen élő egyedek jelenlétét igazolták a szlovák-magyar határvidék területén.

3.5.2. Eurázsiai hiúz

A házi macska genetikájával kapcsolatos tudásunk bővülése, a macskafélék genomjának viszonylagos konzerváltsága (Menotti-Raymond & O'Brien 1995) megkönnyítette a vadon élő rokon fajok kutatását. Számos, a házi macska vizsgálatára tervezett genetikai markert sikeresen alkalmaztak kutatásokban, a macskafélék családján belüli filogenetikai kapcsolatok, a filogeográfia és a vadon élő macskafélék populációgenetikája terén. A macskafélék filogenetikai elemzésében eddig használt legnagyobb adathalmaz 11166 bp autoszomális, 3230 bp X kromoszómához kapcsolt, 4457 bp Y kromoszómához kapcsolt, és 3936 bp mitokondriális szekvencia volt (Johnson et al. 2006). Jelenleg valamennyi visszatelepített populációt nyomon követik genetikai módszerek segítségével. A mikroszatelliteken alapuló vizsgálatok rámutattak, hogy a visszatelepített populációk alacsony genetikai diverzitással rendelkeznek (Breitenmoser-Würsten & Obexer-Ruff 2003, Bull et al. 2016, Krojerová-Prokeš et al. 2019, Mueller et al. 2020), némelyek kritikus állapotba kerültek (Sindičić et al. 2013a). Mueller et al. (2022) pont ezeket a tényezőket vizsgálták. A visszatelepített európai hiúz állomány lassú állománynövekedésének lehetséges genetikai okait szerették volna feltárni, ehhez a genetikai sokféleség és a beltenyésztettség genomszintű változását vizsgálták SNP-k segítségével, mind a Közép-Európába visszatelepített, mind az európai és ázsiai természetes populációkban. Valamennyi visszatelepített populáció alacsonyabb genetikai diverzitást és megnövekedett mértékű beltenyésztettségi szintet mutatott, mind a magpopulációkhoz, mind más természetes populációhoz képest. A beltenyésztettség az összes visszatelepített populációban jelen van, azonban különböző mértékben. Legnagyobb beltenyésztettség azokban a populációkban van jelen, amelyek esetében alacsony volt az alapító egyedek száma. Öt visszatelepített populáció törzsállományában találtak bizonyítékot az alacsony genetikai diverzitásra és a jelen kori beltenyésztettségre, ami a kutatók számára felveti

a kérdést, hogy ezekben a magpopulációkból származó egyedek képesek-e elegendő genetikai sokféleséget biztosítani a jövőbeli visszatelepítésekhez.

Bazzicalupo et al. (2022) az eurázsiai hiúz két populációjának, az európai populációkhoz sorolt balkáni, és az ázsiai populációkhoz sorolt kaukázusi populációk első genomszintű felmérését végezték el. A vizsgálatban használt autoszomás adatok arra utalnak, hogy a balkáni hiúzállomány szoros rokonságban áll a kárpáti populációval és nagyon alacsony genetikai diverzitást és magas beltenyésztettséget mutat. E vizsgálat után a balkáni hiúz populáció taxonómiai státusza továbbra is tisztázatlan, mivel a mitogenomban (teljes mitokondriális genom) hosszú távú izolációra utaló bizonyítékok állnak szemben a kiterjedt autoszomális keveredéssel és a nukleáris genomban (sejtmagi genom) a közelmúltban bekövetkezett intenzív genetikai sodródással.

Az elmúlt közel 40 évben több kísérletet is tettek az eurázsiai hiúz visszatelepítésére a korábbi nyugat-európai elterjedési területén található potenciálisan alkalmas élőhelyekre. A dinári populációt is az 1970-es évektől kezdődő európai visszatelepítési programok keretén belül élesztették újra. Hat visszatelepített egyed volt az alapító populáció tagja, mely gyorsan terjeszkedett Szlovéniától Horvátországon át egészen a mai Bosznia-Hercegovináig. A kutatók azonban az elmúlt 10-15 évben a populáció csökkenését figyelték meg. Sindičić et al. (2013b) 1979 és 2010 között gyűjtött mintákat felhasználva értékelték a veszélyeztetett populáció természetvédelmi genetikai jellemzőit. Mind a mikroszatellit alapú, mind a mitokondriális alapú vizsgálatok megerősítették a dinári populáció alacsony genetikai variabilitását, és a kárpáti forráspopulációhoz képest jelentős mértékű tényleges beltenyésztettségét. Továbbá, az effektív populációméret és a mikroszatellit variabilitás-elemzés alátámasztotta a csökkenő populációméretre vonatkozó terepi megfigyeléseket is. Bull et al. (2016) a visszatelepítések hiúzpopulációk genetikai állapotára gyakorolt hatásának vizsgálatát mikroszatellit markerekkel végezték a cseh-bajor és a vogézi-pfalzi erdőkben. Az őshonos hiúzpopulációkkal összehasonlítva, -e két populáció lényegesen alacsonyabb genetikai diverzitást mutatott. Egy másik, a német Harz-hegységbe visszatelepített hiúz populációt vizsgált Mueller et al. (2020) mikroszatellit és mitokondriális DNS haplotípus genetikai markerek felhasználásával. Az itteni hiúz populáció, a többi visszatelepített populációkhoz képest nagyobb genetikai diverzitást mutatott, ami a zárttérben tartott eltérő származású vonalak kezdeti keresztezésének és a viszonylag nagy számú alapítói létszámnak köszönhető. Ennek ellenére a populáció genetikai diverzitása a visszatelepítés idejéhez mérten folyamatosan csökken, azonban jelenleg még egy életképes populáció.

Skandináviában a hiúz első genetikai alapú felmérését 2002-ben végezték el Hellborg et al. (2002), ahol a populációt a karéliei és a balti populációkkal hasonlították össze, mikroszatellit markerek és a mitokondrium kontroll régiójának vizsgálatával. A skandináviai populációban 1, a karéliei és a balti populációkban további 3 haplotípust találtak. A genetikai diverzitás mérsékelt volt a

skandináviai populációban, illetve a mért diverzitás értékek alacsonyabbak voltak a másik két populációhoz képest. A klaszterező analízisek pedig egyértelmű különbséget mutattak a skandináviai, illetve a karéliei és a balti populációk között.

Schmidt et al. (2009) a balti populációban vizsgálta, hogy változik-e a genetikai összetétele az észak-lengyelországi, a lett és litván állományok, illetve van-e bizonyíték a populációk közötti izolációra. A kutatók a mikroszatellit lókuszok allélfrekvenciája alapján megállapították, hogy a lengyelországi hiúz mintákban kimutatott allélfrekvencia alacsonyabb, mint a másik két állományban, továbbá jelentős genetikai differenciálódást találtak a lengyel és a lett és litván állományok között.

A Kárpátok területe annak ellenére, hogy Európában milyen fontos élőhelyet nyújt a nagyragadozóknak, kevésbé kutatott terület (Promberger-Fürpass et al. 2002, Rozyłowicz et al. 2010), az eurázsiai hiúz szempontjából pedig a nagyragadozók közül a legkevesebb adat áll a kutatók rendelkezésére (Popescu et al. 2016). Ez azért is fontos, mert az itteni populáció szolgált Európában az eurázsiai hiúz visszatelepítések alapító állományaként, és még mindig fő forrás a folyamatban lévő visszatelepítésekhez (például a Dinári régió és Délnyugat-Németország). A kárpáti populáció magasabb összlétszámot mutatott, mint a többi természetes populáció (Norvégia kivételével), még akkor is, ha régiókénti bontásban figyelembe vesszük a fokozott beltenyésztettséget az elterjedés legnyugatibb szélén (Krojerová-Prokešová et al. 2019). Iosif et al. (2022) Romániában, a Déli-Kárpátokban vizsgálták a hiúz állománysűrűségét és élőhelyhasználatát kameracsapdás felvételek elemzésével. Eredményeik alapján a hiúzállomány becsült sűrűsége a romániai Kárpátokban magasabb volt, mint az Alpokban, vagy a szlovákiai Kárpátokban. Ezek az eredmények rávilágítanak a romániai populáció fontosságára, mely mind a természetes visszatelepülési folyamatok, mind az ember által irányított mesterséges visszatelepítési programok forrásaként szolgálnak. A kárpáti hiúzpopulációnak közös filogenetikai múltja van a balti államokban élő populációval, amíg az utolsó jégkorszak alatt elszigetelt erdei refugiumként szolgált, ami egyetlen haplotípus (H4) jelenlétét eredményezte ebben a régióban (Kaminská et al. 2005, Lucena-Perez et al. 2020). A Kárpátok nyugati peremén végzett legújabb vizsgálatok a beltenyésztettség megemelkedett szintjét mutatták ki, és a populáció strukturálódására utalnak (Krojerová-Prokešová et al. 2019, Kubala et al. 2020). Schmidt et al. (2011) összesítették az addig rendelkezésre álló európai hiúz állomány genetikai vizsgálatainak eredményeit. A mitokondriális és mikroszatellit vizsgálatok azt mutatták, hogy az eurázsiai hiúz genetikai diverzitása Európában közepes vagy alacsony. A variabilitás északon a legalacsonyabb (Skandinávia), de a Kárpát-medencében is alacsony. Továbbá a genetikai diverzitás csökkenését figyelték meg a fragmentált és visszatelepített populációkban is. Ezen kívül megállapították, hogy a populációk nagymértékben különböznek egymástól.

3.5.3. Vadmacska

A vadmacska genetikai diverzitásával foglalkozó tanulmányok túlnyomó többsége mikroszatellit lókuszokat használ, azonban módszertant tekintve előfordulnak mitokondriális és SNP alapú vizsgálatok is. Hertwig et al. (2009) Németországban a populáció szerkezetét és az evolúciós kapcsolatokat vizsgálta a mitokondriális kontroll régiót és 11 mikroszatellit lókuszt használva. A mikroszatellit adatok alapján a németországi vadmacska állomány két különálló populációra tagolódik, melyek a nyugati és a keleti elterjedési területnek felelnek meg. A mitokondriális haplotípusok nagyfokú genetikai változatosságot mutattak, különösen a keleti populáción belül. Eckert et al. (2010) szintén Németországban a vadmacska és házi macska populációkon belüli és azok közötti genetikai diverzitást becsülte meg. Ehhez a mitokondriális kontroll régió hipervariábilis (HV1) régióját, allozimeket és 8 mikroszatellit lókuszt használtak. Megállapították, hogy a genetikai variabilitás mind a két csoportban magas volt, de a házi macska populáció variabilitása valamivel magasabb. A házi macska populációk között nem volt észlelhető semmilyen differenciálódás (a mikroszatellitek esetében mért $F_{st} = 3\%$), ezzel szemben a vadmacska populációk között a differenciálódás már észlelhető volt ($F_{st} = 9,55\%$). A vadmacska és a házi macska mitokondriális haplotípusai elkülönültek egymástól, ami nagyon alacsony anyai génáramlásra enged következtetni a két faj között. Mattucci et al. (2013) vizsgálatában feltételezték, hogy az európai vadmacska Olaszországban elterjedt populációi két különböző, déli Appenninekben és a Keleti-Alpok peremén található refúgium területeken differenciálódtak és onnan terjedtek később el. A hipotézis vizsgálatához 35 mikroszatellit lókuszt használtak olaszországi vadmacska mintákon, ezen kívül hibrid és szardíniai vadmacska kontroll mintákat is felhasználtak. A klaszterező és a földrajzi adatokat is számításba vevő genetikai vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy az olaszországi vadmacska állomány három jól elkülöníthető klaszterbe sorolható, amelyek megfelelnek a mintavételi helyeknek is. Ennek értelmében az Olaszországban előforduló három vadmacska populáció a Kelet-Alpokban, az Appennini-félszigeten, illetve Szicília szigetén található. Továbbá, az Appennini-félszigeten lévő populáció további két alpopulációra volt bontható. Say et al. (2012) a vadmacska franciaországi ismert előfordulási helyéről gyűjtött mintát, vizsgálatának elsődleges célja az vadmacska genetikai integritásának megvédése volt. Munkájuk során fenotípusos és genetikai elemzéseket is alkalmaztak. A gyűjtött mintákat O'Brien et al. (2009) által használt mikroszatellit lókuszokkal és 6 újabb lókusz bevonásával vizsgálták. Eredményeik alapján megállapították, hogy a vadmacska Franciaországban területi terjeszkedést mutat, az állomány pedig két, egymástól jól elkülöníthető és egymással nem összefüggő területre – a Pireneusokra és Franciaország északkeleti részére –

oszlík. A magas genetikai diverzitás alapján arra következtetnek a kutatók, hogy a franciaországi populációkat nem fenyegeti a genetikai diverzitás csökkenése. Oliveira et al. (2008b) a populáció genetikai sokféleségét vizsgálta portugáliai mintákban. Vizsgálatukhoz 12 autoszómás mikroszatellit lókuszt használtak. A Bayes-féle megközelítéssel végzett populációszerkezeti elemzések két külön álló csoportot mutattak, melyek a vadon élő vadmacskák és a házi macskák csoportait jelentette, és az eredmények nem mutattak jelentős genetikai eltérést a Portugália északi, középső és déli részéről gyűjtött vadmacska minták között. Urzi et al. (2021) a Dinári-Alpok területén Szlovéniában és Horvátországban, illetve Szerbiában és Észak-Macedóniában vizsgálták az ott élő vadmacska populációk genetikai változatosságát és szerkezetét. Kérdéseik megválaszolásához mikroszatellit lókusztokat használtak. A vizsgált vadmacska minták két genetikai klaszterre oszlanak, ami nagymértékben megfelel a földrajzi felosztásnak. Ennek értelmében a két genetikai klaszter egy változatosabb északi csoportra (Szlovénia, Horvátország) és egy genetikailag erodált délkeleti csoportra (Szerbia, Észak-Macedónia) oszlik. Mattucci et al. (2016) az Európában ismert populációk genetikai diverzitását és struktúráját vizsgálta 31 mikroszatellit lókuszt felhasználásával. Eredményeik azt mutatták, hogy a vizsgált populációk földrajzilag strukturáltak, és viszonylag magas fokú genetikai diverzitást mutatnak. A modell alapú struktúra elemzések és a modell nélküli többváltozós klaszterező analízisek eredményei egyértelműen azt mutatják, hogy a vizsgált európai vadmacska populációk öt fő genetikai klaszterre tagolódnak, amelyek egyező földrajzi eloszlást mutatnak. Ezek alapján a következő genetikai csoportokat sikerült elkülöníteni: Portugália, Spanyolország; Svájc, Belgium, Luxemburg, Délnyugat-Németország; Közép-Németország; Lengyelország, Bulgária, Szlovénia, Északkelet-Alpok; Nyugat-Appenninek, Dél-Közép Appenninek, Szicília. Kelet-Európa (Lengyelország, Bulgária, Magyarország) és Skócia erősen keveredett és integrált, ezért nem sorolható egyértelműen egyik biogeográfiai régióhoz sem (Oliveira et al. 2018).

3.5.4. Hibridizáció

A hibridizáció egy olyan biológiai folyamat, amelyet két különböző, de egymáshoz szorosan kapcsolódó taxon keveredéseként határoznak meg populációk között, mely nagy mértékben befolyásolhatja a faj, vagy alfaj genetikai felépítését, hosszú távú túlélését és evolúcióját (Gompert & Buerkle 2016). Továbbá a hibridizáció az őshonos fajok fennmaradását fenyegető egyik legnagyobb globális fenyegetés (Allendorf et al. 2001) és a fajok tiszta genetikai vonalának kihalásával járhat. Az introgresszió szintén járhat genetikai kihalással, viszont ez egy genetikai kereszteződés, amely ugyanazon populáció fajai között jön létre kereszttirányú keresztezés során az egyik vagy mindkét szülőfaj között. Bizonyos esetekben a különböző őshonos vadon élő

populációk kapcsolatban állhatnak közeli rokonságban lévő háziállatokkal, melyek nagy részét többnyire antropogén módon táplálják (Stahl & Artois 1991, Hubbard et al. 1992). Míg a természetes hibridizáció számos pozitív evolúciós eredménnyel járhat (például genetikai fennmaradás, Brennan et al. 2014; fajképződés vagy speciáció, Lavrenchenko & Bulatova 2016), addig az antropogén okokra visszavezethető hibridizációt széles körben a faj fennmaradását fenyegető potenciális veszélyként tekintik. Az antropogén hibridizáció az emberi hatás és beavatkozás által - akár szándékosan, akár véletlenül - elősegített hibridizáció, amely gyakran az egyébként különböző populációk közötti korlátok áttörését eredményezi, amelyek a genetikai keveredés és az evolúciós alkalmazkodás elvesztésének folyamatán mehetnek keresztül (Rhymer & Simberloff, 1996, Allendorf et al. 2001, Bohling 2016, van Wyk et al. 2017). Az antropogén okokra visszavezethető hibridizáció esetei jól dokumentáltak a kutyaféléknél és a macskaféléknél is.

Az amerikai kontinensen a szimfarkas (*Canis simensis*) kutyával (*Canis familiaris*) való hibridizációja, a vörös farkas (*Canis rufus*) prérifarkassal (coyote) (*Canis latrans*) való kereszteződése (McCarley 1962, Paradiso 1968, Adams et al. 2003), vagy a Nagy Tavak környéki farkasok (*Canis lupus lycaon*), melyek mind a szürke farkasokkal (*Canis lupus nubilus*), mind a prérifarkasokkal (*Canis latrans*) hibridizálódtak (Leonard & Wayne 2008), ez utóbbi keveredés eredménye az úgynevezett coywolf. Ennek a keveredésnek az eredménye egy olyan genetikailag és morfológiailag köztes bélyegeket mutató hibrid létrejött, mely a nyugati prérifarkas, a keleti farkas és a kutya bélyegeit hordozza. A farkashoz hasonlóan falkában vadászik, az emberekkel szemben a prérifarkasra jellemző félelem hiányt mutat és városi/külvárosi környezetben érzi jól magát. Ezen hatások együttes jelenléte az emberre is veszélyt jelenthet (Rutherford 2018). Ausztráliában a dingó (*Canis dingo*) kutyával való keveredését mutatták ki morfológiai és genetikai módszerekkel (Elledge et al. 2008, Jones 2009, Parr et al. 2016). Az aransakál kutyával történő keveredését először Galov et al. (2016) írták le horvátországi egyedek alapján. Az aransakál szürke farkassal való keveredése ugyan még nem bizonyított, azonban potenciálisan számos európai farkas populációt veszélyeztethet az aransakállal történő hibridizáció (Freedman et al. 2014, Moura et al. 2014). Ezzel a hipotézissel ellentétben Krofel et al. (2017) megállapították, hogy azokon az aransakál élőhelyeken, melyeket a szürke farkasok visszatelepülésükkel újra benépesítenek, az aransakálok kiszorulnak, vagy a terület periferiájára szorulnak. Európában a szürke farkas kutyával való keveredésére az ezredforduló környékén végzett mitokondriális DNS vizsgálatok eredményeiből lehetett következtetni, melyet olaszországi mintákban azonosítottak (Randi et al. 2000). Azóta az olaszországi populációban jelen lévő hibridizációt több más genetikai marker segítségével is kimutatták (például Randi & Lucchini 2002, Verardi et al. 2006, Iacolina et al. 2010, Caniglia et al. 2013a, Lorenzini et al. 2014, Randi et al. 2014, Galaverni et al. 2017,

Salvatori et al. 2019). Olaszországon kívül Európa több más populációjában is azonosítottak kutyával keveredett egyedeket, így például az Ibériai-félszigeten (Godinho et al. 2011, Pacheco et al. 2017), a Baltikum vidékén (Andersone et al. 2002, Hindrikson et al. 2012), a Balkán-félszigeten (Moura et al. 2014) vagy a Skandináv-félszigeten (Vilà et al. 2003b). Az ázsiai farkaspopulációkról lényegesen kevesebb adat áll a kutatók rendelkezésére, de a Kaukázus-hegységben (Kopaliani et al. 2014, Pilot et al. 2014b), Iránban (Aghbolaghi et al. 2014, Khosravi et al. 2013, 2015), illetve Oroszország területén is (Korablev et al. 2021) sikerült kimutatni a farkas és a kutya genetikai keveredését.

Le Roux et al. (2015) az afrikai vadmacska (*Felis silvestris lybica*) genetikai tisztaságát és a hibridizáció lehetőségét vizsgálták Dél-Afrikában élőhelyi adatok felhasználásával. A kutatás eredménye alapján a vizsgált minták genetikai tisztasága viszonylag magas volt, viszont a hibridizációs esetek száma összefüggött a lakott területektől való távolsággal. A Qinghai-Tibet-fennsíki endemikus kínai hegyi macska (*Felis silvestris bieti*) taxonómiai státusza sokak által vitatott, továbbá kérdéses, hogy hozzájárult-e a macska domesztikációjához Kelet-Ázsiában. Ezeket a kérdéseket vizsgálták Yu et al. (2021) múzeumi és jelenkori mintákból vizsgálva. Az elemzések a kínai hegyi macskát a vadmacska fajhoz sorolták, továbbá azt találták, hogy ez nem vett részt Kínában a macska domesztikációjában, így alátámasztva az afrikai vadmacskából (*Felis silvestris lybica*) egyetlen eddig ismert domesztikációs eredetet Yu et al. (2021). Európa vadmacska populációiban több, hibridizációra irányuló vizsgálatot is találunk az elmúlt évtizedekben. Ezek a vizsgálatok többségében mikroszatellit lókuszokat, illetve SNP-eket használnak. Hertwig et al (2009) Németországban a vizsgált minták 18,4%-ban talált valamilyen fokú hibridizációt, mely az ország nyugati részében vizsgált minták között volt jelen nagyobb számban. Ezeket az eredményeket Eckert et al. (2010) is megerősítik. Steyer et al. (2018) már elsősorban a hibridizáció mértékét vizsgálta Németország és Luxemburg területéről származó mintákban, ahol alacsony hibridizációt mutattak ki. A vadmacska minták 3,5%-a minősült F1, F2 hibridnek vagy bármely szülői taxon visszakeresztesedésének. Ők megemlítik tanulmányukban azt is, hogy az SNP-ken alapuló eredményeik konzisztensebbek voltak, mint a mikroszatelliteken alapulók, mivel nagyobb pontosságot mutattak a hibridek és azok osztályainak kimutatására, melyeket szimulációs tesztekkel is alá tudtak támasztani. A szimulációk során modell alapú Bayes-féle módszer esetében két típust használnak a kutatók: i) a STRUCTURE-t (Pritchard et al. 2000), amely megbecsüli egy egyed genotípusának a potenciálisan hibridizáló taxonok mindegyikéből származó arányát, és ii) a NewHybrids (Anderson & Thompson 2002), amely megbecsüli annak a valószínűségét, hogy egy egyed egy adott hibrid (vagy szülői) osztályba tartozik-e. Azonban mind a két Bayes-féle elemzéssel az a fő probléma, hogy a „prior”-ok feltételezett eloszlásának érvényességét statisztikailag nem lehet értékelni (Gelman et al. 1995). Ennek fényében

szimulációs megközelítést kell végezni minden egyes adatsornál, hogy esetről-esetre értékelni lehessen az egyedek eredetének szülői, vagy hibridként való helyes azonosításához szükséges statisztikai erőt. A szimuláció alkalmazásának egyik előfeltétele egy olyan program, mely mesterséges szülői vagy hibrid genotípusokat hoz létre. Erre a célra hozta létre Nielsen et al. (2006) a Hybridlab nevű programot. Portugáliában és Spanyolországban Oliveira et al. (2008a, 2008b) végeztek hibridizációra irányuló vizsgálatokat és mutatták ki azt sikeresen mind a két ország területén. Ezen kívül ők is vizsgálták, hogy az általuk használt geneikai markerek – melyek mikroszatellitiek voltak – milyen mértékben alkalmasak a hibridizáció kimutatására. Ehhez mesterségesen generált hibrid genotípusokat használtak. A kapott eredmények azt mutatták, hogy a mikroszatellitiek képesek voltak az első generációs (F1) hibridek kimutatására, a második generációs (F2) hibridek 91%-os kimutatására és a visszakereszteződések 85%-os azonosítására. Franciaországban többek között O'Brien et al. (2009) és Say et al. (2012) mutatták ki a természetben talált fenotípusosan vadmacska mintákban a hibridizációt. Beugin et al. (2020) pedig már elsősorban az élőhely típusában keresték a különbséget a hibridizációban és annak mértékében. Ők az ország két különböző részén, egy nagy kiterjedésű erdőterületen a Pireneusokban és egy tagolt, elaprózódott erdő- és mezőgazdasági területekkel tagolt élőhelyen vizsgálták elsősorban a házi macskával való hibridizációt. A két vizsgálati terület közül a hibridizáció erős bizonyítékát találták az ország északkeleti részén, a Pireneusokban jóval alacsonyabb hibridizációs szintet mértek, amit a terület természetes erdei élőhelyének folytonosságával magyaráztak. Urzi et al. (2021) a Dinári-Alpok területén vizsgálta az ott élő vadmacskák házi macskákkal való hibridizálódásának arányát. A vizsgált mintákban a vadmacskák és a házi macskák közötti hibridizációs arány 13% (Szlovénia) és 52% (Szerbia) között változott az egyes régiókban. A magyarországi állomány genetikai diverzitásával és hibridizációra irányuló vizsgálatával két tanulmány foglalkozik. Pierpaoli et al. (2003) mikroszatellit lókuszon alapuló vizsgálatában kilenc európai országból származó fenotípusos bélyegek alapján vadmacska és házi macska minták genetikai diverzitását mérte fel. A keveredésre irányuló elemzések hibrid egyedeket azonosítottak a vadmacska minták között Portugáliából, Olaszországból, Bulgáriából és Magyarországról származó minták esetében is. A Magyarországról származó minták változó fenotípusok és genotípusok együttesét foglalták magukban, amely a kutatók szerint hosszú távú hibridizáció és introgresszió eredménye lehet, amit már Skóciában is dokumentáltak. Lecis et al. (2006) európai vadmacskák és házi macskák genetikai keveredését vizsgálták részben olaszországi és magyarországi mintákban, amihez 27 mikroszatellit lókuszt használtak, beleértve 21 kapcsolt lókuszt is, amelyek öt különböző macskaféle kapcsoltsági csoportot térképeznek fel. Eredményeik alapján a vadmacskák és a házi macskák két külön álló klaszterre bonthatók, ez összhangban van az előzetes morfológiai azonosításokkal. Az egyes

genotípusok hibridizációjára irányuló vizsgálatában az egyedek 8%-ban volt kimutatható a hibridizáció. A kapcsolt lókuszok használatával azonban ez az érték magasabb volt. A kapcsoltsági elemzések megerősítik, hogy a hibridizáció korlátozottan ugyan, de jelen van az olaszországi és magyarországi vadmacska populációban.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Mintavétel és DNS izolálás

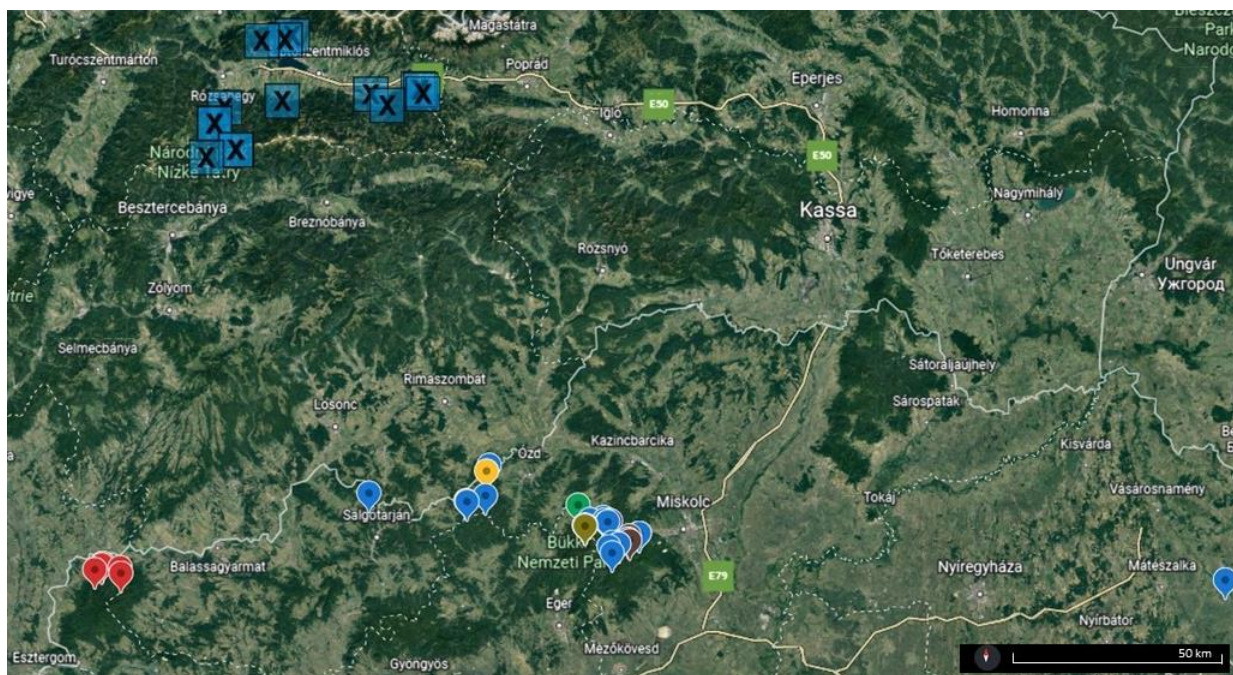
A disszertációban megfogalmazott genetikai analízisre szánt minták gyűjtési, tárolási, szállítási és vizsgálati módszertanának kidolgozása az egykori Szent István Egyetem VadVilág Megőrzési Intézet (jelenleg Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Vadgazdálkodási és Természetvédelmi Intézet) „Fenntartható természetvédelem magyarországi Natura 2000 területeken” (Svájci – Magyar Együttműködési Program) SH/4/8. azonosító számú projekt keretén belül, az egyetem megbízásából valósult meg az egykori NAIK MBK-ban (jelenleg Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézet) (NAIK/2571-1/2016.46/258). A protokoll kibővítése a Bükki Nemzeti Park Igazgatóság és a NAIK MBK (jelenleg Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézet) együttműködésében (BNPI: 8-34/1/2017; NAIK/2404-1/2017) valósult meg.

4.1.1. Szürke farkas minták

Szürke farkas esetében a nemzetközi szakirodalomban használt STR markerek és azok multiplex körülmények közötti használatának optimalizálását kutya vér és szövetszövetmintákon, illetve zárttérben tartott szürke farkas ürülék és száj nyálkahártya kenet mintákon végeztem el. A mintákat felhasználásig -20°C -on tároltam.

A természetből származó feltételezett szürke farkas minták a Bükki Nemzeti Park Igazgatóság működési területéről, a Duna-Ipoly Nemzeti Park Igazgatóság működési területéről, illetve a Hortobágyi Nemzeti Park Igazgatóság működési területéről származtak. Ezeket alkalomszerűen az év teljes időszakában, illetve téli hónapokban szervezeten transzektek, illetve ismert szürke farkas előfordulási útvonalak mentén gyűjtötték többségében a Nemzeti Park Igazgatóságok szakemberei 2016-2020 évek között. Ez idő alatt összesen 86 darab minta került begyűjtésre, melyek típusa ürülék ($n=62$), vizelet ($n=13$), szőr ($n=9$) és izomszövet ($n=2$) voltak. Szlovákiából az Alacsony-Tátra, Nyugati-Tátra és a Nagy-Fátra területéről a Slovak Wildlife Society éves nagyragadozó monitoringja során 2018-2019 években összesen 29 darab ürülék mintát kaptam, továbbá 2 darab elpusztult állat koponyájából vett csont mintát is lehetőségem volt felhasználni erről a területről. A teljes genotípussal azonosított és az eredmények fejezetben felhasznált terepen gyűjtött minták térképi jelölései a 4. ábrán láthatók. Zárt térben tartott szürke farkas ürülék ($n=14$) és száj nyálkahártya kenet ($n=6$) mintákat az Európa Vadvilágának Megmentéséért Alapítvány állataitól gyűjtöttem be. Továbbá összesen 39 darab különböző kutyafajtától származó vér ($n=18$),

izomszövet (n=16) és szájpadról vett kenetet (n=5) használtam fel a vizsgálatok elvégzéséhez. Az ürülék mintákat a terepi szakemberek légmentesen zárható műanyag tasakokba gyűjtötték, szállításig lehetőség szerint -20°C-on tárolták. Frissnek tűnő ürülék minta esetében mintavételi pálca (SWAB) segítségével az ürülék felszínéről kenetet vettek, a mintavételi pálca végét pedig 2 ml-es abszolút alkoholt tartalmazó centrifugacsőben tárolták. A vizelet minták 50 ml-es centrifugacsőbe kerültek gyűjtésre, ezeket a szakemberek a téli, hóban történő nyomkövetés során gyűjtötték össze. A mintákat szállításig lehetőség szerint -20°C-on tárolták. A szőrmintát légmentesen zárható műanyag tasakba kerültek begyűjtésre és szállításig lehetőség szerint -20 °C-on voltak tárolva. Izomszövet mintát az elpusztult állatoktól gyűjtöttek a szakemberek, amit 2 ml-es abszolút alkoholt tartalmazó centrifugacsőben tároltak. Szájpadról vett kenet szintén mintavételi pálca (SWAB) segítségével került gyűjtésre, ami 2 ml-es abszolút alkoholt tartalmazó centrifugacsőben került tárolásra. A vérmintákat 9 ml-es vérvételi csőben gyűjtötték, mely falát EDTA (etilén-diamin-tetraecetsav) borítja. A mintákat felhasználásig -20°C-on tároltuk.



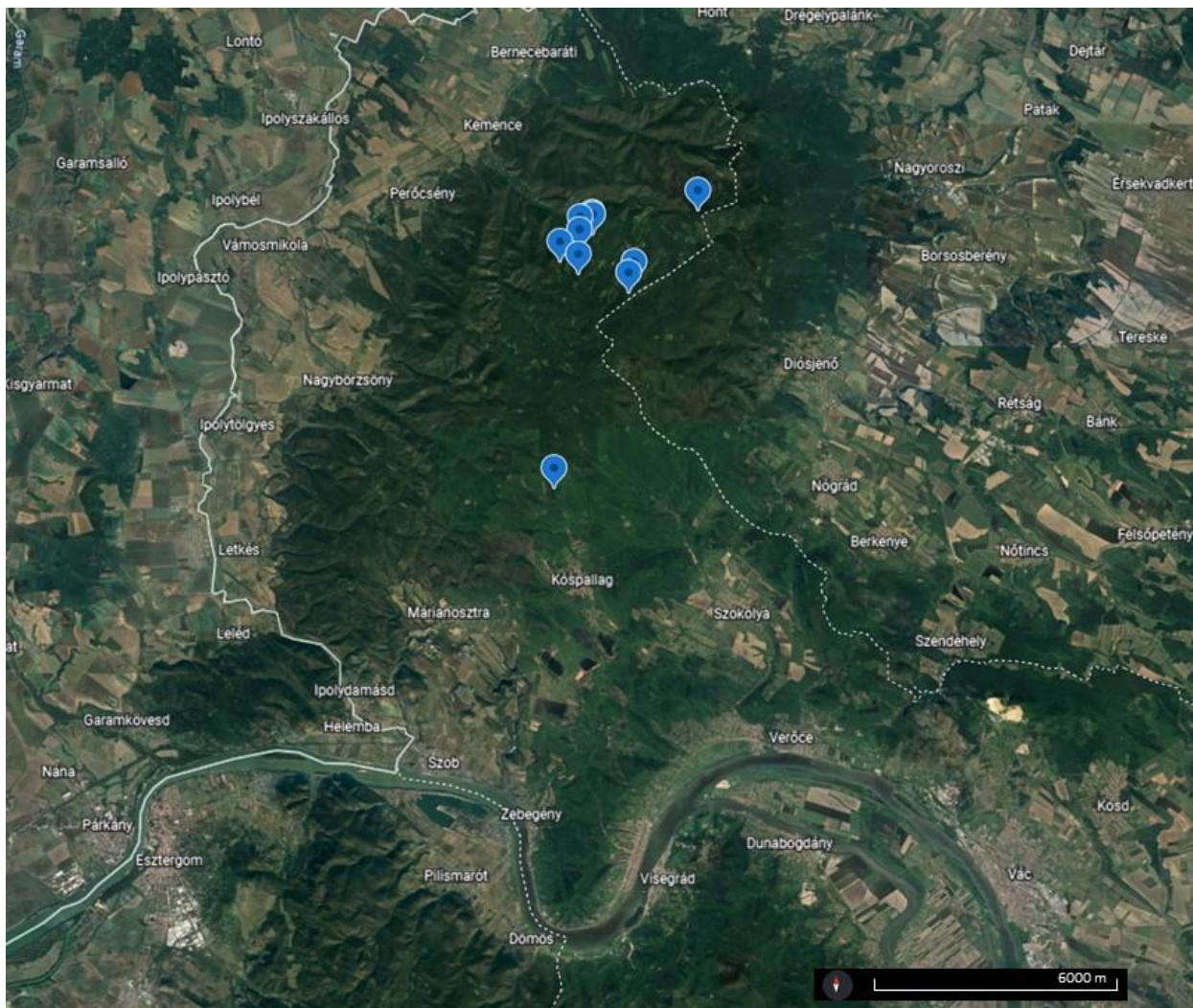
4. ábra. A teljes genotípussal rendelkező természetben gyűjtött szürke farkas minták mintavételi pontjai. A magyarországi minták között a kék színnel jelölt minták egyszeresen azonosított egyedeket jelölnek, az ettől eltérő színnel jelölt minták színenként egy-egy egyed „visszafogásait” jelölik. A Szlovákiából származó minták kék négyzetben lévő fekete X jelölést kaptak.

4.1.2. Eurázsiai hiúz minták

A macskafélék esetében nemzetközi szakirodalmakban használt STR markerek és azok multiplex körülmények közötti használatának optimalizálását hiúz fajon a Magyar

Természettudományi Múzeum gyűjteményéből Romániából származó szövetmintán (n=1), Szlovákiából származó csont (fog) mintákon (n=2) és a Budakeszi Vadasparkból származó ürülék mintán (n=1) végeztem el. A szövetmintát abszolút etanolt tartalmazó eppendorf csőben tároltam, a csont (fog) darabokat pedig 50 ml-es centrifugacsőben. A mintákat felhasználásig -20°C -on tároltam.

A terepen gyűjtött feltételezett hiúz minták a Duna-Ipoly Nemzeti Park Igazgatóság (továbbiakban DINPI) területéről származtak (n=10), a minták begyűjtésének ideje 2009-2021 évek között történt (5. ábra). A mintákat a DINPI és a Börzsöny Alapítvány munkatársai gyűjtötték, többnyire a téli hóban történő nyomkövetés során. A feldolgozott terepi gyűjtésű minták típusa ürülék (n=9) és szőr (n=1) volt. Az ürülék mintákat a terepi szakemberek légmentesen zárható műanyag tasakokba gyűjtötték, szállításig -20°C -on tárolták. A minták laboratóriumba történő szállítása jéggakumulátorral ellátott hungarocell dobozokban történt azok fagypont körüli hőmérsékleten való tartása érdekében. A mintákat laboratóriumban -20°C -on tároltuk. A szőrmintát légmentesen zárható műanyag tasakba gyűjtötték, -20°C -on tárolták, a laboratóriumba érkezést követően szintén ezen a hőmérsékleten tároltam a felhasználásig.



5. ábra. A természetből származó feltételezeten eurázsiai hiúz minták gyűjtésének pontjai.

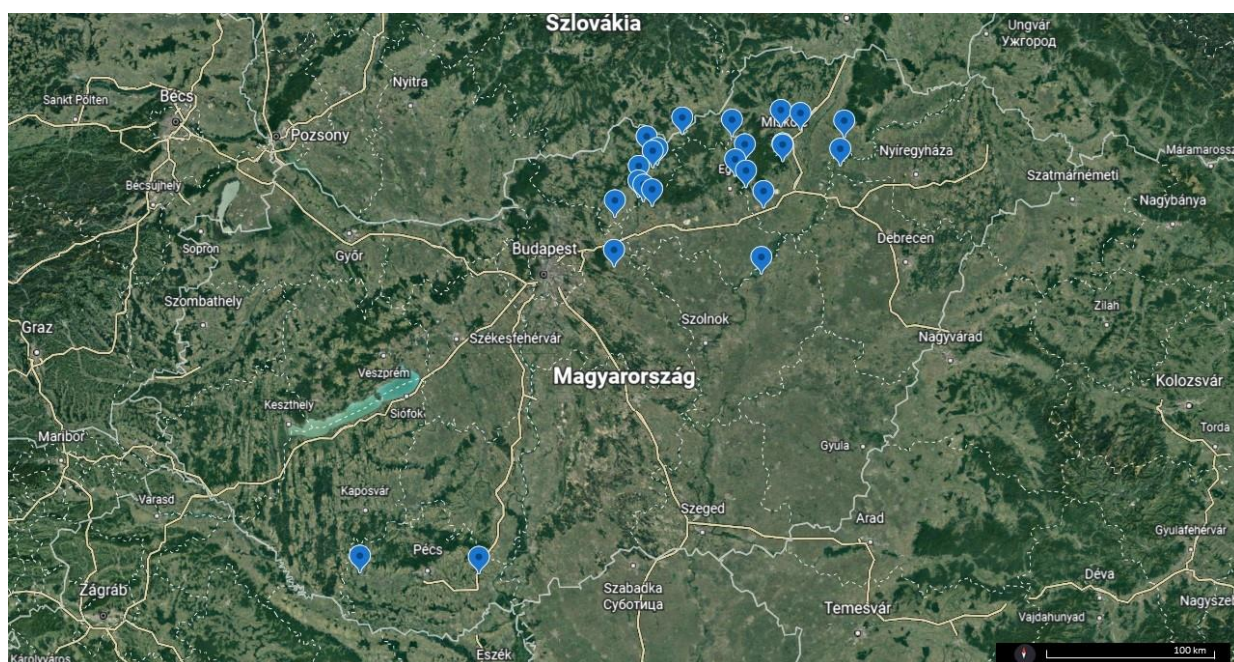
Forrás: Google Earth.

4.1.3. Vadmacska minták

A macskafélék esetében nemzetközi szakirodalmakban használt STR markerek és azok multiplex körülmények közötti használatának optimalizálását vadmacska fajon a Miskolci Állatkertből vér (n=2) és izomszövet (n=1) mintán, házi macska fajon pedig állatorvosi rendelőből származó vérmintán (n=8) és az Állatorvostudományi Egyetem Üllői tangazdaságából származó szövetmintán (n=9) végeztem el. A szövetmintát abszolút etanolt tartalmazó eppendorf csőben tároltam, a vérmintát 9 ml-es vérvételi csőben, mely falát EDTA (etilén-diamin-tetraecetsav) borítja. A mintákat felhasználásig -20°C-on tároltam.

A terepen gyűjtött feltételezett vadmacska minták az ország északi (n=25) és déli (n=2) területeiről származnak (6. ábra), a minták begyűjtésének ideje 2013-2020 évek között történt. A mintákat Nemzeti Park Igazgatóságok szakemberei gyűjtötték. A feldolgozott terepen gyűjtött minták típusa szövet (n=19) és vér (n=8) volt. A minták laboratóriumba történő szállítása jégakkumulátorral

ellátott hungarocell dobozokban történt azok fagypont körüli hőmérsékleten való tartása érdekében. A mintákat laboratóriumban $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltam azok felhasználásáig.



6. ábra. A természetből származó feltételezeten vadmacska minták gyűjtésének pontjai. Forrás: Google Earth.

4.2. DNS izolálás különböző minta típusokból

A mintákat a laboratóriumba érkezést követően biobank azonosítóval láttam el, ehhez az azonosítóhoz pedig rögzítettem a mintavételi lapon szereplő adatokat, melyek a következők voltak: i) minta gyűjtésének helye (lehetőség szerint GPS WGE vagy EOY koordinátával), ii) minta gyűjtésének ideje, iii) mintagyűjtő személy neve és elérhetősége, iv) minta típusa.

Teljes genomi DNS izolálása ürülék mintából MagCore Genomic DNA Tissue Kit (RBC Bioscience Corp., Tajvan) használatánál a gyártó utasításait követtem a következő kezdeti lépések alkalmazásával. A fagyott ürülék felszínéről szike (Feather Safety Razor Co., Japán) segítségével több helyről kaparékot vettem (maximum 300 mg) egy 1,5 ml-es eppendorf csőbe. A mintához 700 μl GT puffert adtam, majd $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra beállított Thermomixerben 1200-as fordulatszámon (rpm) 20 percen keresztül homogenizáltam. Ezt követően a mintát 9910-es fordulatszámon (rpm) 1 percre centrifugáltam. E lépést követően az izolálást a MagCore Genomic DNA Tissue Kit for SWAB Sample (RBC Bioscience Corp., Tajvan) protokolljával folytattam a gyártó utasítása szerint.

Abban az esetben, ha a friss ürülék felszínéről mintavételi pálcával (SWAB) kenet készült a DNS izolálás a következő lépésekkel történt. A 2 ml-es abszolút alkoholt tartalmazó centrifugacsőben lévő mintavételi pálcáról az alkoholt Speed vacuum segítségével 60 percen keresztül

elpárologtattam. E lépést követően az izolálást a MagCore Genomic DNA Tissue Kit for Solid Animal Tissue Sample (RBC Bioscience Corp., Tajvan) protokolljával folytattam a gyártó utasítása szerint. A DNS izolálást követően, mivel ez a DNS izoláló Kit nem tartalmazott inhibitor eltávolítási lépést, azt OneStep Inhibitor Removal Kit (Zymo Research, USA) segítségével pótoltam.

Az ürülék izolálására használt másik módszer a Qiagen Stool Mini Kit (QIAGEN GmbH, Németország) protokolljával történt, amit a gyártó utasításai alapján végeztem el.

Teljes genomi DNS izolálás vizelet mintából a Valiere & Taberlet (2000) által leírt protokoll alapján történt.

Szörminta esetében, ha több, fedőszőrt tartalmazó minta állt a rendelkezésemre a Qiagen Investigator Kit (QIAGEN GmbH, Németország) segítségével izoláltam genomi DNS-t a tüszőkből a gyártó utasításai szerint. Abban az esetben, ha kis mennyiségű pehelyszőr állt a rendelkezésemre a Thermo Scientific Phire Animal Tissue Direct PCR Kit (Thermo Fisher Scientific Baltics UAB, Litvánia) Dilution protokollját használva izoláltam genomiális DNS-t a gyártó utasításai szerint.

Teljes genomi DNS izolálás csontszövet (fog) mintából Qiagen Investigator DNA Kit (QIAGEN GmbH, Németország) segítségével történt a gyártó utasításait követve, a következő kezdeti lépések alkalmazásával. Egy üres, sterilizált mozsárba, illetve egy 50 ml-es nyitott tetejű centrifugacsőbe folyékony nitrogént öntöttem, annak érdekében, hogy lehűtsem azokat. Ezt követően, a lehűlt mozsárba belehelyeztem a fogat, majd folyékony nitrogént öntöttem rá és a mozsár törő részével homogenizáltam azt. Ezt követően a homogenizált folyékony nitrogénben lévő csont törmelékét átöntöttem a lehűtött centrifugacsőbe és hagytam, hogy a folyékony nitrogén elpárologjon róla. Ezt követően a centrifugacső aljában lévő csont törmelékből 50-60 mg mennyiséget egy műanyag vagy fém spatulával átvittem egy 2 ml-es eppendorf csőbe. Ezután a lépés után folytattam a genomiális DNS izolálását a gyártó utasítása alapján.

Teljes genomi DNS izolálás vérmintából a MagCore Genomic DNA Whole Blood Kit (RBC Bioscience Corp., Tajvan) segítségével történt a gyártó utasításait követve.

Teljes genomi DNS izolálás izomszövet mintából Genomic DNA Mini Kit (Geneaid Biotech, Tajvan) és MagCore Genomic DNA Tissue Kit (RBC Bioscience Corp., Tajvan) segítségével történt a gyártók utasításait követve.

4.3. Populációgenetikai vizsgálatok STR markerekkel

4.3.1. Szürke farkas

A kutyafélék faj és egyedazonosítására 14 darab tetranukleotid ismétlődésű jelölt primer párt használtam. Ezeket külföldi szakirodalmakból válogattam ki. A használt primerek a következők voltak: c2001, c2054, FH2538, PEZ3, PEZ8, PEZ19 (Vilà et al. 2003b), FH2004, FH2010, FH2088, FH2107, FH2309, FH3313, FH3377, PEZ02 (Dayton et al. 2009). Az ivarhatározást az amelogenin gén segítségével végeztem el (Yan et al. 2013). A kiválasztott primer párokat és az ivarhatározáshoz használt primer párt multiplex körülmények között optimalizáltam, más kutatásokhoz használt di- és trinukleotid ismétlődésű primer párokkal együtt kutya, aranysakál és szürke farkas mintákon. Így összesen 4 multiplexet hoztam létre (Canis Plex I.; Canis Plex II.; Canis Plex III.; Canis Plex IV.). Az optimalizált multiplexek 25 µl végtérfigatban lettek összemérve, 60-240 ng templát DNS mintát, 2 x QIAGEN Multiplex PCR Master Mixet (QIAGEN, Németország) és optimalizált mennyiségű primert (10 µM) tartalmaztak, a végtérfigatot desztillált vízzel kiegészítve. Az amplifikáció Bioer LifeEco TC-96 (Hangzhou Bioer Technology Co. Ltd., Kína) készülékben ment végbe, egy kezdeti 15 perces lépéssel 95 °C-on, amit 40 ismétlődés követett az alábbi lépésekből: 30 másodperc 95 °C, 30 másodperc 58 °C, 60 másodperc 72 °C, majd egy végső extenzióval 30 perc 60 °C. A reakciók sikerességét, agaróz-gélelektroforézis segítségével értékeltem 1,5%-os agaróz gélben, GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific, USA) segítségével. A markerek vizsgálatához fluoreszcensen jelölt primereket használtam. A PCR termékek detektálása az allélméretek 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 GenAlEx 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. A lókuszonkénti és populációnkénti allélfrekvenciát, az allélszámot, az effektív allélok (N_E) és a megfigyelt és torzítatlan várt heterozigotitás értékeit (H_O , H_E) a GenAlEx 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. Az elemzés az admixture modell használatával, korreláló allélgyakoriságok beállítás mellett futott 250.000 ismétléses burn-in periódus után 750.000 ismétléssel egytől hétig terjedő K értékig, minden értékre 10 független futással. 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 is StructureSelector programmal (Li & Liu 2018) is megvizsgáltam 0,5 és 0,8 küszöbértékeket használva (Puechmaile 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. Az egyedi genotípusokat klasztereződésük szemléltetésére főkoordináta-analízissel (Principal Coordinate Analysis – PcoA) is megvizsgáltam a GenAlEx ver. 6.5 (Peakall & Smouse 2012) segítségével. A differenciálódás irányát az R 4.0.1. programban (R Core Team 2018) használt *diveRsity* 1.9.90. csomaggal (Keenan et al. 2013) detektáltam, és ezt az információt arra használtam, hogy a populációpárok közötti relatív migrációra következtessenek (Sundqvist et al. 2016). Ennek ábrázolásához az Nm-módszert (Alcala et al. 2014) használtam szintén az R 4.0.1. program (R Core Team 2018) *diveRsity* 1.9.90. programcsomagjával (Keenan et al. 2013). A szignifikáns relatív migráció meghatározásához *„bootstrapping”*-et alkalmaztam 1000-szeres ismétlődéssel (Keenan et al. 2013). A magyarországi terepi szürke farkasok közötti szülői és rokonsági kapcsolatok azonosításához és a családi csoportok (falkák) meghatározásához a Colony2 (Jones & Wang 2010) *„parentage assignment”* csomagot használtam. Ezt azonban először ismert rokoni kapcsolatban lévő kuvasz kutyafajta családon ellenőriztem. A családban a szülő kan, a szülő szuka és két kölyök szerepelt.

4.3.2. Macskafélék: Eurázsiai hiúz és vadmacska

A macskaféléken használt mikroszatellit primer párokat (n=21) a Menotti-Raymond & O’Brien (1995) és Menotti-Raymond et al. (1999, 2003) által házi macskában leírt primerek közül válogatott és más nemzetközi vizsgálatokban vadmacskákon, vadmacska – házi macska hibridizációra, illetve eurázsiai hiúzon használt publikációkból válogattuk ki (Randi et al. 2001, Hertwig et al. 2009, Mattucci et al. 2013, Rueness et al. 2014).

A macskaféle mintákon az ivarhatározást az amelogenin gén segítségével végeztem el (Pilgrim et al. 2005), melyet ismert ivarú házi macska mintákon optimalizáltam. Az optimalizált ivarhatározó PCR 25 µl végtérfogatban lett összemérve, 45 ng templát DNS mintát, 2 x QIAGEN Multiplex PCR Master Mixet (QIAGEN, Németország) és optimalizált mennyiségű primert (10 µM) tartalmaztak, a végtérfogatot desztillált vízzel kiegészítve. Az amplifikáció Bioer LifeEco TC-96 (Hangzhou Bioer Technology Co. Ltd., Kína) készülékben zajlott, egy kezdeti 15 perces lépéssel 95 °C-on, amit 35 lépés követett az alábbi lépésekből: 30 másodperc 94 °C, 30 másodperc 55 °C, 30 másodperc 72 °C, majd egy végső extenzióval 30 perc 72 °C. A reakciók sikerességét, illetve azt, hogy adott mintának mi az ivara, agaróz-gélelektroforézis segítségével értékeltem 2%-os agaróz gélben, GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific, USA) segítségével.

A nemzetközi szakirodalmakból adaptált 18 pár dinukleotid és 3 pár tetranukleotid STR markert 3 multiplexben optimalizáltam, plexenként 7 markert használva. A plexek 25 µl végtérfogatban lettek összemérve, 45 ng templát DNS mintát, 2 x QIAGEN Multiplex PCR Master Mixet (QIAGEN, Németország) és optimalizált mennyiségű primert (10 µM) tartalmaztak, a végtérfogatot desztillált vízzel kiegészítve. Az amplifikáció Bioer LifeEco TC-96 (Hangzhou Bioer Technology Co. Ltd., Kína) készülékben zajlott, egy kezdeti 15 perces lépéssel 95 °C-on, amit 30 lépés követett az alábbi lépésekből: 30 másodperc 94 °C, 30 másodperc 58 °C, 60 másodperc 72 °C, majd egy végső extenzióval 30 perc 60 °C. A reakciók sikerességét, agaróz-gélelektroforézis segítségével értékeltem 1,5%-os agaróz gélben, GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific, USA) segítségével. A markerek vizsgálatához fluoreszcensen jelölt primereket használtam. A PCR termékek detektálása 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 GenAlEx 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. Az allélgyakoriságok, alléldiverzitások, valamint a heterozigotitás értékek számítását a GenAlEx (Peakall & Smouse 2012) segítségével határoztam meg az egyedi genotípusok alapján. Az allélgyakoriságok alapján Shannon-Weaver diverzitás indexet számoltam a genetikai sokszínűség meghatározására szintén a GenAlEx (Peakall & Smouse 2012) bővítmény segítségével. Az egyedi genotípusokat főkomponens analízissel (PCA) és klaszteranalízissel is értékeltem a különböző vizsgált macskaféle fajok (házi macska, vadmacska, eurázsiai hiúz) elkülönítése és az esetlegesen felmerülő hibridizáció (házi macska x vadmacska) vizsgálata céljából. A főkomponens analízishez

(PCA) a PAST programot (Hammer et al. 2001) használtam, számítása a variancia-kovariancia mátrixból történt Jaccard index alapján. A klaszteranalízist a STRUCTURE program algoritmusával (Pritchard et al. 2000) végeztem el. Az analízishez az admixture modellt használtam, korreláló allélgyakoriságok beállítás mellett 250 000 ismétléses *burn-in* periódus után 750 000 ismétléssel egytől hatig terjedő K értékig, minden értékre 10 független futással. 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 tekintettem 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 nélkül), melyek a STRUCTURE analízis alapján $\geq 0,75$ hozzárendelési valószínűség mellett valamelyik szülői alfajhoz rendelhetők. A terepen gyűjtött vadmacska minták közül 26 egyedet azonosítottam, így ezeket és a 17 házi macska egyedét használtam fel a különböző osztályok létrehozásához. A következő kategóriákban összesen 240 egyedet 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. Ebben az esetben is az admixture modellt használtam, korreláló allélgyakoriságok beállítás mellett 250 000 ismétléses *burn-in* periódus után 750 000 ismétléssel, viszont csak egytől kettőig terjedő K értékig, minden értékre 10 független futással.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Szürke farkas

5.1.1. Genetikai diverzitás

A magyarországi 86 darab terepen gyűjtött feltételezett szürke farkas minta közül a vizsgálatok során 35 db minta teljes genotípusát, 22 db minta részleges genotípusát sikerült megállapítani. A vizsgálatok 29 db minta esetében sikertelenek voltak. 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. Ezen a minták esetében sikerült azok teljes genotípusát rögzíteni. A magyarországi terepi gyűjtésű minták esetében is csak a teljes genotípussal rendelkező mintákat használtam fel az elemzésekben, melyek mintavételi pontjait az 4. ábrán mutatom be.

Az egyedazonosítás során a terepen gyűjtött szlovákiai minták között 15 mintából 15 egyedet, a magyarországi 35 minta között 25 egyedet azonosítottam szürke farkasként. A magyarországi terepi gyűjtésű szürke farkas minták közül több egyedet több mintából is sikerült azonosítani, mintegy visszafogni: négy egyedet kétszeres visszafogással, egy egyedet háromszoros visszafogással, egyet pedig ötszörös visszafogással. A visszafogások során mért legnagyobb távolság légvonalban 8,5 km volt. A 25 egyed ivara 15 hím és 10 nőstény arányban oszlott meg. Ezek között a minták között a MICRO-CHECKER program genotipizálási hibákat nem észlelt (pontozási hiba, nagy allélkiesés, hamis allélok), null allélok viszont megfigyelhetők voltak a kutyák csoportjában három lókuszon (FH2309, FH3313, FH3377), a magyarországi terepen gyűjtött szürke farkas minták csoportjában három lókuszon (FH2107, FH2004, FH2010), a szlovákiai terepen gyűjtött szürke farkas minták csoportjában egy lókuszon (PEZ02) és a zárt térben tartott farkasok esetében egy lókuszon (FH3377). A további vizsgálatok elvégzésénél ezeket a lókuszeket is felhasználtam.

A terepi gyűjtésű minták esetében, illetve a kutyák csoportjában minden vizsgált lókuszt polimorf volt, a zárt térben tartott farkasok esetében egy lókuszt monomorf volt. A lókuszonkénti allélok száma a magyarországi terepi gyűjtésű szürke farkas minták esetében 3 (PEZ19) és 11 (FH2107, FH3313) között, a szlovákiai terepi gyűjtésű szürke farkas mintáknál 3 (PEZ19) és 12 (FH2107) között, a kutya minták esetében 3 (PEZ19) és 14 (FH3313) között, míg a zárt térben tartott farkasok csoportjában 1 (FH3313) és 6 (PEZ3) között változott. A vizsgált csoportokban a legalacsonyabb átlagos allélszám a zárt térben tartott farkasok esetében 3,57, a legmagasabb a kutyák csoportjában 7,43 volt. Ez az értéke a magyarországi szürke farkas mintáknál 6,29, míg a szlovákiai mintáknál 5,93 volt (10.2. melléklet, 1. táblázat).

Az átlagos megfigyelt heterozigotitás (H_O) a magyarországi terepi gyűjtésű minták esetében 0,60, a szlovákiai terepi gyűjtésű minták esetében 0,66 volt. Az átlagos várt heterozigotitás (H_E) ezekben a csoportokban 0,68 és 0,69 volt. A magyarországi terepi gyűjtésű szürke farkas minták csoportjában a Hardy-Weinberg egyensúlytól való szignifikáns eltérés figyelhető meg az FH2107 ($p < 0,05$), c2001, FH2088, FH2010, FH2004, FH2309, FH3313 ($p < 0,001$) lókuszokon. A szlovákiai terepi gyűjtésű minták csoportjában szignifikáns eltérés figyelhető meg a PEZ02 ($p < 0,05$), FH3377 ($p < 0,01$) és a PEZ3 ($p < 0,001$) lókuszokon. A PIC genetikai diverzitás mutató lókuszonkénti értéke a magyarországi terepi gyűjtésű minták csoportjában 0,46 és 0,87 között változott, a csoport átlaga pedig 0,63. A szlovákiai terepi gyűjtésű minták csoportjában a PIC 0,26 és 0,86 között változott, a csoport átlaga 0,65. A Shannon-Weaver index (I) értéke a magyarországi minták csoportjában 0,88 és 2,23 között változott, átlagosan 1,39 volt, míg a szlovákiai minták csoportjában 0,53 és 2,25 között változott, az érték átlagosan 1,43 volt (1. táblázat).

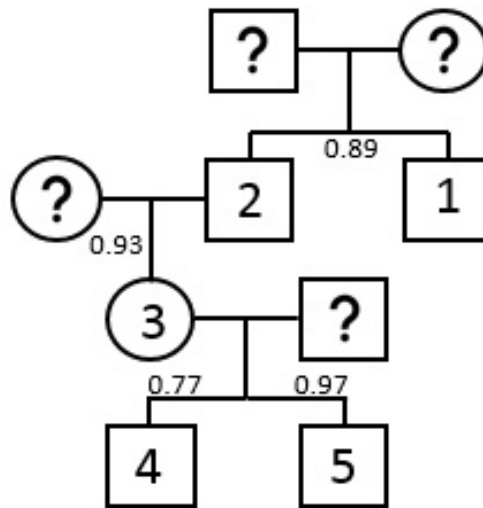
1. táblázat. Kutyaafélékre kidolgozott specifikus autoszómás mikroszatellitek (STR) diverzitás értékei a magyarországi és a szlovákiai terepen gyűjtött szürke farkas minták csoportjaiban.

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 heterozigotizáció értékek (H₀), várt heterozigotizáció értékek (H_E), Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés (HWE), Shannon-Weaver diverzitás index (I) értékek lokuszonként és összesítve. ns = nem szignifikáns; * = p<0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001.

5.1.2. A magyarországi farkas egyedek közötti rokonsági kapcsolatok

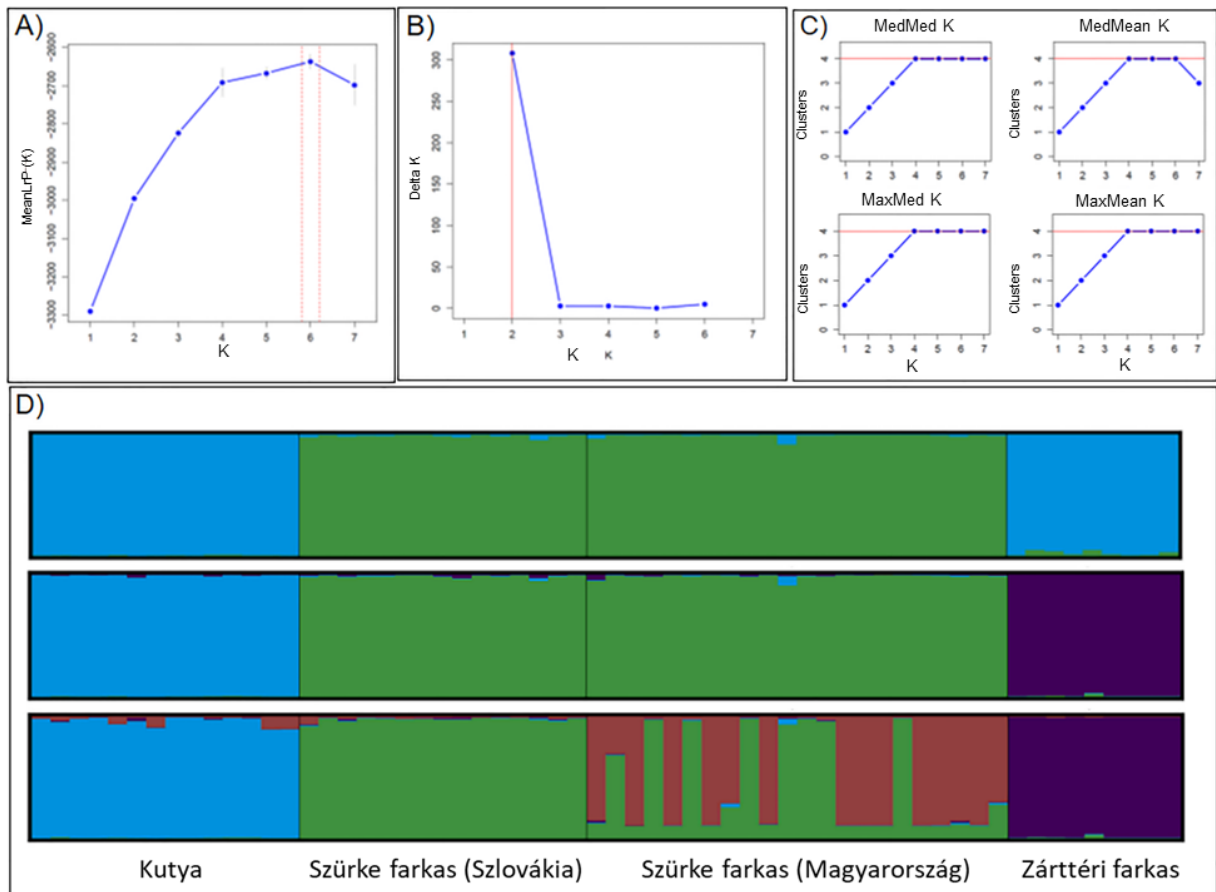
A Colony2 program több testvér és szülő-utód kapcsolatot is azonosított a magyarországi terepi szürke farkas egyedek között. A Bükk-hegységben a „Best Cluster” eredmények alapján egy falka három generációját sikerült azonosítani. A falka egyedeinek ivara négy hím és egy nőstény. A genetikai inkompatibilitások (rokonság szempontjából genetikailag össze nem egyeztethető) arra utaltak, hogy az 1-es és 2-es genotípussal jelölt hímek édestestvérek, míg a 2-es genotípusú hím a 3-as genotípusú nőstény apja. Ez a nőstény az anyja a 4. és 5. genotípussal jelölt két hímnek (7. ábra). A közeli rokonságban álló genotípusok bevonása által okozott torzítás csökkentése érdekében az elsőrendű rokonokat kizártuk a későbbi elemzésekből.



7. ábra. Természetben előforduló szürke farkasok rekonstruált törzsfája a Bükk-hegységben. A becsült rokonsági valószínűségek a kimutatott haplotípusok (számozva 1-5-ig) felett láthatók.

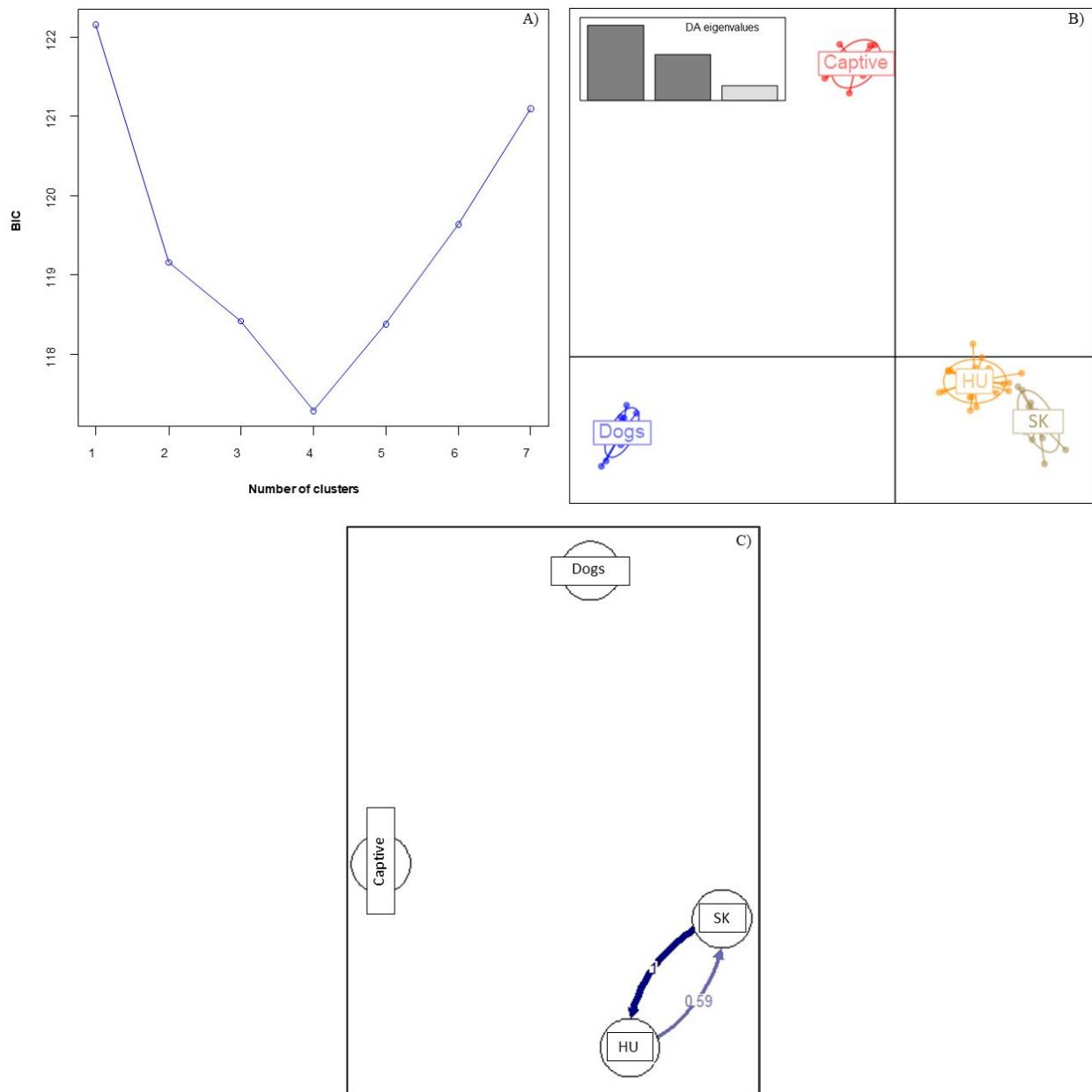
5.1.3. Genetikai struktúra

A STRUCTURE program hét előre feltételezett egység közül a legmagasabb átlagos valószínűség értéket („likelihood score”) hat genetikai egység ($K = 6$) esetében mutatta ki (8/A. ábra), míg a második legmagasabb átlagos valószínűségi érték a két genetikai egység ($K = 2$) esetében (8/B. ábra) volt detektálható. 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 (8/D. ábra). A Puechmaille becslés mind a négy küszöbértéknél négy genetikai egység jelenlétét jelezte ($K = 4$) (8/C. ábra). Ebben az esetben a kutyák (kék szín) és a zárt térben tartott farkasok (lila szín) két különálló csoportot alkottak, és jól elkülönültek a többi mintától. A szlovákiai szürke farkasok (zöld szín) egy másik csoportot alkottak néhány magyarországi mintával együtt, a többi magyarországi minta (barna szín) pedig a negyedik csoportot hozta létre (8/D. ábra). A genetikai egységek szétválásának jobb megértése érdekében a 8/D. ábrán a 3 egységre való besorolást is feltüntettem.



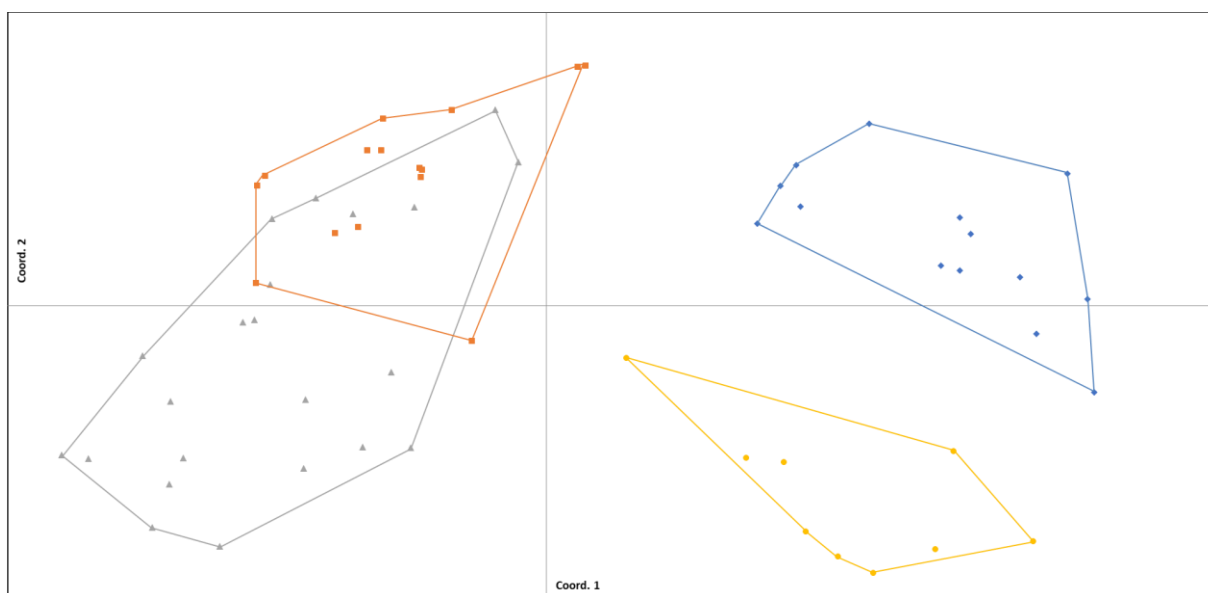
8. ábra. A kutyák, szlovákiai szürke farkasok, magyarországi szürke farkasok és zárt térben tartott farkasok Bayes-féle klaszterezési analízisének eredménye. A) Az átlagos valószínűségi érték a klaszterek számának minden egyes értékére ($\text{LnP}(K)$). B) A klaszterek mérete szerinti modellek valószínűsége az átlagos valószínűségi értékek másodrendű változása 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. 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. 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 szürke farkasok közötti vándorlás egyirányúnak tűnt: Szlovákiából Magyarország irányába (9. ábra).



9. ábra. Főkomponens diszkriminancia-analízis (DAPC) eredménye 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 szórásdiagram, 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. C) A differenciálódás irányának elemzése a diveRsimity csomag segítségével azt mutatja, hogy szignifikáns migráció csak a természetben előforduló szlovákiai (2. csoport; SK) és magyarországi (3. csoport; HU) sötét farkasok között jelentős.

A főkoordináta-analízis is az eddig kapott eredményeket erősítette meg, miszerint a kutya és zárt térben tartott farkas csoportok elkülönülnek egymástól és a terepen gyűjtött magyarországi és szlovákiai minták csoportjaitól, melyek viszont részben átfednek egymással (10. ábra).



10. ábra. A főkoordináta-analízis eredménye genetikai differenciálódást mutat a kutyák (kék rombusz), természetben előforduló szlovákiai (narancssárga négyzet) és magyarországi (szürke háromszög) szürke farkasok, valamint a zárt térben tartott farkasok (sárga kör) között.

5.2. Eurázsiai hiúz

A faji besorolás érdekében referencia hiúz mintákon ($n = 4$) a vadmacskán használt 21 autoszómás mikroszatellit lókuszt közül egy kivételével (FCA506) mindegyik adott kimutatható jelet a fragment-analízis során. A további 20 lókuszt közül három bizonyult monomorfnak (FCA023, FCA220, FCA045), illetve négy lókuszt dimorfnek (FCA223, FCA090, FCA559, FCA008). Ezeket a markereket a további eredmények ismertetéséhez már nem használtam fel. A terepen gyűjtött minták közül 8 ugyanazzal a genotípussal rendelkezett, egy minta esetében (2474) két lókuszon, egy másik minta esetében (2478) pedig egy lókuszon volt eltérés. A 2474-es mintán a PCR reakció többszöri megismétlésével sem sikerült allélhosszúságot kimutatni egy lókuszon (F115). Az utóbb említett két mintán tapasztalt eltérések a lókusztok homozigóta formájában nyilvánultak meg, amik lehetnek allélvesztések is, a terepen gyűjtött ürülék és vizelet minták degradáltságából adódóan (2. táblázat). Ennek figyelembevételével a természetből származó minták származhatnak egy egyedtől is. Az ivarhatározás alapján a minták minden esetben hím ivarú egyedtől származtak.

2. táblázat. Az eurázsiai hiúz terepen gyűjtött mintáinak lókuszonkénti allélhosszúsága.

Biobank azonosító	Lókus											
	FCA043		FCA097		FCA132		FCA096		FCA698		FCA149	
2471	120	120	136	138	169	175	218	220	229	243	126	128
2472	120	120	136	138	169	175	218	220	229	243	126	128
2473	120	120	136	138	169	175	218	220	229	243	126	128
2482	120	120	136	138	169	175	218	220	229	243	126	128
2483	120	120	136	138	169	175	218	220	229	243	126	128
2501	120	120	136	138	169	175	218	220	229	243	126	128
2503	120	120	136	138	169	175	218	220	229	243	126	128
5893	120	120	136	138	169	175	218	220	229	243	126	128
2474	120	120	136	138	169	175	218	220	229	243	126	128
2478	120	120	136	138	169	175	218	220	229	243	126	128

Biobank azonosító	Lókus													
	FCA310		FCA035		FCA126		FCA229		FCA391		FCA001		F115	
2471	119	123	134	144	121	133	162	162	227	239	180	190	225	237
2472	119	123	134	144	121	133	162	162	227	239	180	190	225	237
2473	119	123	134	144	121	133	162	162	227	239	180	190	225	237
2482	119	123	134	144	121	133	162	162	227	239	180	190	225	237
2483	119	123	134	144	121	133	162	162	227	239	180	190	225	237
2501	119	123	134	144	121	133	162	162	227	239	180	190	225	237
2503	119	123	134	144	121	133	162	162	227	239	180	190	225	237
5893	119	123	134	144	121	133	162	162	227	239	180	190	225	237
2474	119	123	134	144	121	133	162	162	227	227	190	190	n.a.	n.a.
2478	119	123	134	144	121	133	162	162	227	239	190	190	225	237

A lila színnel jelzett cellák a minták közötti allélhosszúság különbséget jelzik. Azok a cellák, ahol n.a. (nincs adat) szerepel, többszöri ismétléssel sem sikerült allélméretet meghatározni.

A vizsgálatokba így bevont 13 lókus allélszáma 3 és 6 között változott (10.3. melléklet), az átlagos lókuszonkénti allélszám 3,69.

5.3. Vadmacska

5.3.1. Genetikai diverzitás

A vizsgált minták között a MICRO-CHECKER program genotipizálási hibákat nem észlelt, nullallél viszont megfigyelhető volt a házi macska mintákban a FCA096 lókuszon, illetve a vadmacska mintákban az FCA035, FCA229 és az FCA391 lókuszon. Ezeket a lókusztokat a további vizsgálatokban nem használtam, így összesen 17 lókuszt alapozva végeztem a további analíziseket.

Ezekben az autoszómás markerekben viszonylag magas diverzitás volt tapasztalható, házi macskában az egy lókuszon található allélek száma 3 és 12 között változott, az átlagos allélszám a csoportban 7,94 volt, míg a vadmacskák csoportjában az egy lókuszon található allélek száma 3 és 13 közötti volt, az átlagos allélszám pedig 8,59 (10.4. melléklet). A házi macskák csoportjában a heterozigotitás értékek közepesek és magasak voltak, az FCA506 lókuszt esetében a megfigyelt heterozigotitás 1 volt. Az átlagos várt heterozigotitás (H_E) 0,74, az átlagos megfigyelt (H_O) heterozigotitás értéke pedig 0,73 volt. A vadmacskák csoportjában a heterozigotitás értékek lókuszonként nézve szintén közepesek és magasak voltak, az FCA310 lókuszt esetében a megfigyelt heterozigotitás 0,07 volt, ami nagyon alacsony érték. Az átlagos várt heterozigotitás (H_E) 0,73, az átlagos megfigyelt heterozigotitás (H_O) értéke pedig 0,76 volt. A házi macskák csoportjában a Hardy-Weinberg egyensúlytól való szignifikáns eltérés figyelhető meg az FCA043, FCA097, FCA132, FCA149, FCA045 és FCA506 lókusztokon ($p < 0,05$), a vadmacskák csoportjában pedig az FCA698, FCA149, FCA506 ($p < 0,05$), FCA220 ($p < 0,01$) és FCA001 ($p < 0,001$) lókusztokon. A Shannon-Weaver index értékei a házi macskák csoportjában 0,68 és 2,23 között változtak, a csoportra számolva az összes vizsgált lókuszt nézve átlagosan 1,67. Ugyan ezek az adatok a vadmacskák csoportjában 0,17 és 2,30 közöttiek voltak, a csoportra számolva az összes vizsgált lókuszt nézve átlagosan 1,65. A PIC genetikai diverzitás mutató lókuszonkénti értéke a házi macskák csoportjában 0,34 és 0,87 között változott, a csoport átlaga pedig 0,71. A vadmacskák csoportjában a PIC 0,06 és 0,88 között változott, a csoport átlaga 0,70 (3. táblázat).

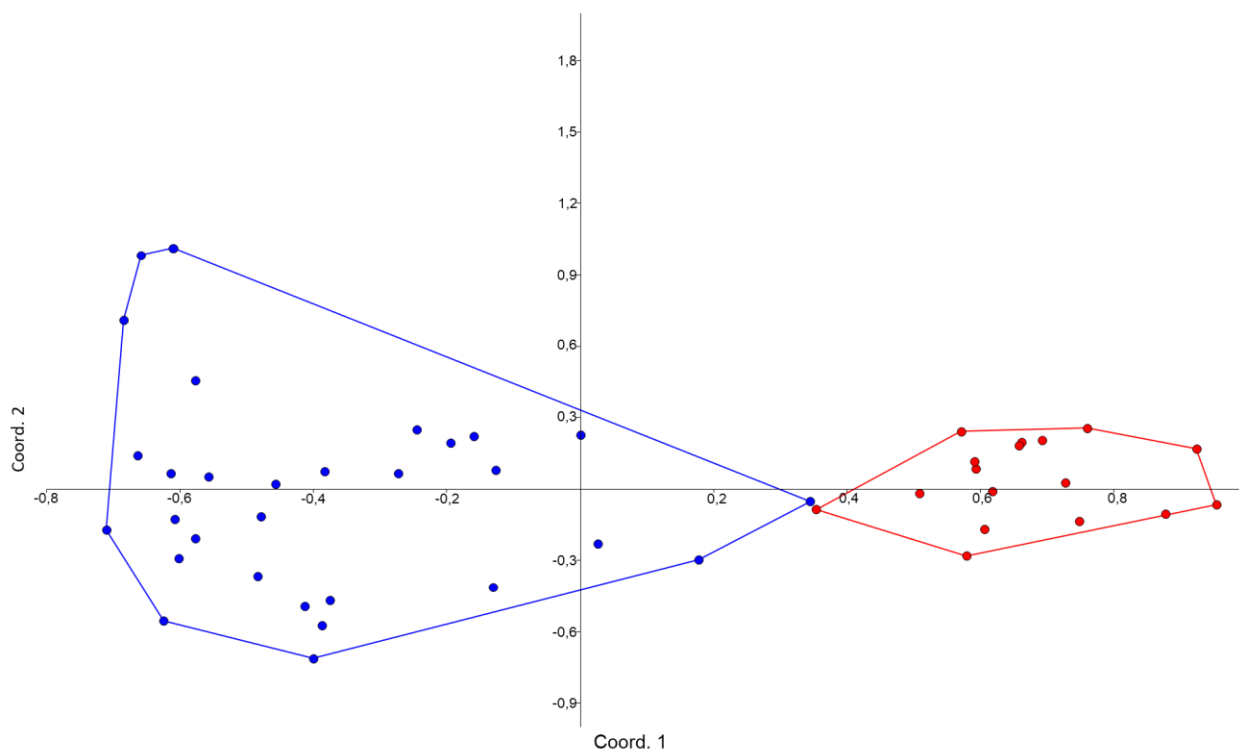
3. táblázat. Macskafélékre kidolgozott specifikus autoszómás mikroszatellitek (STR) diverzitás értékei a házi macska, illetve a vadmacska minták csoportjában.

Házi macska								Vadmacska						
STR	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), Polymorphism Information Content (PIC), Shannon-Weaver diverzitás index (I) értékek lókuszonként és összesítve. NS = nem szignifikáns; * = p<0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001.

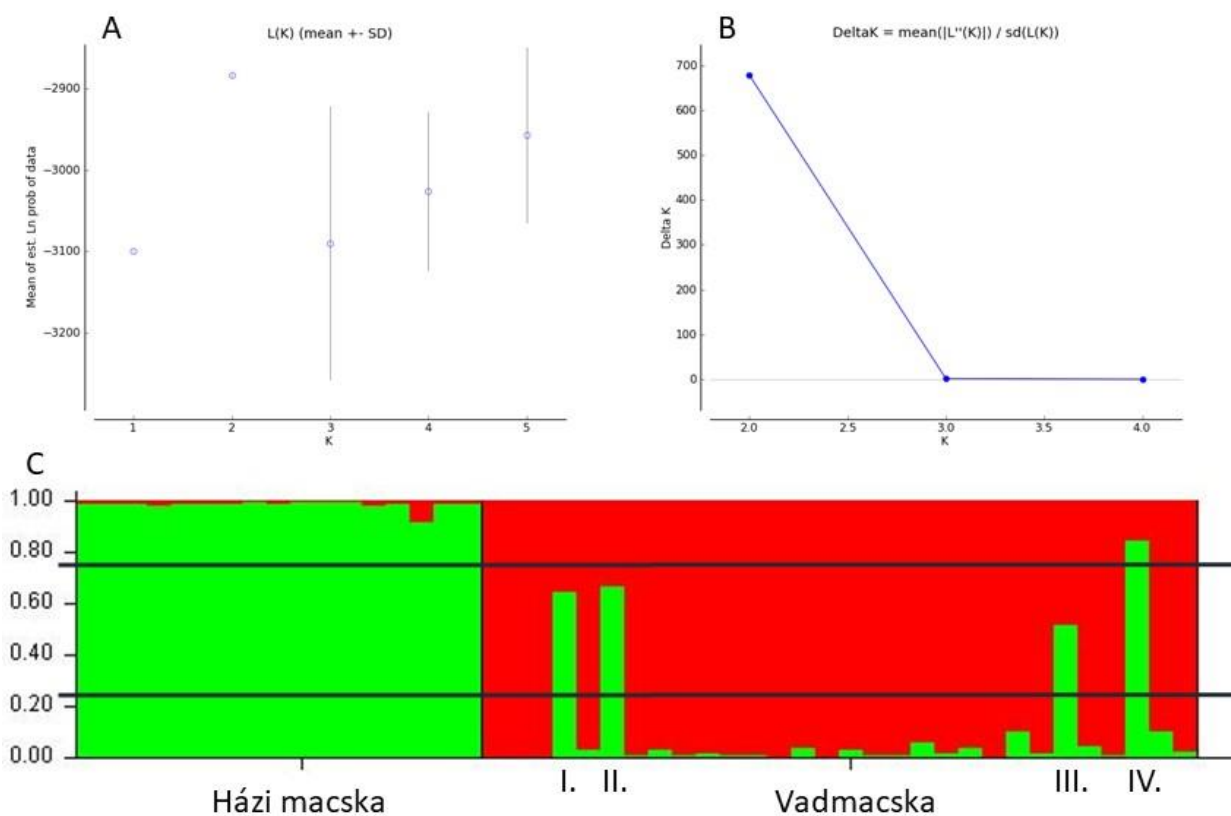
5.3.2. Genetikai struktúra és hibridizáció

A főkomponens-analízis ábráján (11. ábra) a házi macskák és vadmacskák csoportja elkülönül egymástól. Egyegy terepen gyűjtött, feltételezett vadmacska a koordináta rendszerben nagyon közel helyezkedik el egy házi macska egyedhez. Továbbá a terepi gyűjtésű vadmacska egyedek között található további egyedek, amelyek a koordináta rendszerben jobban elkülönülnek a többi feltételezett vadmacska egyedtől és a koordináta rendszerben közelebb helyezkednek el a házi macska egyedek csoportjához.



11. ábra. A házi macska és a feltételezett vadmacska minták főkomponens analízise autoszómás STR markerek alapján. Piros körök a házi macska egyedeket, kék körök a vadmacska egyedeket jelölik.

A Structure klaszterező program alapján a kettő macska csoportgenetikai egységekre való bontásnak ($K = 2$) van a legmagasabb átlagos valószínűség értéke („*likelihood score*”) (12. ábra). Ennek értelmében a házi macska minták csoportja (zöld szín) és a referencia és a terepen gyűjtött feltételezett vadmacskák csoportja (piros szín) elkülönülnek egymástól. A csoportokon belüli egyedi genotípusok vizsgálatánál azonban, a vadmacska klaszterben előfordulnak olyan feltételezett vadmacska egyedek, melyek kevesebb, mint 75%-ban ($q^{(i)} \leq 0,75$ hozzárendelési érték) tartoznak genetikailag a csoporthoz, viszont több mint 25%-ban ($q^{(i)} \geq 0,25$ hozzárendelési érték) hasonlítanak genetikailag a házi macska klaszterhez (4. táblázat). Ezeket a mintákat az elemzés alapján hibridnek tekintetem (12/C. ábra: I.; II.; III.). A vadmacska klaszterben található egy olyan terepen gyűjtött feltételezetten vadmacska egyed 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 (4. táblázat). Ez a természetes élőhelyéről származó egyed az elemzés alapján házi macska (12/C ábra: IV.).



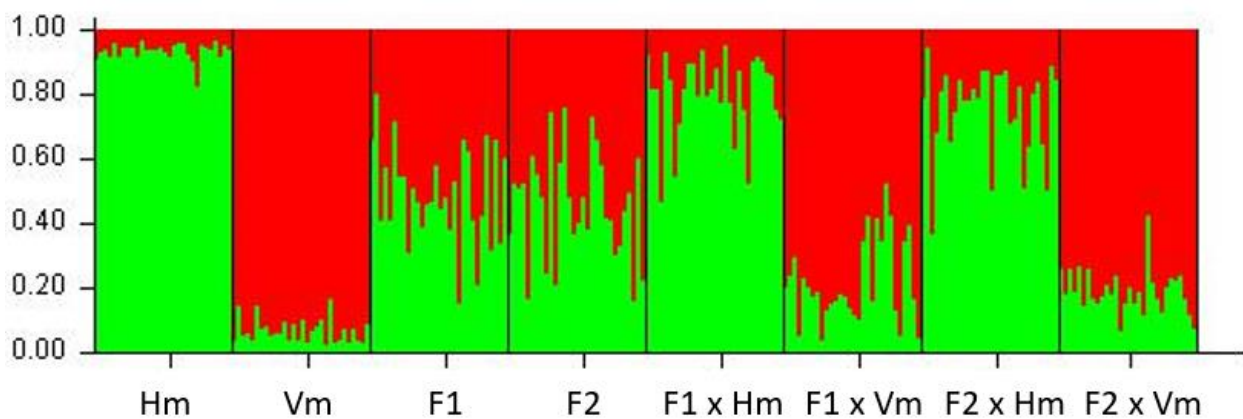
12. ábra. Az utoszómás STR markerek alapján számított log-valószínűség értékei (L) („A”) és azok változása (DeltaK) egymás utáni klasztereknél („B”) Structure analízis alapján. A legmagasabb DeltaK érték alapján a két klaszterre való bontás (K = 2) a legvalószínűbb, ennek eredménye látható a „C” ábrán, ahol a házi macska minták elkülönülnek a terepi besorolás alapján vadmacskának azonosított egyedektől, négy egyed kivételével. A klaszterező analízis alapján az I., II., III. egyedeket hibridnek azonosítottam, a IV. egyedeket házi macskának.

4. táblázat. A Structure analízis eredményéből származtatott $q^{(i)}$ értékek.

Egyed azonosítója	$q^{(i)}$ érték házi macska csoporthoz	$q^{(i)}$ érték vadmacska csoporthoz
	I.	0,64
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.

A Hybridlab program által generált mikroszatellit genotípusokat Structure analízis segítségével teszteltem (13. 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. Az F1 generáció szülői vonallal (házi macska és vadmacska) való visszakeresztelésének (backcross) csoportjaiban a minták 73,33 %-át (F1 X házi macska) és 70 %-át (F1 X vadmacska) sorolta valamelyik szülői csoporthoz a program. Ezek az értékek az F2 generáció szülői vonalakkal való visszakeresztelésében 63,33 % (F2 X házi macska) és 83,33 % (F2 X vadmacska) voltak (5. táblázat).



13. 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 klaszterrel ($K = 2$) bontásban. Hm – Házi macska; Vm – Vadmacska; F1 – elsőfokú hibridek; F2 – másodfokú hibridek.

5. 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.

5.4. Esettanulmány

A Készenléti Rendőrség Nemzeti Nyomozó Iroda lefoglalt egy, az interneten meghírdetett feltehetően vadmacska gereznából készült bundát. Mivel a vadmacska egy fokozottan védett emlős ragadozó faj, ezért az állat bármely részének felhasználása a 2012. évi C. törvény 242. § (1) bekezdés a.) pontja alapján fokozottan védett élő szervezet egyedére elkövetett természetkárosítás büntetnének minősül. A kirendelés alapját képező feladat a rendelkezésre bocsátott, feltehetően macskaféle gereznából készült bunda alapján annak megállapítása, hogy milyen állat gereznáját használták fel a bunda megvárrásához. A megválaszolendő konkrét kérdés, hogy milyen állat gereznájából készült az átadott bunda.

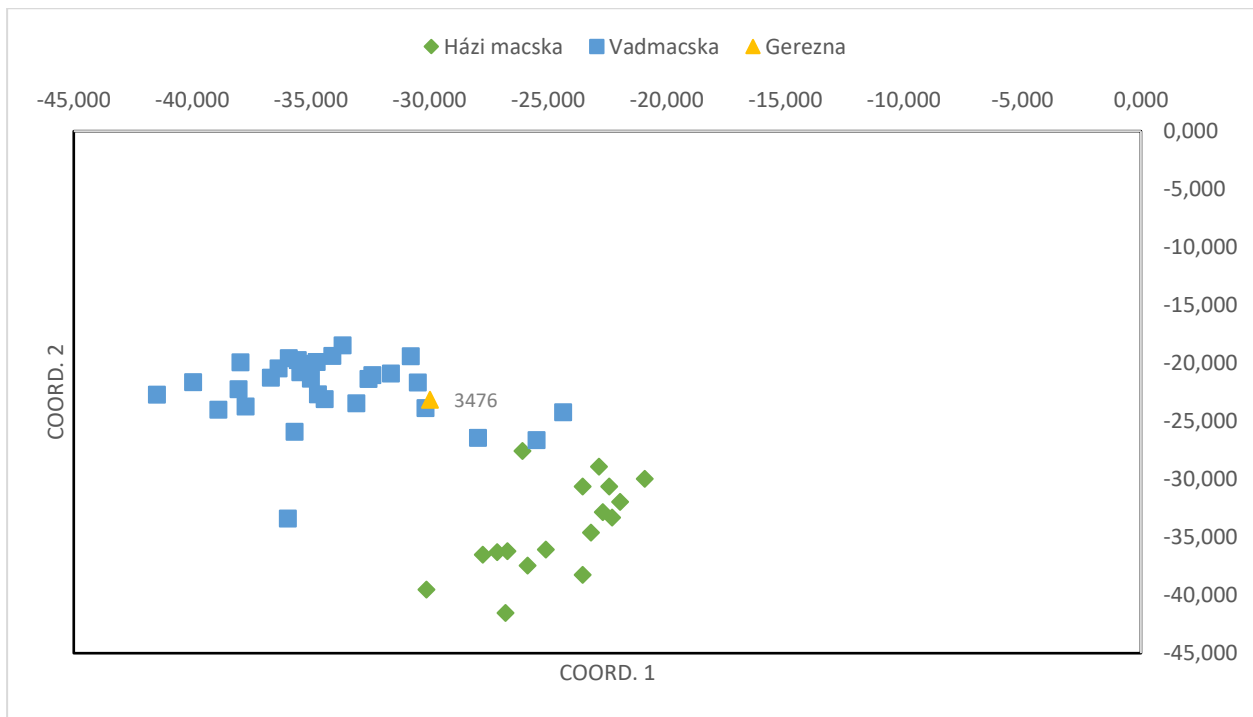
A genetikai vizsgálathoz szükséges mintavételezést egy morfológiai vizsgálat előzte meg, mely eredményeképpen a bunda morfológiai bélyegek alapján több feltehetően vadmacska gereznát is tartalmazott, ezért a mintavétel is több helyről történt. Mivel a Készenléti Rendőrség Nemzeti Nyomozó Iroda kérdése az volt, hogy a bunda tartalmazott-e fokozottan védett macskaféle gereznát, ezért a vizsgálatot egy mintából végeztük el. A genetikai vizsgálatokhoz szükséges DNS izolálása 190 mg gerezna mintából történt, a szőr eltávolítása után (egyszer használatos steril szike), QIAamp Investigator Kit (QIAGEN GmbH, Németország) segítségével. A bunda kikészítése során alkalmazott vegyszermaradványok és PCR inhibitorok eltávolítása OneStep PCR Inhibitor Removal Kittel (Zymo Research, USA) történt. Az izolált DNS minta minőségét

NanoDrop ND-100 spektrofotométerrel ellenőriztük. A minták genotipizálása a macskafélék esetében az anyag és módszertanban már ismertetett 21 pár autoszómás mikroszatellit (STR) markerek segítségével történt, QIAGEN Multiplex PCR Kit (QIAGEN GmbH, Németország) használatával, a szintén az anyag és módszertan fejezetben ismertetett PCR protokoll alkalmazásával. A fluoreszcensen jelölt primerekkel végzett multiplex PCR termékek méretének meghatározása kapilláris elektroforézissel történt ABI 3100 Genetic Analyzer készüléken; az elektroferogramok értékeléséhez Peak Scanner (Applied Biosystems, USA) programot használtuk.

A minta faji eredetének meghatározása GenAlEx excel bővítmény (Peakall & Smouse 2012) és Structure (Pritchard et al. 2000) programokkal is megtörtént. A gereznából izolált DNS minta genotípusát korábbi vizsgálataink során gyűjtött házi macska (n = 17) és referencia, illetve terepi gyűjtésű feltételezett vadmacska (n = 30) genotípusokkal vetettük össze.

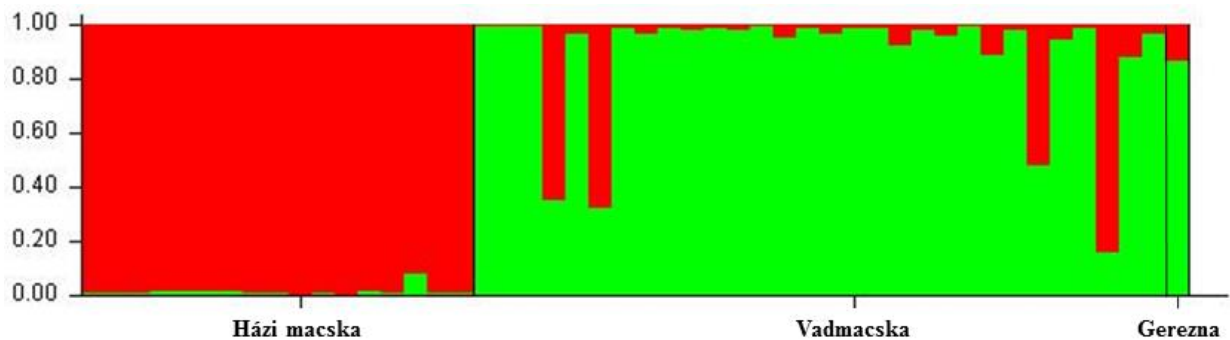
A gereznából izolált DNS minősége a PCR vizsgálathoz szükséges mennyiséget és minőséget (18 µl végtérfogat, 10 ng/ µl, 1,7 A_{260/280}) elérte. A mintában a vizsgált 21 autoszómás STR marker közül a már eredményekben ismertetett null alélt tartalmazókat nem felhasználva, összesen 17 markerrel végeztük el a vizsgálatot, ebből a gerezna mintában 13 marker esetében kaptunk értékelhető jelet. A gerezne minta genotípusának eredményét korábbi vizsgálataink során gyűjtött és felhasznált házi macska és vadmacska genotípusokból képzett adatbázissal hasonlítottuk össze. A gerezna minta a GenAlEx Excel bővítmény „*Population Assignment*” pontja a legnagyobb valószínűséget a vadmacska minták csoportjához való sorolásnak mutatta (10.5. melléklet).

A „*Population Assignment*” alapján, a referencia mintákat és a gerezna mintát is vizuálisan ábrázolva egy főkoordináta-analízisben (PCoA), az látható, hogy a gerezna minta (sárga háromszög) a kék négyzettel jelölt vadmacskák csoportjába tartozik a részlegesen felvett genotípus alapján (14. ábra).



14. ábra. A macska gereznából izolált DNS minta elhelyezkedése a főkoordináta-analízis koordináta-rendszerében a GenAlEx program alapján.

A Structure klaszterező analízis alapján is a gerezna minta részleges genotípus alapján a vadmacskák csoportjába tartozik (15. ábra). Ennek a program alapján számolt „Log Likelihood” valószínűsége 87% (6. táblázat).



15. ábra. A macska gereznából izolált DNS minta részleges genotípusának klaszter analízis Structure programmal, referencia házi macska és referencia és terepi gyűjtésű feltételezett vadmacska minták felhasználásával.

6. táblázat. A macska gereznából izolált DNS minta Structure klaszterező analízis alapján számolt „Log Likelihood” valószínűségi érték a házi macska és a vadmacska csoportokhoz viszonyítva.

Pop: Következtetett klaszter			
Minta azonosító	Hiba %	Klaszter 1 (házi macska)	Klaszter 2 (vadmacska)
3476	23	0,13	0,87

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

6.1. Szürke farkas

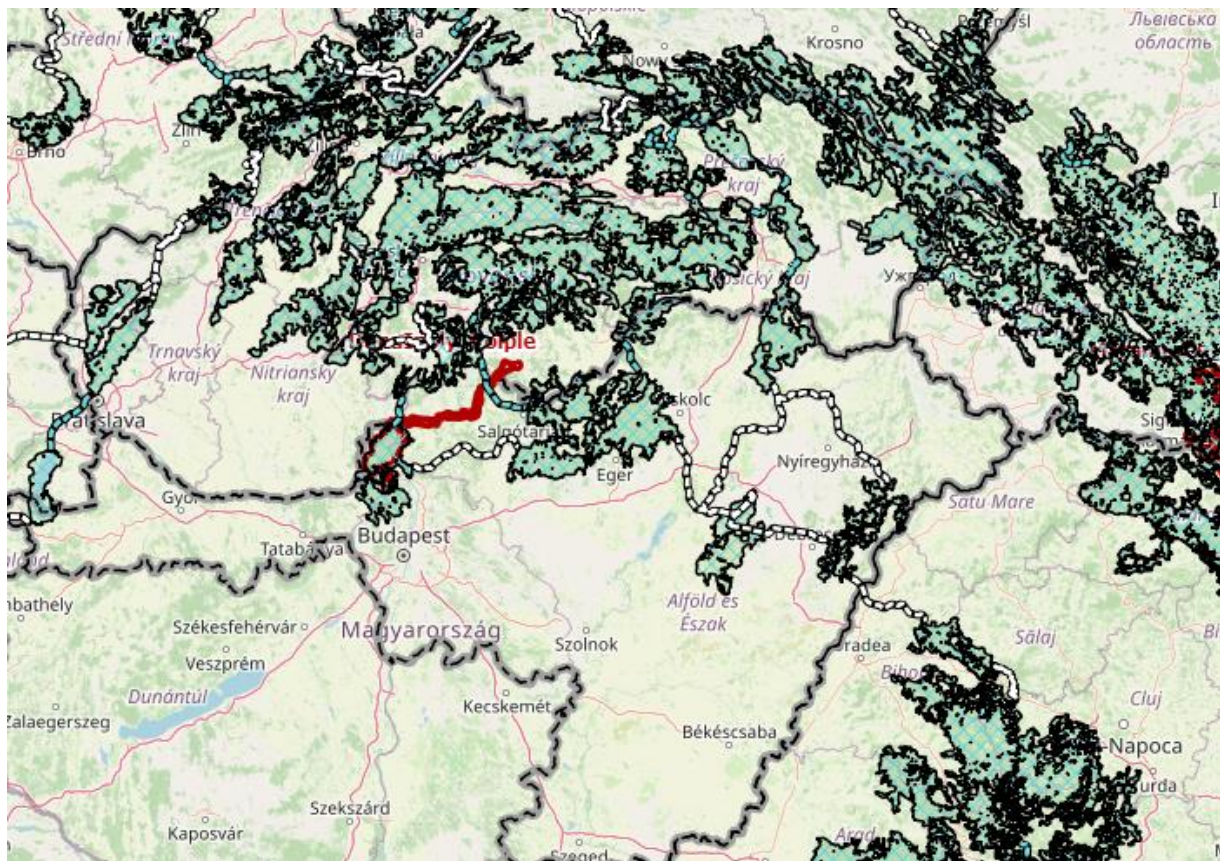
A vizsgálatokhoz használt mikroszatellit markerek kellően polimorfak voltak a magyarországi állomány genetikai diverzitásának felméréséhez, valamint a genetikai struktúra vizsgálatához.

A magyarországi, természetben élő szürke farkas állomány genetikai diverzitásának szintje mérsékelt volt ($H_o = 0,60$; $H_E = 0,69$). Hasonlóan mérsékelt 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) ($H_o=0,694$, $H_E=0,733$), és Szerbiában, beleértve a Kárpátok legdélebbi részét is, Dan 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 állományokban ($H_o=0,539$; $H_E=0,707$) szintén hasonló heterozigotitásról beszámoltak be ($H_o=0,526$; $H_E=0,637$). Ezek az eredmények általánosságban összhangban állnak az Európában máshol elvégzett farkas genetikai vizsgálatok diverzitásértékeivel (Hindrikson et al. 2017). Kivétel Olaszország, ahol a heterozigotitás értékek alacsonyabbnak találták ($H_o=0,57$; $uH_E=0,58$), tekintve, hogy 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 feltétlenül ez az egyetlen populáció, amely részt vett a faj magyarországi jelenlegi elterjedési területének benépesítésében. A faj terjedéséről szerzett eddigi tapasztalatai alapján távolabbi állományokból is érkezhettek egyedek, amelyek szaporodóként is beléphettek. Wabakken et al. (2007) például Skandináviában körülbelül 9 hónapig figyeltek egy jeladózott nőstény egyedre, aki ezidő alatt 1092 km-t tett meg, Ciucci et al. (2009) pedig az Appennin-hegységben figyeltek meg egy fiatal hím egyedre, amelyik körülbelül 10 hónap alatt tett meg több mint 1000 km-t. Az egyik legfrisebb észlelés pedig a Svájcban egészen Magyarorszáig eljutó egyed példája, aki közel egy év alatt majdnem 2000 km-t tett meg. Tekintve, hogy Magyarország déli, délnyugati részén is regisztráltak észleléseket az elmúlt évtizedekben (Szemethy & Heltai 1996), ezért szükség lenne az ország azon részéről származó adatok gyűjtése és a fellelhető minták genetikai alapú vizsgálata annak eldöntése érdekében, hogy azok kárpáti, dinári vagy esetleg egyéb állományokból származtak-e. A disszertációban bemutatott eredmények nem támasztják alá azt az elgondolást (Kovács 2018, Fluck 2020), hogy a szabadon élő farkasok jelenléte Észak-Magyarországon állatkertekből vagy más fogságban tartott létesítményekből történő szabadon engedés eredménye lett volna. Sokkal inkább egy természetes, egyre erősödő visszatelepülési folyamatra utalnak a szlovákiai forráspopulációkból. 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. Különösen, hogy a farkasok képesek nagy távolságokra szétszóródni (például Wabakken et al. 2007, Ciucci et al. 2009, Andersen et al. 2015, Bartoń et al. 2019), ezért az egyedek a szomszédos országokból, például Szlovákiából, Romániából vagy Szlovéniából, vagy például Csehországból, Lengyelországból vagy Ukrajnából az ökológiai akadályok és nem optimális élőhelyek ellenére is eljuthatnak Magyarországra. A szóródást elősegíthetik az alkalmas 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 (például Ražen et al. 2016, Hulva et al. 2018, Szewczyk et al. 2019). Így azok a magyarországi szürke farkasok, melyek a genetikai struktúrálódásra 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 szürke farkasok a legkisebb költségű útvonalakon keresztül (least-cost paths) is eljuthatnak Magyarország északi, erdőszűrt hegyvidéki területeire, ahonnan a disszertációban vizsgált minták legnagyobb része is származik (Börzsöny, Bükk, Mátra hegységek) (16. ábra). Az Alföld északi részéről is származik egy vizsgált minta a romániai határ közeléből, ahol a Bioregio Carpathians Európai Unió projekt keretében megvalósult kutatás alapján a szürke farkasnak szintén lehet magterülete. A legkisebb költségű útvonalmodell alapján az állat Szlovákiából az Északi-középhegységen keresztül vagy Romániából érkezhett ebbe a régióba (Köck et al. 2014). Az egyed eredetét alaposabban meg kellene vizsgálni, mivel a rövid távú mozgások és a Szlovákiából való szétszóródás lenne a legkézenfekvőbb, de a távolabbi romániai Kárpátok, Dinári vagy akár a Közép-európai Alföldről származó populációk is magyarázhatják jelenlétét (Fabri et al. 2014, Ražen et al. 2016, Hulva et al. 2018, Ericson et al. 2020). Disszertációmban azonban csak magyarországi és szlovákiai mintákat használtam, így egyelőre nem lehet biztosan meghatározni az egyed pontos eredetét.



16. ábra. A Kárpáti Biorégió potenciális szürke farkas magterületeit és azok közötti terjeszkedési útvonalakat ábrázoló térkép. A zöld rácsozott részek a magterületeket, a bézs színű összekötő vonalak a lehetséges terjeszkedés útjait jelölik. A térkép Bioregio Carpathians Európai Unió által finanszírozott pályázatában készült. (Forrás: Köck et al. 2014, <http://webgis.eurac.edu/bioregio/>)

A farkas hazai állománya a 19. században jelentősen lecsökkent (Demeter 1984), a 20. században szórványos megfigyelésekről számoltak be a szakirodalmak (Demeter 1984, Faragó 1989). Becsült magyarországi létszáma 2005-ben 3-6 egyed volt (Salvatori & Linnell 2005), a Bükki Nemzeti Park Igazgatóság felmérései alapján 2013-2018 között ez az egyedszám 40-60 közé tehető (http5). A disszertációban ismertetett genetikai módszerek segítségével sikerült meghatározni a szürke farkas minimális létszámát, mely 2016-2020 között a vizsgált területen 25 egyedet jelent. Többek között a genetikai módszerek is elősegíthetik az állományváltozás nyomon követését. Továbbá ezek a módszerek alkalmasak az ismeretlen fajtól származó minták azonosítására is, aminek nagy jelentősége van például a nagytestű emlős ragadozó fajok mezőgazdasági kártételeiben is. Ezekkel a genetikai módszerekkel sok esetben megállapítható, hogy milyen faj ejtette el a csülkös vadat, vagy a haszonállatot az elhullott tetemek harapási sebeiről vett nyálminta segítségével (például Sundqvist et al. 2008, Caniglia et al. 2013b, Harms et al. 2015).

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 beltelepülési fázisban van a farkasállomány felépülése és még mindig erősen függ a szlovákia forráspopulációkból való utánpótlástól. Mindazonáltal a magyarországi mintáinkban talált rokonsági kapcsolatok megerősítik legalább egy szaporodó falka jelenlétét a Bükk-hegységben, ami összhangban van a fiatal farkasokról készült kameracsapdás felvételekkel a területen (Gombkötő Péter, nem publikált adatok). Az Északi-középhegység más területén a 2000-es évek elején végzett vizsgálatban a szaporodást genetikai módszerekkel is igazolták (Hausknecht et al. 2010).

A nagytestű ragadozó emlősök különleges természetvédelmi kérdéseket vetnek fel, mivel egyik alapvető jellemzőjük a viszonylag alacsony populációsűrűség, nagy egyedi mozgáskörzet (Andersen et al. 2015, Bartoń et al. 2019) és még az ember által uralt területeken is előfordulhatnak. Több populáció is határokon átnyúlik, így a faj kezelése és megőrzése határokon átnyúló, populációs szintű védelmi és gazdálkodási tevékenységet és tervezést igényel (Linnell et al. 2008, Trouwborst 2010, Blanco & Cortés 2012). A rejtőzködő és ritka állatfajok megfigyelési és nyomkövetési módszereinek fejlődésével (például kameracsapdázás, GPS telemetria, genetikai módszerek) egyre több eszköz és ismeret (például Kays et al. 2015) áll rendelkezésre a terepi kutatáshoz a természetes szétszóródásról, és a nagy távolságokra történő elmozdulásokról, amelyek ezáltal a lezajló folyamatok jobb megértését eredményezik. A genetikai módszerek alkalmazásával számos további összefüggések tárhatók fel, például effektív populációméret, diverzitási indexek, genetikai strukturáltság), amelyek értékes segítséget nyújthatnak a gazdálkodási és természetvédelmi intézkedések kidolgozásához. A jövőbeni kutatási és természetvédelmi programok számára előnyös lenne a genetikai módszerek kiterjedtebb alkalmazása és optimalizálása a populáció alapvető paramétereinek megismerése és a metapopulációk közötti összehasonlítás lehetővé tétele érdekében (De Groot et al. 2016).

6.2. Eurázsiai hiúz

A faji besorolásra alkalmazott, északi és keleti Kárpátokból származó hiúz referencia minták és a borszönyi minták között egyaránt igen alacsony lókuszonkénti allélszám volt tapasztalható. Az eurázsiai hiúz genetikai vizsgálataival foglalkozó kutatások túlnyomó része a macska genom alapján fejlesztett mikroszatellit lókuszeket használja fel (Menotti-Raymond & O'Brien 1995, Menotti-Raymond et al. 1997, Menotti-Raymond et al. 1999). A Bull et al. (2016) által használt

12 lókuszt közül kettő, Mueller et al. (2020) által használt 19 lókuszt közül szintén kettő, Krojerová-Prokešová et al. (2019) vizsgálatában használt 15 lókuszt közül öt, Hellborg et al. (2002) által használt 11 lókuszt közül szintén öt, Schmidt et al. (2009) által használt 6 lókuszt közül egy azonos az általam használt lókuszzal. A macska genom alapján fejlesztett mikroszatellit lókuszon kívül az eurázsiai hiúz mikroszatellit alapú vizsgálatára az eredetileg kanadai hiúzra (*Lynx Canadensis*) és a szumátrai tigrisre (*Panthera tigris sumatrae*) fejlesztett lókuszt is használnak (Carmichael et al. 2000, Williamson et al. 2002).

Az európai populációk jelentős részében tapasztalható alacsony genetikai diverzitás egyik oka a mesterséges visszatelepítéseknel tapasztalható alacsony alapító egyedszám (Linnell et al. 2009). Krojerová-Prokešová et al. (2019) vizsgálatában megállapította, hogy a cseh-szlovák határvidék mentén vizsgált hiúzok között a szaporulat csaknem fele (többségében nőstények) a születés helyén, vagy annak közelében foglalt territóriumot. Ez a közel rokon egyedek szaporodását eredményezte, aminek következtében beltenyésztettség alakult ki a területen. Mueller et al. (2022) eredményei is egyezést mutatnak a már említett Krojerová-Prokešová et al. (2019) és Kubala et al. (2020) által közöltekkel, mely szerint a Kárpátokon belül megfigyelt alacsony heterozigotitás és magas beltenyésztettség van jelen, mely valószínűleg a közelmúltban végbement demográfiai folyamatok következménye. A Börzsöny hegységben több év alatt 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 hazai hím ivarú egyed alacsony lókuszonkénti allélszáma megegyezik azokkal a szakirodalmi eredményekkel, melyek a Kárpátokban élő hiúzok alacsony heterozigotitásáról számolnak be (Schmidt et al. 2011, Krojerová-Prokešová et al. 2019).

6.3. 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 (például 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 különböző állományok vizsgálata során a használt lókuszt és azok száma nem minden esetben egyezett, például Eckert et al. (2010) 8 primer párt, Steyer et al. (2013) 14 primer párt, Mattucci et al. (2016) pedig 31 primer párt használt a vizsgálatok során, a használt primerek között azonban voltak átfedések. Az általam használt 17 primer pár esetében a

legalacsonyabb allélszám 7 (FCA149, FCA310), míg a legmagasabb 17 (FCA506) volt a házi macskák és a vadmacskák csoportját nézve. Házi macska és vadmacska csoportokat vizsgálva Randi et al (2001) (9-18) és Lecis et al. (2006) (7-19) is hasonló allélszámokat találtak.

A hazai 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 vadmacska egyed 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 ($H_O = 0,72$; $H_E = 0,72$).

Az egyes macskaféle fajok elkülönítésére, illetve a házi macska-vadmacska hibridizáció vizsgálatához használt főkomponens analízis eredménye alapján megállapítható, hogy a vizsgálatokban használt lókusztok alkalmasak a két faj genetikai elkülönítésére.

A házi macska-vadmacska közötti hibridizációval kapcsolatos tanulmányok többségénél 7-13 lókuszt használtak a kutatók (Beaumont et al. 2001, Eckert et al. 2010, Hertwig et al. 2009, O'Brien et al. 2009, Oliveira et al. 2008a, b, Randi et al. 2001, Say et al. 2012), míg Driscoll et al. (2007) és Mattucci et al. (2013) 36, illetve 35 lókuszt használtak. A hibrid egyedek azonosítására az első generáción (F1) túl gyenge diszkriminációs képesség jellemző, amint például azt a mikroszatellitek 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. 2008a). A vadmacska hibridizációval foglalkozó számos tanulmány szimulált adatokat használ, hogy az adatok alapján kiszámítsa a szignifikáns küszöbértéket ($q^{(i)}$), ami számos szakirodalom alapján 0,95-nél magasabb értéket használ a szülőpopulációkat alkotó egyedek kiválasztásához (például Hertwig et al. 2009, Nussberger et al. 2013, Say et al. 2012). Azonban előfordulhat ennél alacsonyabb küszöbérték is, mint például Steyer et al. (2018) eredményeiben, ahol a $q^{(i)}$ hozzárendelési érték $< 0,75$ volt.. Az általam szimulált genotípusok alapján kapott eredmények azt mutatják, hogy az általam használt mikroszatellit lókusztok nagymértékben (90%-ban) alkalmasak a fajtiszta és a kevert egyedek elkülönítésére az első hibrid (F1) generációig. A mikroszatellitek 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 mikroszatellitek 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).

Az általam megvizsgált 27 darab terepen gyűjtött feltételezett vadmacska minta között a használt lókuszosok alapján egy házi macska egyedét és további három hibrid egyedét azonosítottam. Pierpaoli et al. (2003) részben Magyarországról gyűjtött házi macska és vadmacska mintákat vizsgált morfológiai, morfometriai és genetikai módszerek együttes alkalmazásával és azonosított kevert genotípusú egyedeket. Kutatási eredményük azt mutatta, hogy a magyarországi introgresszió gyakori a vadon élő macskák körében akár csak Skóciában. Ez köszönhető lehetett annak is, hogy a hazai vadmacska minták nem csak a kárpáti régióból, hanem az alföldi területekről is származtak, ahol a sűrűbben lakott területek miatt lehetett gyakoribb a hibridelőfordulás. Ezt a feltételezett okot megerősítették Beaumont et al. (2001) eredményei is. Lecis et al (2006) szintén vizsgálta a magyarországi vadmacska állományt, és megállapították, hogy a hibridizáció széles körben elterjedt a magyarországi vadmacska populációban. A Skóciában elvadult házi macskák és vadmacskák kevert genotípusok összetett együttesét tartalmazzák, amelyek valószínűleg hosszán tartó hibridizációs és introgressziós folyamat során jöttek létre (Beaumont et al. 2001). Pierpaoli et al. (2003) a magyarországi macska mintákban számos kevert genotípusú egyedét talált, amelyek mind a házi macska, mind a vadmacska génállományból származnak. Ezekből az eredményekből arra következtettek, hogy a vizsgált magyarországi macskapopulációk a múltban nagymértékben hibridizálódhattak. Azonban az, hogy a vadmacska és a házi macska közötti kereszteződés hibridizáció vagy introgresszió – ami Európa számos populációjában fennálló probléma – régóta tartó ellentmondásos vita tárgya (Ragni & Randi 1986, French et al. 1988, Fernandez et al. 1992, Hubbard et al. 1992, McOrist & Kitchener 1994, Daniels et al. 1998, Beaumont et al. 2001, Randi et al. 2001, Daniels & Corbett 2003, Eckert 2003, Pierpaoli et al. 2003, MacDonald et al. 2004, Biró et al. 2005, Kitchener et al. 2005, Lecis et al. 2006, Oliveira et al. 2008a,b).

Az ember által közvetített folyamatok, mint például az élőhelyek pusztulása vagy feldarabolódása, a fajok üldözése és irtása, illetve az antropogén hibridizáció, közvetlenül vagy közvetve veszélyeztethetik a globális biológiai sokféleséget, mivel ezek a folyamatok kiszámíthatatlan következményekkel járnak a biológiai sokféleségre és a természetes populációk fitneszére (Rhymer & Simberloff 1996, Todesco et al. 2016). A jó állapotban fennmaradt őshonos erdők (például alacsony fokú átalakítás erdők összekapcsoltsága) már korábban is a vadmacska élőhelyeinek kulcsfontosságú preferenciájaként írták le (Oliveira et al. 2018, Gil-Sánchez et al. 2020), amelyek megfelelő táplálékforrást és szaporodási feltételeket biztosítanak a faj számára. Ezért ezek az összetett közösségekkel rendelkező területek várhatóan biztosítják a feltételeket a stabil vadmacska populációk számára, fokozzák a fajon belüli szaporodás lehetőségét (Klar et al. 2008, Oliveira et al. 2018), ezáltal mérséklik a hibridizáció valószínűségét.

6.4. Javaslatok

A genetikai vizsgálatok a terepi adatgyűjtési módszereket kiegészítve több fontos információval szolgálhatnak 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, referencia minták biztosítása, és alkalmazására annak érdekében, hogy az eredmények összehasonlíthatóak legyenek egymással. Ez nagyban megkönnyítené a populációk helyzetének és esetleges további terjeszkedésének nyomon követését, és hozzájárulna az Európai Unió irányelveit követő, határokon átnyúló természetvédelmi és kezelési programokhoz.

Az előző gondolatok értelmében érdemes lenne a Kárpát-medence országaiban vagy tágabb léptékben vizsgálva egy egységes genetikai módszertan mentén nyomon követni elsősorban a szürke farkas és az eurázsiai hiúz állományhelyzetét. 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 hazai mintaszám növelésével, illetve további szakirodalomban leírt mikroszatellit lókusztok bevonásával célszerű lenne és szeretnénk részletesebb képet kapni a faj hazai helyzetéről. A vadmacska esetében a 2000-es évek első felében közölt 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, illetve a hibridizáltsági fokok pontosabb meghatározásához pedig a genetikai módszerek közül az SNP (egy pontos nukleotid polimorfizmus) panelek alkalmazására, mivel szakirodalmi adatok alapján bizonyos SNP panelek képesek nagy genetikai valószínűséggel akár az F2-es hibrid egyedek azonosítására is.

7. 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 hímtől 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.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Általában véve a ragadozók, de legfőképp a nagyragadozók a leginkább vitatott és kihívásokat támaztató állatcsoportok közé tartoznak abból a szempontból, hogy megőrizzük-e őket modern és zsúfolt világunkban. Védelmük és állománykezelésük 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. Céлом volt nem invazív mintákból az Északi-középhegységbe visszatelepülő szürke farkas egyedek eredetének és rokonsági kapcsolatainak feltárása, a minimális egyedszám beclése és a genetikai diverzitás felmérése. Az eurázsiai hiúz esetében célul tűztem ki a faj jelenlétének genetikai módszerekkel való kimutatását, a minimális egyedszám és az ivararány meghatározását. A magyarországi vadmacska állományban a 2000-es évek elején már azonosított hibridizáció nyomon követése érdekében elsősorban az Északi-középhegységben előforduló vadmacska állomány genetikai diverzitásának, illetve a házi macskával való esetleges hibridizáció kimutatása volt céлом. Ezekhez a vizsgálatokhoz az említett fajokon már használt, külföldi szakirodalmakból adaptált és multiplex körülmények között optimalizált mikroszatellit (STR) markereket használtam. Vizsgálataim során az Északi-középhegység területén 25 szürke farkas egyed teljes genotípusát sikerült rögzítenem. Ezek közül 15 hím és 10 nőstény volt. Igazoltam, hogy a génállományhoz a természetes terjedés útján hozzájárult a szlovákiai állomány. A visszatelepülésben valószínűleg több egyed több időpontban való magyarországi megjelenésével vett részt. A rekonstruált rokonsági kapcsolatok alátámasztják, hogy az Északi-középhegység területén azonosított egyedek nem csak terjeszkedő és vándorló egyedek, hanem szaporodó párok is kialakultak a területen. Az eurázsiai hiúz fajjal kapcsolatban sikerült elvégeznem 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 hiúz hím egyedtől származnak, amit többek között kameracsapdás felvételek is megerősítenek. Felmértem a vadmacska egyik jelentős magyarországi előfordulási helyének genetikai diverzitását. A nemzetközi szakirodalmakból adaptált és optimalizált mikroszatellit markerek segítségével a mintákat sikeresen besoroltam a vadmacska, házi macska és a hibrid kategóriákba. Továbbá ezeknek a markereknek a hibridizációra irányuló megbízhatóságát is megvizsgáltam, amely esetében azt az eredményt kaptam, hogy az elsőfokú (F1) hibrid egyedek ezekkel a markerekkel még viszonylag nagy megbízhatósággal kimutathatók. A kidolgozott módszer segítségével nagy valószínűséggel osztályoztam az ismeretlen ill. tévesen besorolt egyedeket.

9. SUMMARY

Carnivores, but especially large carnivores are among the most controversial and challenging group of species to conserve in our modern and crowded world. Their protection in European countries have strict criterion not just in terms of habitat and prey availability, but also for local communities and stakeholders (farmers and game managers). In my thesis my goal was to explore the origin and relationships of grey wolves appearing in the North Hungarian Mountains and determine of the minimum number of individuals. In case of Eurasian lynx, goals were to identification of the species by genetic methods, determine of the minimum number of individuals and the sex ratio. In the interest of the hybridisation already identified in the Hungarian wildcat population in the early 2000s investigate the genetic diversity of the wildcat population and to detect possible hybridisation with domestic or domestic cats mainly in the North Hungarian Mountains. For these studies I used microsatellite (STR) markers which were adapted from other publications and optimized for multiplex conditions. I identified 25 individuals in the North Hungarian Mountains. Sex determination revealed 15 males and 10 females. I have confirmed that the Slovakian wolf population has contributed to the gene pool via natural dispersal. In the recolonisation probably involved the presence of several individuals in Hungary at different times. Moreover, reconstructed kinships underpin that wolves in northern Hungary are not only dispersing or migrating individuals, but breeding packs are also becoming established in the area. I have successfully completed the first genetically based occurrence study on Eurasian lynx samples from the Börzsöny Mountains, where I proved that the samples which collected over several years using non-invasive methods, originate from one male individual, which is confirmed by camera traps. I assessed the genetic diversity of one of the important habitats of the European wildcat. Using microsatellite markers, I successfully separated the samples into wildcat, domestic cat, and hybrid categories. Furthermore, I investigate the power of our markers to detect wildcat and domestic cat hybrid classes, which results that first-generation hybrids (F1) can still be detected with relatively high confidence using these markers. Using this method, I classified unknown or misclassified individuals with high probability.

10. MELLÉKLETEK

10.1. Irodalomjegyzék (M1)

- ANDERSON, E. C. & THOMPSON, E. A. (2002): A model-based method for identifying species hybrids using multilocus genet data. *Genetics*, 160 1217–1299. p.
- ADAMS, J. R., KELLY, B. T. & WAITS, L. P. (2003): Using faecal DNA sampling and GIS to monitor hybridization between red wolves (*Canis rufus*) and coyotes (*Canis latrans*). *Molecular Ecology*, 12 2175–2186. p.
- AGHBOLAGHI, M. A., REZAEI, H. R., SCANDURA, M. & KABOLI, M. (2014): Low gene flow between Iranian grey wolves (*Canis lupus*) and dogs documented using uniparental genetic markers. *Zoology in the Middle East*, 60 95–106. p. <https://doi.org/10.1080/09397140.2014>.
- ÅKESSON, M., LIBERG, O., SAND, H., WABAKKEN, P., BENSCH, S. & FLAGSTAD, Ø. (2016): Genetic rescue in a severely inbred wolf population. *Molecular Ecology*, 25(19), 4745-4756. p.
- ÅKESSON, M., FLAGSTAD, Ø., ASPI, J., KOJOLA, I., LIBERG, O., WABAKKEN, P. & SAND, H. (2022): Genetic signature of immigrants and their effect on genetic diversity in the recently established Scandinavian wolf population. *Conservation Genetics*, 23 359–373. p. <https://doi.org/10.1007/s10592-021-01423-5>
- ALCALA, N., GOUDET, J. & VUILLEUMIER, S. (2014): On the transition of genetic differentiation from isolation to panmixia: What we can learn from *Gst* and *D*. *Theoretical Population Biology*, 93 75–84. p. <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2014.02.003>
- ALLENDORF, F. W., LEARY, R. F., SPURELL, P. & WENBURG, J. K. (2001): The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in Ecology and Evolutio*, 16 613–622. p.
- ALLENDORF, F. W., LUIKART, G. & AITKEN, S. N. (2013): Conservation and the Genetics of Populations. Second Edition. West Sussex: Wiley-Blackwell. 624 p.
- ÁLVARES, F. (2004): Status and conservation of the Iberian wolf in Portugal. *Wolf Print*, 20 4–6 p.
- ANDERSEN, R., ODDEN, J., LINNELL, J. D. C., ODDEN, M., HERFINDAL, I., PANZACCHI, M., HØGSETH, Ø., GANGÅS, L., BRØSETH, H., SOLBERG, E. J. & HJELJORD, O. (2005): Gaupe og rådyr i Sørøst-Norge. Oversikt over gjennomførte aktiviteter 1995–2004. *NINA Rapport 29*, Trondheim, Norway. [in Norwegian with English summary].

- 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.
- ANDERSONE, Z., LUCCHINI, V., RANDI, E. & OZOLINS, J. (2002): Relationships between wolves and dogs in Latvia as documented using mitochondrial and microsatellite DNA markers. *Mammalian Biology*, 67 79–90. p. <https://doi.org/10.1078/1616-5047-00012>
- ANGELICI, F. M., CIUCANI, M. M., ANGELINI, S., ANNESI, F., CANIGLIA, R., CASTIGLIA, R., FABBRI, E., GALAVERNI, M., PALUMBO, D., RAVEGNINI, G., ROSSI, L., SIRACUSA, M. A. & CILLI, E. (2019): The Sicilian wolf: genetic identity of a recently extinct insular population. *Zoological science*, 36(3) 189–197. p.
- ASPI, J., ROININEN, E., RUOKONEN, M., KOJOLA, I. & VILÀ, C. (2006): Genetic diversity, population structure, effective population size, and demographic history of the Finnish wolf population. *Molecular Ecology* 15 1561–1576. p.
- ASPI, J., ROININEN, E., KIISKILÄ, J., RUOKONEN, M., KOJOLA, I., BLJUDNIK, L., DANILOV, P., HEIKKINEN, S. & PULLIAINEN, E. (2009): Genetic structure of the northwestern Russian wolf populations and gene flow between Russia and Finland. *Conservation Genetics*, 10 815–826. 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>
- BALTRŪNAITĖ, L., BALČIAUSKAS, L. & ÅKESSON, M. (2013): The genetic structure of the Lithuanian wolf population. *Central European Journal of Biology*, 8 440–447. p.
- 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.
- BASTIANELLI, M. L., PREMIER, J., HERRMANN, M., ANILE, S., MONTERROSO, P., KUEMMERLE, T., ET AL. (2021): Survival and cause-specific mortality of European wildcat (*Felis silvestris*) across Europe. *Biological Conservation*, 261, 109239. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.109239>.
- BAZZICALUPO, E., LUCENA-PEREZ, M., KLEINMAN-RUIZ, D., PAVLOV, A., TRAJČE, A., HOXHA, B., SANAJA, B., GUIRELIDZE, Z., KERDIKOSHVILI, N., MAMUCHADZE, J., YAROVENKO, A. Y., AKKIEV, I. M., RATKIEWICZ, M., SAVELJEV, P. A., MELOVSKI, D., GAVASHELISHVILI, A., SCHMIDT, K. & GODOY, A. J. (2022): History, demography and genetic status of Balkan and Caucasian *Lynx lynx*

- (Linnaeus, 1758) populations revealed by genome-wide variation. *Diversity and Distributions*, 28(1) 65–82. p.
- BEAUMONT, M., BARRATT, E. M., GOTTELLI, D., KITCHENER, A. C., DANIELS, M. J., PRITCHARD, J. K. & BRUFORD, M. W. (2001): Genetic diversity and introgression in the Scottish wildcat. *Molecular Ecology*, 10 319–336. p. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2001.01196.x>
- 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.
- BESCHTA, R. L. & RIPPLE R. J. (2009): Large predators and trophic cascades in terrestrial ecosystems of the western United States. *Biological Conservation*, 142 2401–2414. p. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.06.015>
- BEUGIN, M. P., SALVADOR, O., LEBLANC, G., QUENEY, G., NATOLI, E. & PONTIER, D. (2020). Hybridization between *Felis silvestris silvestris* and *Felis silvestris catus* in two contrasted environments in France. *Ecology and Evolution*, 10(1) 263–276. p. <https://doi.org/10.1002/ece3.5892>
- BIRÓ, Zs., LANSZKI, J., SZEMETHY, L., HELTAI, M. & RANDI, E. (2005): Feeding habits of feral domestic cats (*Felis catus*), wild cats (*Felis silvestris*) and their hybrids: trophic niche overlap among cat groups in Hungary. *J. Zool.*, 266 187–196 p.
- BIRÓ, ZS., SZEMETHY, L., HELTAI, M. & LANSZKI, J. (2007): Vadmacska. 202–203 p. In: BIHARI, Z., CSORBA, G. & HELTAI M. (szerk.): *Magyarország emlőseinek atlasza*. Budapest: Kossuth Kiadó, 360 p.
- BLANC, L., MARBOUTIN, E., GATTI, S. & GIMENEZ, O. (2013): Abundance of rare and elusive species: Empirical investigation of closed versus spatially explicit capture-recapture models with lynx as a case study. *Journal of Wildlife Management*, 77 372–378. p.
- BLANCO, J. C., CUESTA, L. & REIG, S. (1990): El lobo en España: una visión global. 69–94. p. In: BLANCO, J. C., CUESTA, L. & REIG, S. (Eds.): *El lobo (Canis lupus) en España. Situación, problemática y apuntes sobre su ecología*. Colección Técnica. Madrid: Icona. 118 p.
- BLANCO, J. C. & CORTÉS, Y. (2012): Surveying wolves without snow: a critical review of the methods used in Spain. *Hystrix*, 23(1) 35 p.
- BOHLING, J. H. (2016): Strategies to address the conservation threats posed by hybridization and genetic introgression. *Biological Conservation*, 203 321–327. p.
- BOITANI, L. (1992): Wolf research and conservation in Italy. *Biological Conservation*, 61 125–132. p.

- BOITANI, L. & POWELL, R. A. (2012): Carnivore Ecology and Conservation. Oxford University Press. Oxford, 528 p.
- BREITENMOSER, U. & BREITENMOSER-WÜRSTEN, C. H. (1990): Status, Conservation Needs and Reintroduction of the Lynx (*Lynx lynx*) in Europe. Strasbourg: Council of Europe. *Nature and Environment Series*, 45. 43 p.
- BREITENMOSER, U., BREITENMOSER-WÜRSTEN, CH., OKARMA, H., KAPHEGYI, T., KAPHEGYI-WALLMANN, U. & MÜLLER U. M. (2000): Action Plan for the conservation of the Eurasian Lynx (*Lynx lynx*) in Europe. Strasbourg: Council of Europe. 68 p.
- BREITENMOSER-WÜRSTEN, C. & OBEXER-RUFF, G. (2003): Population and conservation genetics of two re-introduced lynx (*Lynx lynx*) populations in Switzerland. In Proceedings of the 2nd Conference on the Status and Conservation of the Alpine Lynx Population (SCALP). 7–9. p.
- BREITENMOSER, U., LANZ, T. & BREITENMOSER-WÜRSTEN, C. (2019): Conservation of the wildcat (*Felis silvestris*) in Scotland: review of the conservation status and assessment of conservation activities. *IUCN SSC Cat Specialist Group*. 68 p.
- BRENNAN, A. C., HISCOCK, S. J. & ABBOTT, R. J. (2014): Interspecific crossing and genetic mapping reveal intrinsic genomic incompatibility between two Senecio species that form a hybrid zone on Mount Etna, Sicily. *Heredity*, 113(3) 195–204. p.
- BULL, J. K., HEURICH, M., SAVELJEV, A. P., SCHMIDT, K., FICKEL, J. & FÖRSTER, D. W. (2016): The effect of reintroductions on the genetic variability in Eurasian lynx populations: the cases of Bohemian–Bavarian and Vosges–Palatinian populations. *Conservation Genetics*, 17(5) 1229–1234. p.
- CAI, G., LEADBETTER, C. W., MUEHLBAUER, M. F., MOLNAR, T. J. & HILLMAN, B. I. (2013): Genome-wide microsatellite identification in the fungus *Anisogramma anomala* using Illumina sequencing and genome assembly. *PLoS ONE*, 8(11) e82408.
- CANIGLIA, R., FABBR, I E., GRECO, C., GALAVERNI, M., MANGHI, L., BOITANI, L., SFORZI, A. & RANDI, E. (2013a): Black coats in an admixed wolf x dog pack is melanism an indicator of hybridization in wolves? *European Journal of Wildlife Research*, 59 543–555. p. <https://doi.org/10.1007/s10344-013-0703-1>
- CANIGLIA, R., FABBR, I E., MASTROGIUSEPPE, L. & RANDI, E. (2013b): Who is who? Identification of livestock predators using forensic genetic approaches. *Forensic Science International: Genetics*, 7 397–404. p. <https://doi.org/10.1007/s10592-013-0530-7>

- CANIGLIA, R., FABBRI, E., GALAVERNI, M., MILANESI, P. & RANDI, E. (2014): Noninvasive sampling and genetic variability, pack structure, and dynamics in an expanding wolf population. *Journal of Mammalogy*, 95 41–59. p.
- CARBONE, C., MACE, G. M., ROBERTS, S. C. & MACDONALD, D. W. (1999): Energetic constraints on the diet of terrestrial carnivores. *Nature*, 402 286–288. p. <https://doi.org/10.1038/46266>
- CARDILLO, M., PURVIS, A., SECHREST, W., GITTLEMAN, J. L., BIELBY, J. & MACE, G. M. (2004): Human population density and extinction risk in the world's carnivores. *PLOS Biology*, 2 e197. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020197>
- CARDILLO, M., MACE, G. M., JONES, K. E., BIELBY, J., BININDA-EMONDS, O. R., SECHREST, W., ORME, C. D. & PURVIS, A. (2005): Multiple causes of high extinction risk in large mammal species. *Science*, 309 1239–1241. p. <https://doi.org/10.1126/science.1116030>
- 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>
- CASTOE, T.A., POOLE, A.W., DE KONING, A.P.J., JONES, K.L., TOMBACK, D.F., OYLER-MCCANCE, S.J., FIKE, J.A., LANCE, S.L., STREICHER, J.W., SMITH, E.N. & POLLOCK, D.D. (2012): Rapid microsatellite identification from Illumina paired-end genomic sequencing in two birds and a snake. *PLoS ONE*, 7(2) e30953.
- CEBALLOS, G. & EHRLICH, P. R. (2002): Mammal population losses and the extinction crisis. *Science*, 296 904–907. p. <https://doi.org/10.1126/science.1069349>
- ČERVENÝ, J. & BUFKA, L. (1996): Lynx (*Lynx lynx*) in south-western Bohemia. *Acta Scientiarum Naturalium Brno*, 30 16–33. p.
- 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.

- CZARNOMSKA, D. S., JEDRZEJEWSKA, B., BOROWIK, T., NIEDZIAŁKOWSKA, M., STRONEN, A. V., NOWAK, S., MYŚLAJEK, W. R., OKARMA, H., KONOPIŃSKI, M., PILOT, M., ŚMIETANA, W., CANIGLIA, R., FABBRI, E., RANDI, E., PERTOLDI, C. & JĘDRZEJEWSKI, W. (2013): Concordant mitochondrial and microsatellite DNA structuring between Polish lowland and Carpathian Mountain wolves. *Conservation Genetics* 14 573–588. p. <https://doi.org/10.1007/s10592-013-0446-2>
- DAN, 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.
- DANIELS, M. J., BALHARRY, D., HIRST, D., KITCHENER, A. C. & ASPINALL, R. J. (1998): Morphological and pelage characteristics of wild living cats in Scotland, implications for defining the wildcat. *Journal of Zoology*, 244 231–247. p.
- DANIELS, M. & CORBETT, L. (2003): Redefining introgressed protected mammals - when is a wildcat a wild cat and a dingo a wild dog? *Wildlife Research*, 30 213–218. p.
- DAYTON, M., KOSKINEN, T. M., TOM, K. B., MATTILA, M. A., ERIC, J., HALVERSON, J., FANTIN, D., DENISE, S., BUDOWLE, B., SMITH, G. D. & KANTHASWAMY, S. (2009): Developmental validation of Short Tandem Repeat Reagent Kit for forensic DNA profiling of canine biological material. *Croatian Medical Journal*, 50 268–285. p. <https://doi.org/10.3325/cmj.2009.50.268>
- DE GROOT, G. A., NOWAK, C., SKRBINŠEK, T., ANDERSEN, L. W., ASPI, J., FUMAGALLI, L. ET AL (2016): Decades of population genetic research reveal the need for harmonization of molecular markers: the grey wolf (*Canis lupus*) as a case study. *Mammal Review*, 46: 44–59. p. <https://doi.org/10.1111/mam.12052>
- 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.
- DEMETER, A. (1984): Recent records of rare or non-resident large carnivores in Hungary. *Vertebrata Hungarica*, 22 65–71. p.
- DOLF, G., SCHLÄPFER, J., GAILLARD, C., RANDI, E., LUCCHINI, V., BREITENMOSER, U. & STAHLBERGER-SAITBEKOVA, N. (2000): Differentiation of the Italian wolf and the domestic dog based on microsatellite analysis. *Genetics Selection Evolution*, 32 533–541 p.
- DRISCOLL, C. A., MENOTTI-RAYMOND, M., ROCA, A. L., HUPE, K., JOHNSON, W. E., GEFFEN, E., HARLEY, E. H., DELIBES, M., PONTIER, D., KITCHENER, A. C.,

- YAMAGUCHI, N., O'BRIEN, S. J. & MACDONALD, D. W. (2007): The Near Eastern origin of cat domestication. *Science*, 317 519–523. p. <https://doi.org/10.1126/science.1139518>.
- DUFRESNES, C., REMOLLINO, N., STOFFEL, C. MANZ, R., WEBER, M-J. & FUMAGALLI, L. (2019): Two decades of non-invasive genetic monitoring of the grey wolves recolonizing the Alps support very limited dog introgression. *Scientific Reports*, 9 148. p. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37331-x>
- 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>.
- EASTERBEE, N., HEPBURN, L. V. & JEFFERIES, D. J. (1991): Survey of the status and distribution of the wildcat in Scotland. Edinburgh: Nature Conservancy Council for Scotland. 1983–1987. p.
- ECKERT, I. (2003): DNA-Analysen zum genetischen Status der Wildkatze (*Felis silvestris*) in Deutschland, PhD thesis. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät Universität Kiel.
- 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>
- EDWARDS, A., CIVITELLO, A., HAMMOND, H. A. & CASKEY, C.T. (1991): DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *American Journal of Human Genetics*, 49 746–756. p.
- ELLEGE, A. E., ALLEN, L. R., CARLSSON, B-L. & LEUNG, L. K-P. (2008): An evaluation of genetic analyses, skull morphology and visual appearance for assessing dingo purity: implications for dingo conservation. *Wildlife Research*, 35 812–820. p.
- ELLEGREN, H. (1991): Fingerprinting birds' DNA with a synthetic polynucleotide probe (TG) n. *The Auk*, 108(4) 956–958. p.
- ELLEGREN, H., SAVOLAINEN, P. & ROSÉN, B. (1996): The genetical history of an isolated population of the endangered grey wolf (*Canis lupus*): a study of nuclear and mitochondrial polymorphisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 351(1348) 1661–1669. p.
- ELLEGREN, H. (1999): Inbreeding and relatedness in Scandinavian grey wolves (*Canis lupus*). *Hereditas*, 130(3) 239–244. p.
- ERICSON, H. S., FEDORCA, A., TODERAS, I., HEGYELI, Z., PLIS, K., DYKYY, I., JĘDRZEJEWSKA, B., IONESCU, G., FEDORCA, M., IACOLINA, L. & STRONEN, V.

- A. (2020): Genome-wide profiles indicate wolf population connectivity within the eastern Carpathian Mountains. *Genetica*, 148 33–39. p. <https://doi.org/10.1007/s10709-019-00083-1>
- ESTES, J. A., TERBORGH, J., BRASHARES, J. S., POWER, M. E., BERGER, J., BOND, W. J., CARPENTER, S. R., ESSINGTON, T. E., HOLT, R. D., JACKSON, J. B., MARQUIS, R. J., OKSANEN, L., OKSANEN, T., PAINE, R. T., PIKITCH, E. K., RIPPLE, W. J., SANDIN, S. A., CHEFFER, M., CHOENER, T. W., SHURIN, J. B., SINCLAIR, A. R., SOULÉ, M. E., VIRTANEN, R. & WARDLE, D. A. (2011): Trophic downgrading of planet Earth. *Science*, 333 301–306. p. <https://doi.org/10.1126/science.1205106>
- 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., MIQUEL, C., LUCCHINI, V., SANTINI, A., CANIGLIA, R., DUCHAMP, C., WEBER, J. M., LEQUETTE, B., MARUCCO, F., BOITANI, L., FUMAGALLI, L., TABERLET, P. & RANDI, E. (2007): From the Apennines to the Alps: colonization genetics of the naturally expanding Italian wolf (*Canis lupus*) population. *Molecular Ecology*, 16 1661–1671. p.
- 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.
- FARAGÓ, S. (1989): A farkas (*Canis lupus LINNÉ, 1758*) 1920–1985 közötti előfordulása Magyarországon. *Folia Hist Nat Musei Matraiensis*, 14 139–164. 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
- FERNANDEZ, E., DELOPE, F. & DELACRUZ, C. (1992): Cranial morphology of wild cat (*Felis silvestris*) in the south of Iberian peninsula – importance of introgression by domestic cat (*F. catus*). *Mammalia*, 56 255–264. p.
- FERNÁNDEZ-SILVA, I., WHITNEY, J., WAINWRIGHT, B., ANDREWS, K. R., YLITALO-WARD, H., BOWEN, B. W., TOONEN, R. J., GOETZE, E. & KARL, S. S. (2013): Microsatellites for next-generation ecologists: A post-sequencing bioinformatics pipeline. *PLoS ONE*, 8(2) e55990.

- FLAGSTAD, Ø., WALKER, C. W., VILÀ, C., SUNDQVIST, A.-K., FERNHOLM, B., HUFTHAMMER, A. K., WIIG, Ø., KOJOLA, I. & ELLEGREN, H. (2003): Two centuries of the Scandinavian wolf population: patterns of genetic variability and migration during an era of dramatic decline. *Molecular Ecology*, 12 869–880. p.
- FLUCK, D. (2020): Észtt farkasok, nem kutyadolog. 50-51. p. In: WALLENDUMS P (Eds.): *Magyar Vadaszlap*. Budapest: Virtuoz Kiado es Nyomdaipari Kft.
- FRANKHAM, R. (2005). Genetics and extinction. *Biological Conservation*, 126 131–140. p.
- FREEDMAN, A. H., GRONAU, I., SCHWEIZER, R. M., ORTEGA-DEL VECCHYO, D., HAN, E., SILVA, P. M., ET AL. (2014): Genome sequencing highlights the dynamic early history of dogs. *PLoS Genetics*, 10(1) e1004016.
- FREELAND, J. R. (2005): *Molecular Ecology*. Chichester: Wiley & Sons. 464. p.
- FRENCH, D. D., CORBETT, L. K. & EASTERBEE, N. (1988): Morphological discriminants of Scottish wildcats (*Felis silvestris*), domestic cats (*F. catus*) and their hybrids. *Journal of Zoology*, 214 235–259. p.
- GALAVERNI, M., CANIGLIA, R., PAGANI, L., FABBRI, E., BOATTINI, A. & RANDI, E. (2017): Disentangling timing of admixture, patterns of introgression, and phenotypic indicators in a hybridizing wolf population. *Molecular Biology and Evolution*, 34(9) 2324–2339. p. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx169>
- GALOV, A., FABBRI, E., CANIGLIA, R., ARBANASIĆ, H., LAPALOMBELLA, S., FLORIJAČIĆ, T., BOŠKOVIĆ, I., GALAVERNI M. & RANDI, E. (2016): First evidence of hybridization between golden jackal (*Canis aureus*) and domestic dog (*Canis familiaris*) as revealed by genetic markers. *Royal Society Open Science*, 2(12) 150450. <https://doi.org/10.1098/rsos.150450>
- GELMAN, A., CARLIN, J., STERN, H. & RUBIN, D. (1995): *Bayesian Data Analysis*. Chapman & Hall, Boca Raton, Florida. 675. p.
- GILROY, J. J., ORDIZ, A. & BISCHOF, R. (2015): Carnivore coexistence: value the wilderness. *Science*, 347– 382. p.
- GIL-SÁNCHEZ, J. M., BAREA-AZCÓN, J. M., JARAMILLO, J., HERRERA-SÁNCHEZ, F. J., JIMÉNEZ, J. & VIRGÓS, E. (2020): Fragmentation and low density as major conservation challenges for the southernmost populations of the European wildcat. *PloS One*, 15, e0227708. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227708>.
- GIMENEZ, O., GATTI, S., DUCHAMP, C., GERMAIN, E., LAURENT, A., ZIMMERMANN, F. & MARBOUTIN, E. (2019): Spatial density estimates of Eurasian lynx (*Lynx lynx*) in the French Jura and Vosges Mountains. *Ecology and Evolution*, 9 11707–11715. p.

- 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>
- GODINHO, R., LLANEZA, L., BLANCO, J. C., LOPES, S., ÁLVARES, F., GARCÍA, E. J., PALACIOS, V., CORTÉS, Y., TALEGÓN, J. & FERRAND, N. (2011): Genetic evidence for multiple events of hybridization between wolves and domestic dogs in the Iberian Peninsula. *Molecular Ecology*, 20 5154–5166. p. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05345.x>
- GOMERČIĆ, T., SINDIČIĆ, M., GALOV, A., ARBANASIĆ, H., KUSAK, J., ĐURAS GOMERČIĆ, M. & HUBER, D. (2010): High genetic variability of the grey wolf (*Canis lupus L.*) population from Croatia as revealed by mitochondrial DNA control region sequences. *Zoological Studies*, 49 816–823. p.
- GÓMEZ-SÁNCHEZ, D., OLALDE, I., SASTRE, N., ENSEÑAT, C., CARRASCO, R., MARQUES-BONET, T., LALUEZA-FOX, C., LEONARD, A. J., VILÀ, C. & RAMÍREZ, O. (2018): On the path to extinction: inbreeding and admixture in a declining grey wolf population. *Molecular Ecology*, 27(18) 3599–3612. p.
- GOMPERT, Z. & BUERKLE, C. A. (2016): What, if anything, are hybrids: enduring truths and challenges associated with population structure and gene flow. *Evolutionary Applications*, 9 909–923. p. <https://doi.org/10.1111/eva.12380>
- 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>
- GRANDE DEL BRÍO, R. (1984). El lobo ibérico. Biología y mitología. Madrid: Hermann Blume. 344 p.
- GRAVENDEEL, B., DE GROOT, A., KIK, M., BEENTJES, K. K., BERGMAN, H., CANIGLIA, R., CREMERS, H., FABBRI, E., GROENENBERG, D., GRONE, A., BRUINDERINK, G. G., FONT, L., HAKHOF, J., HARMS, V., JANSMAN, H., JANSSEN, R., LAMMERTSMA, D., LAROS, I., LINNARTZ, L., VAN DER MAREL, D., MULDER, J. L., VAN DER MIJE, S., NIEMAN, A. M., NOWAK, C., RANDI, E., RIJKS, M., SPEKSNIJDER, A. & VONHOF, H. B. (2013): The first wolf found in the Netherlands in 150 years was the victim of a wildlife crime. *Lutra*, 56 93–109. p.
- GROSSMANN, C. M., PATKÓ, L., ORTSEIFEN, D., KIMMIG, E., CATTOEN, E. M. & SCHRAML, U. (2020): Human-large carnivores co-existence in Europe—A comparative stakeholder network analysis. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8 266 p.

- GULA, R., HAUSKNECHT, R. & KUEHN, R. (2009): Evidence of wolf dispersal in anthropogenic habitats of the Polish Carpathian Mountains. *Biodiversity and Conservation*, 18 2173–2184. p. <https://doi.org/10.1007/s10531-009-9581-y>
- HAMMER, Ø., HARPER, D. A. & RYAN, P. D. (2001): PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica*, 4(1) 9 p.
- HARMS, V., NOWAK, C., CARL, S. & MUÑOZ-FUENTES, V. (2015): Experimental evaluation of genetic predator identification from saliva traces on wildlife kills. *Journal of Mammalogy*, 96(1) 138–143. p.
- HAUSKNECHT, R., SZABÓ, Á., FIRMÁNSZKY, G., GULA, R. & KUEHN, R. (2010): Confirmation of wolf residence in Northern Hungary by field and genetic monitoring. *Mammalian Biology*, 75 348–352. p. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2009.10.001>
- 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.
- HELLBORG, L., WALKER, C. W., RUENESS, E. K., STACY, J. E., KOJOLA, I., VALDMANN, H., VILÀ, C., ZIMMERMANN, B., JAKOBSEN, K. S. & ELLEGREN, H. (2002): Differentiation and levels of genetic variation in northern European lynx (*Lynx lynx*) populations revealed by microsatellites and mitochondrial DNA analysis. *Conservation Genetics*, 3(2) 97–111. 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.
- HERFINDAL, H., LINNELL, J. D. C., ODDEN, J., NILSEN, E. B. & ANDERSEN, R. (2005): Prey density, environmental productivity and home-range size in the Eurasian lynx (*Lynx lynx*). *Journal of Zoology*, 265 63–71. p.
- 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>.
- HETHERINGTON, D. A., LORD, T. C. & JACOBI, R. M. (2006): New evidence for the occurrence of Eurasian lynx (*Lynx lynx*) in medieval Britain. *Journal of Quaternary Science*, 21 3–8. p.
- 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., MÄNNIL, P., OZOLINS, J., KRZYWINSKI, A. & SAARMA, U. (2012): Bucking the Trend in wolf-dog hybridization: first evidence from Europe of hybridization between female dogs and male wolves. *PLoS ONE* 7:e46465. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046465>
- HINDRIKSON, M., REMM, J., MÄNNIL, P., OZOLINS, J., TAMMELEHT, E. & SAARMA, U. (2013): Spatial genetic analyses reveal cryptic population structure and migration patterns in a continuously harvested grey wolf (*Canis lupus*) population in North-Eastern Europe. *PLoS ONE*, 8(9) e75765.
- 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>
- HOBAN, S., ARNTZEN, J. A., BRUFORD, M. W., GODOY, J. A., RUS HOELZEL, A., SEGELBACHER, G., VILÀ, C. & BERTORELLE, G. (2014): Comparative evaluation of potential indicators and temporal sampling protocols for monitoring genetic erosion. *Evolutionary Applications*, 7 984–998. p.
- HUBBARD, A. L., MCRIST, S., JONES, T. W., BOID, R., SCOTT, R. & EASTERBEE, N. (1992): Is survival of European wildcats (*Felis silvestris*) in Britain threatened by interbreeding with domestic cats? *Biological Conservation*, 61 203–208. p.
- HULVA, P., BOLFIKOVÁ, Č. B., WOZNICOVÁ, V., JINDŘICHOVÁ, M., BENEŠOVÁ, M., MYSŁAJEK, 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>
- HUNDERTMARK, K. J. & VAN DAELE, L. J. (2010): Founder effect and bottleneck in an introduced, insular population of elk. *Conservation Genetics*, 11 139–147. p.
- HUNTER, L. (2019): Carnivores of the World: Second Edition. Princeton, New Jersey: Princeton Univ. Press. 256. p.
- IACOLINA, L., SCANDURA, M., GAZZOLA, A., CAPPAL, N., CAPITANI, C., MATTIOLI, L., VERCILLO, F. & APOLLONIO, M. (2010): Y-chromosome microsatellite variation in Italian wolves: a contribution to the study of wolf-dog hybridization patterns. *Mammalian Biology*, 75(4) 341–347. p.
- IOSIF, R., POPESCU, V. D., UNGUREANU, L., ȘERBAN, C., DYCK, M. A. & PROMBERGER-FÜRPASS, B. (2022): Eurasian lynx density and habitat use in one of Europe’s strongholds, the Romanian Carpathians. *Journal of Mammalogy*, 103(2) 415–424. p.

- JANSSON, E., RUOKONEN, M., KOJOLA, I. & ASPI, J. (2012): Rise and fall of a wolf population: genetic diversity and structure during recovery, rapid expansion and drastic decline. *Molecular Ecology*, 21 5178–5193. p.
- JANSSON, E., HARMOINEN, J., RUOKONEN, M. & ASPI, J. (2014): Living on the edge: reconstructing the genetic history of the Finnish wolf population. *BMC Evolutionary Biology*, 14 64–84. p.
- JĘDRZEJEWSKI, W., BRANICKI, W., VEIT, C., MEDUGORAC, I., PILOT, M., BUNEVICH, A. N., JĘDRZEJEWSKA, B., SCHMIDT, K., THEUERKAUF, J., OKARMA, H., GULA, R., SZYMURA, L. & FÖRSTER, M. (2005): Genetic diversity and relatedness within packs in an intensely hunted population of wolves (*Canis lupus*). *Acta Theriologica*, 50 3–22. p.
- JEROSCH, S., GÖTZ, M. & ROTH M. (2017): Spatial organisation of European wildcats (*Felis silvestris silvestris*) in an agriculturally dominated landscape in Central Europe. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, 82 8–16. p.
- JOHNSON, W. E., EIZIRIK, E., PECON-SLATTERY, J., MURPHY, W. J., ANTUNES, A., TEELING, E. & O'BRIEN, S. J. (2006): The late Miocene radiation of modern Felidae: a genetic assessment. *Science*, 311 73–77. p.
- JOHNSON, R. & GREENWOOD, S. (2020): Assessing the ecological feasibility of reintroducing the Eurasian lynx (*Lynx lynx*) to southern Scotland, England and Wales. *Biodiversity and Conservation*, 29 771–797. p. <https://doi.org/10.1007/s10531-019-01909-2>
- 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, E. (2009): Hybridisation between the dingo, *Canis lupus dingo*, and the domestic dog, *Canis lupus familiaris*, in Victoria: a critical review. *Australian Mammalogy*, 31 1–7. p.
- 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>
- KACZENSKY, P., CHAPRON, G., VON ARX, M., HUBER, D., ANDRÉN H. & LINNELL J. (2013): Status, management and distribution of large carnivores-bear, lynx, wolf and wolverine-in Europe. Rome: Istituto di Ecologia Applicata https://ec.europa.eu/environment/nature/conservation/species/carnivores/pdf/task_1_part2_species_country_reports.pdf. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.22.
- KAMINSKÁ, L., KOZŁOWSKI, J. K. & SVOBODA, J. (2005): Pleistocene environments and archaeology of the Dzerava skala Cave, Lesser Carpathians, Slovakia. Polish Academy of Arts and Sciences, Kraków; Institute of Archaeology, Nitra, Slovak Academy of Sciences; Institute of Archaeology, Brno, Academy of Sciences of the Czech Republic. 226 p.

- KARDOS, M., ÅKESSON, M., FOUNTAIN, T. FLAGSTAD, Ø., LIBERG, O., OLASON, P., SAND, H., WABAKKEN, P., WIKENROS, C. & ELLEGREN, H. (2018): Genomic consequences of intensive inbreeding in an isolated wolf population. *Nature Ecology and Evolution*, 2 124–131. p. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0375-4>
- KAYS, R., CROFOOT, M. C., JETZ, W. & WIKELSKI, M. (2015): Terrestrial animal tracking as an eye on life and planet. *Science*, 348:aaa2478. <https://doi.org/10.1126/science.aaa2478>
- 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.
- KHOSRAVI, R., REZAEJ, H. R., & KABOLI, M. (2013): Detecting hybridization between Iranian wild wolf (*Canis lupus pallipes*) and free-ranging domestic dog (*Canis familiaris*) by analysis of microsatellite markers. *Zoological Science*, 30 27–34. p. <https://doi.org/10.2108/zsj.30.27>
- KHOSRAVI, R., AGHBOLAGHI, M. A., REZAEJ, H. R., NORANI, E. & KABOLI, M. (2015). Is black coat colour in wolves of Iran an evidence of admixed ancestry with dogs? *Journal of Applied Genetics*, 56 97–105. p. <https://doi.org/10.1007/s13353-014-0237-6>
- KITCHENER, A. C., YAMAGUCHI, N., WARD, J. M. & MACDONALD, D. W. (2005): A diagnosis for the Scottish wildcat (*Felis silvestris*), a tool for conservation action for a critically-endangered felid. *Animal Conservation*, 8 223–237. p.
- KITCHENER, A. C. & REES, E. E. (2009): Modelling the dynamic biogeography of the wildcat: implications for taxonomy and conservation. *Journal of Zoology*, 279 144–155. p.
- KLAR, N., FERNÁNDEZ, N., KRAMER-SCHADT, S., HERRMANN, M., TRINZEN, M., BÜTTNER, I. & NIEMITZ, C. (2008): Habitat selection models for European wildcat conservation. *Biological Conservation*, 141 308–319. p. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.10.004>.
- KLAR, N., HERRMANN, M., HENNING-HAHN, M., POTT-DOERFER, B., HOFER, H. & KRAMER-SCHADT, S. (2012): Between ecological theory and planning practice: (re-) connecting forest patches for the wildcat in Lower Saxony, Germany. *Landscape and Urban Planning*, 105 376–384. p. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2012.01.007>
- KOPALIANI, N., SHAKARASHVILI, M., GURIELIDZE, Z., QURKHULI, T. & TARKHNISHVILI, D. (2014): Gene flow between wolf and shepherd dog populations in

- Georgia (Caucasus). *Journal of Heredity*, 105 345–353. p.
<https://doi.org/10.1093/jhered/esu014>
- KORABLEV, M.P., KORABLEV, N.P. & KORABLEV, P.N. (2021): Genetic diversity and population structure of the grey wolf (*Canis lupus* Linnaeus, 1758) and evidence of wolf × dog hybridisation in the centre of European Russia. *Mammalian Biology*, 101 91–104. p. <https://doi.org/10.1007/s42991-020-00074-2>
- KOVÁCS, Z. (2018): Féljünk-e a farkastól? 128-132. p. In: JÁMBOR, L., BIRÓ, G., BORS, R., DÉNES, R., FÖLDEVÁRI 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.
- KRATOCHVIL, J. (1968): History of the distribution of the lynx in Europe. *Acta Scientiarum. Naturalium Brno*, 4 1–50. p.
- KROFEL, M., GIANNATOS, G., ČIROVIČ, D., STOYANOV, S. & NEWSOME, M. T. (2017): Golden jackal expansion in Europe: a case of mesopredator release triggered by continent-wide wolf persecution? *Hystrix: Italian Journal of Mammalogy*, 28(1) 9-15. 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>
- KRONE, O., GUMINSKY, O., MEINIG, H., HERRMANN, M., TRINZEN, M. & WIBBELT, G. (2008): Endoparasite spectrum of wild cats (*Felis silvestris* Schreber, 1777) and domestic cats (*Felis catus* L.) from the Eifel, Pfalz region and Saarland, Germany. *European Journal of Wildlife Research*, 54 95–100. p. <https://doi.org/10.1007/s10344-007-0116-0>
- KUBALA, J., GREGOROVÁ, E., SMOLKO, P., KLINGA, P., ILKO, T. & KAŇUCH, P. (2020): The coat pattern in the Carpathian population of Eurasian lynx has changed: a sign of demographic bottleneck and limited connectivity. *European Journal of Wildlife Research*, 66(1) 1–11. p.
- LAMPREAVE, G., RUIZ-OLMO, J., GARCÍA-PETIT, J., LÓPEZ-MARTÍN, J. M., BATAILLE, A., FRANCINO, O., SASTRE, N. & RAMÍREZ, O. (2011): El lobo vuelve a cataluña. Historia del regreso y medidas de conservación. *Quercus* 302 16–25. p.

- LANGLEY, P. J. W. & YALDEN, D. W. (1977): The decline of the rare carnivores in Great Britain during the nineteenth century. *Mammal Review*, 7 95–116. p.
- LANSZKI, J., MÁRKUS, M., ÚJVÁRY, D., SZABÓ, Á. & SZEMETHY, L. (2012): Diet of wolves *Canis lupus* returning to Hungary. *Acta Theriologica*, 57 189–193. p. <https://doi.org/10.1007/s13364-011-0063-8>
- LAVRENCHEKOV, L. A. & BULATOVA, N. S. (2016): The role of hybrid zones in speciation: a case study on chromosome races of the house mouse *Mus domesticus* and common shrew *Sorex araneus*. *Biology Bulletin Reviews*, 6 232–244. p.
- 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>
- LEONARD, J. A. & WAYNE, R. K. (2008): Great Lakes Wolves were not restored. *Biological Letters*, 4 95–98. p.
- LEONARD, J. A. (2014): Ecology drives evolution in grey wolves. *Evolutionary Ecology Research* 16 461–473. p.
- LE ROUX, J. J., FOXCROFT, L. C., HERBST, M. & MACFADYEN, S. (2015): Genetic analysis shows low levels of hybridization between African wildcats (*Felis silvestris lybica*) and domestic cats (*F. s. catus*) in South Africa. *Ecology and Evolution*, 5(2) 288–299. p.
- 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>
- LIBERG, O., ANDRÉN, H., PEDERSEN, H. C., SAND, H., SEJBERG, D., WABAKKEN, P., ÅKESSON, M. & BENSCH, S. (2005): Severe inbreeding depression in a wild wolf (*Canis lupus*) population. *Biology Letters*, 1(1) 17–20. p.
- LIEBENBERG, L. (1990): *The Art of Tracking: The Origin of Science*. s.l.: David Philip Publishers.
- LINNELL, J. D. C., SALVATORI, V. & BOITANI, L. (2008): Guidelines for population level management plans for large carnivores in Europe. A Large Carnivore Initiative for Europe report prepared for the European Commission, Rome. (contract 070501/2005/424162/MAR/B2), 85 p.
- 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.

- LINNELL, J. D. C. & ZACHOS, F. E. (2011): Status and distribution patterns of European ungulates: Genetics, population history and conservation. 12–53. p. In: PUTMAN, R., APOLLONIO, M. & ANDERSEN, R. (EDS.), *Ungulate management in Europe: Problems and practices*. Cambridge: Cambridge University Press. 410 p.
- LINNELL, J. D. C. & BOITANI, L. (2012): Building biological realism into wolf management policy: the development of the population approach in Europe. *Hystrix*, 23 80–91. p. <https://doi.org/10.4404/hystrix-23.1-4676>.
- LINNELL, J. D. C. & CRETOIS, B. (2018): Research for AGRI Committee—The revival of wolves and other large predators and its impact on farmers and their livelihood in rural regions of Europe. Brussels: European Parliament, Policy Department for Structural and Cohesion Policies. 102 p.
- LONG, A. R., MACKAY, P., RAY, J. & ZIELINSKI, W. (2008): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*. Island Press, Washington, 385 p.
- LÓPEZ-BAO, J. V., BLANCO, J. C., RODRÍGUES, A., GODINHO, R., ALVARES, F., GARCÍA, E. J., LLANEZA, L., RICO, M., CORTÉS, Y., PALACIOS, V. & CHAPRON, G. (2015): Toothless wildlife protection laws. *Biodiversity and Conservation*, 24 2105–2108. p.
- LORENZINI, R., FANELLI, R., GRIFONI, G., SCHOLL, F. & FICO, R. (2014): Wolf-dog crossbreeding: “Smelling” a hybrid may not be easy. *Mammalian Biology*, 79 149–156. p. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2013.07.0>
- LOSS, S. R. & MARRA, P. P. (2017): Population impacts of free-ranging domestic cats on mainland vertebrates. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 15 502–509. p. <https://doi.org/10.1002/fee.1633>
- LUCCHINI, V., FABBRI, E., MARUCCO, F., RICCI, S., BOITANI, L. & RANDI, E. (2002): Noninvasive molecular tracking of colonizing wolf (*Canis lupus*) packs in the western Italian Alps. *Molecular Ecology*, 11 857–868. p.
- LUCCHINI, V., GALOV, A. & RANDI, E. (2004): Evidence of genetic distinction and long-term population decline in wolves (*Canis lupus*) in the Italian Apennines. *Molecular Ecology*, 13 523–536. p.
- LÜPS, P., FLÜCKIGER, P. F., PEIER, D. & SCHMIDT, P. (2002): Fund einer Waldkatze *Felis silvestris* bei Oberbuchsiten. *Mitt Natforsch Ges Kanton Solothurn*, 39 41–45. p.
- LUCENA-PEREZ, M. E., MARMESAT, D., KLEINMAN-RUIZ, MARTÍNEZ-CRUZ, B., WEÇEK, K., SAVELJEV, P. A., SERYODKIN, V. I., OKHLOPKOV, I., DVORNIKOV, G. M., OZOLINS, J., GALSANDORJ, N., PAUNOVIC, M., RATKIEWICZ, M., SCHMIDT, K. & GODOY, A. J. (2020): Genomic patterns in the widespread eurasian lynx

- shaped by late quaternary climatic fluctuations and anthropogenic impacts. *Molecular Ecology*, <https://doi.org/10.1111/mec.15366>
- MACDONALD, D. W., DANIELS, M. J., DRISCOLL, C., KITCHENER, A. & YAMAGUCHI, N. (2004): The Scottish Wildcat. Analyses for Conservation and an Action Plan. Oxford: *Wildlife Conservation Research Unit*, 67 p.
- MACDONALD, D. W., LOVERIDGE, A. J. & RABINOWITZ, A. (2010): Felid futures: crossing disciplines, borders, and generations. 599–650. p. In: MACDONALD, D. W., LOVERIDGE, A. J. (Eds.): *Biology and conservation of wild felids*. Oxford: Oxford University Press. 464 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.
- MAJÍČ-SKRBINŠEK, A. (2014): SloWolf (LIFE 08 NAT/SLO/244): Final report covering the project activities from 01/01/2010 to 31/12/2013. 80 p. https://www.volkovi.si/wp-content/uploads/2014/10/slowolf_final_report.pdf. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.24.
- MARUCCO, F., PLETSCHER, D. H., BOITANI, L., SCHWARTZ, M. K., PILGRIM, K. L. & LEBRETON, J-D. (2009): Wolf survival and population trend using non-invasive capture–recapture techniques in the Western Alps. *Journal of Applied Ecology*, 46 1003–1010. 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>
- MATTUCCI, F., GALAVERNI, M., LYONS, L. A., ALVES, P. C., RANDI, E., VELLI, E., PAGANI, L. & CANIGLIA, R. (2019): Genomic approaches to identify hybrids and estimate admixture times in European wildcat populations. *Scientific Reports* 9 1–15. p. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48002-w>
- MCCARLEY, H. (1962): The taxonomic status of wild Canis (*Canidae*) in the south central United States. *Southwest Naturalist*, 7 227–235. p.

- MCORIST, S. & KITCHENER, A. C. (1994): Current threats to the European Wildcat, *Felis silvestris*, in Scotland. *Ambio*, 23 243–245. p.
- MECH, L. D. & BOITANI, L. (2003): Wolf social ecology. 1–34. p. In: MECH, L. D., BOITANI, L. (Eds.) *Wolves. Behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press. 472 p.
- 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.
- MERSON, S. D., DOLLAR, L. J., TAN, C. K. W. & MACDONALD, D. W. (2019). Effects of habitat alteration and disturbance by humans and exotic species on fosa *Cryptoprocta ferox* occupancy in Madagascar's deciduous forests. *Oryx*. <https://doi.org/10.1017/s003060531800>
- MORI, E., MENCHETTI, M., CAMPORESI, A., CAVIGIOLI, L., TABARELLI DE FATIS, K. & GIRARDELLO, M. (2019). Licence to kill? Domestic cats affect a wide range of native fauna in a highly biodiverse Mediterranean country. *Frontiers in Ecology and Evolution*. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.0047>
- MORRISON, J. C., SECHREST, W., DINERSTEIN, E., WILCOVE, D. S. & LAMOREUX, J. F. (2007): Persistence of large mammal faunas as indicators of global human impacts. *Journal of Mammalogy*, 88 1363–1380. p. <https://doi.org/10.1644/06-MAMM-A-124R2.1>
- MOURA, A. E., TSINGARSKA, E., DĄBROWSKI, M. J., CZARNOMSKA, S. D., JĘDRZEJEWSKA, B. & PILOT, M. (2014): Unregulated hunting and genetic recovery from a severe population decline: the cautionary case of Bulgarian wolves. *Conservation Genetics*, 15 405–417. p.

- MUELLER, S.A., REINERS, T.E., MIDDELHOFF, T.L., ANDERS, O., KASPERKIEWICZ, A. & NOWAK, C. (2020): The rise of a large carnivore population in Central Europe: genetic evaluation of lynx reintroduction in the Harz Mountains. *Conservation Genetics*, 21(3) 557–587. p. <https://doi.org/10.1007/s10592-020-01270-w>.
- MUELLER, S. A., PROST, S., ANDERS, O., BREITENMOSER-WÜRSTEN, C., KLEVEN, O., KLINGA, P. ET AL. (2022): Genome-wide diversity loss in reintroduced Eurasian lynx populations urges immediate conservation management. *Biological Conservation*, 266 109442.
- MUSIANI, M., BOITANI, L. & PAQUET, P. C. (2009): A New Era for Wolves and People: Wolf Recovery, Human Attitudes and Policy. Calgary: University of Calgary Press. 224 p.
- MUSIANI, M., BOITANI, L. & PAQUET, P. C. (2010): The World of Wolves. New Perspectives on Ecology, Behaviour and Management. Calgary: University of Calgary Press. 352 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>.
- NISKANEN, A. K., KENNEDY, L. J., RUOKONEN, M., KOJOLA, I., LOHI, H., ISOMURSU, M., JANSSON, E., PYHÄJÄRVI, T. & ASPI, J. (2014): Balancing selection and heterozygote advantage in major histocompatibility complex loci of the bottlenecked Finnish wolf population. *Molecular Ecology*, 23(4) 875–889. p.
- NOWELL, K. & JACKSON, P. (1996): Wild Cats. Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC Cat Specialist Group, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 382 p.
- 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>

- OLIVEIRA, R., GODINHO, R., RANDI, E., FERRAND, N. & ALVES, P. C. (2008b): Molecular analysis of hybridisation between wild and domestic cats (*Felis silvestris*) in Portugal: Implications for conservation. *Conservation Genetics*, 9 1–11. p. <https://doi.org/10.1007/s10592-007-9297-z>
- OLIVEIRA, T., URRÁ, F., LÓPEZ-MARTÍN, J. M., BALLESTEROS-DUPERÓN, E., BAREA-AZCÓN, J. M., MOLÉON, M., GIL-SÁNCHEZ, M. J., ALVES, C. P., DÍAZ-RUÍZ, F., FERRERAS, P. & MONTERROSO, P. (2018): Females know better: Sex-biased habitat selection by the European wildcat. *Ecology and Evolution*, 8(18) 9464–9477. p.
- PACHECO, C., LÓPEZ-BAO, J. V., GARCÍA, E. J., LEMA, F. J., LLANEZA, L., PALACIOS, V. & GODINHO, R. (2017). Spatial assessment of wolf-dog hybridization in a single breeding period. *Scientific Reports*, 7 42475. <https://doi.org/10.1038/srep42475>
- PACHECO, C., STRONEN, A. V., JEŃDRZEJEWSKA, B., PLIS, K., OKHLOPKOV, I. M., MAMAEV, N. V., DROVETSKI, V. S. & GODINHO, R. (2022): Demography and evolutionary history of grey wolf populations around the Bering Strait. *Molecular Ecology*, 31(18) 4851–4865. p.
- PACKER, C., LOVERIDGE, A., CANNEY, S., CARO, T., GARNETT, S. T., PFEIFER, M., ET AL. (2013): Conserving large carnivores: dollars and fence. *Ecology Letters*, 16 635–641. p. <https://doi.org/10.1111/ele.12091>
- PALUMBI, S. R. (1996): Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. 205–247. p. In: HILLIS, D. M., MORITZ, C. & MABLE, B. K. (Eds.), *Molecular Systematics*. Sunderland: Sinauer & Associates Inc. 655 p.
- PARADISO, J. L. (1968): Canids recently collected in east Texas, with comments on the taxonomy of the red wolf. *American Midland Naturalist*, 80 529–534. p.
- PARR, W. C. H., WILSON, L. A. B., WROE, S., COLMAN, N. J., CROWTHER, M. S. & LETNIC, M. (2016): Cranial shape and the modularity of hybridization in dingoes and dogs; hybridization does not spell the end for native morphology. *Evolutionary Biology*, 43 171–187. p.
- PEAKALL, R. & SMOUSE, P. E. (2012): GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 28 2537–2539. p.
- PESENTI, E. & ZIMMERMANN, F. (2013): Density estimations of the Eurasian lynx (*Lynx lynx*) in the Swiss Alps. *Journal of Mammalogy*, 94 73–81. p.
- PIERPAOLI, M., BIRÓ ZS., HERRMANN, M., HUPE, K., FERNANDES, M., RAGNI, B., SZEMETHY, L. & RANDI, E. (2003): Genetic distinction of wildcat (*Felis silvestris*) populations in Europe, and hybridization with domestic cats in Hungary. *Molecular Ecology*, 12 2585–2598. 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>
- PILOT, M., JEDRZEJEWSKI, W., BRANICKI, W., SIDOROVICH, V. E., JEDRZEJEWSKA, B., STACHURA, K. & FUNK, S. M. (2006): Ecological factors influence population genetic structure of European grey wolves. *Molecular Ecology*, 15 4533–4553. p. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03110.x>
- PILOT, M., GRECO, C., VONHOLDT, B. M., JĘDRZEJEWSKA, B., RANDI, E., JĘDRZEJEWSKI, W., SIDOROVICH, V. E., OSTRANDER, E. A. & WAYNE, R. W. (2014a): Genome-wide signatures of population bottlenecks and diversifying selection in European wolves. *Heredity*, 112 428–442. p.
- PILOT, M., DABROWSKI, M. J., HAYRAPETYAN, V., YAVRUYAN, E. G., KOPALIANI, N., TSINGARSKA, E., BUJALSKA, B., KAMIŃSKI, S. & BOGDANOWICZ, W. (2014b): Genetic variability of the grey wolf (*Canis lupus*) in the Caucasus in comparison with Europe and the Middle East: distinct or intermediary population? *PLoS ONE* 9(4) e93828.
- PLUMER, L., KEIS, M., REMM, J., HINDRIKSON, M., JÕGIASLU, I., MÄNNIL, P., KÜBARSEPP, M. & SAARMA, U. (2016): Wolves recolonizing islands: genetic consequences and implications for conservation and management. *PLoS ONE*, 11(7) e0158911.
- POPESCU, V. D., ARTELLE, K. A., POP, M. I., MANOLACHE, S. & ROZYLOWICZ, L. (2016): Assessing biological realism of wildlife population estimates in data-poor systems. *Journal of Applied Ecology*, 53 1248–1259. p.
- 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>
- PROMBERGER–FURPASS, B., SURTH, P. & PREDOIU, G. (2002): Lynx. In: Carpathian Large Carnivore Project Annual Report 2001. Hako Internation Publishing, Ghimbav, Romania. 27–29. p.
- PRUGH, L. R., STONER, C. J., EPPS, C. W., BEAN, W. T., RIPPLE, W. J., LALIBERTE, A. S. & BRASHARES, J. S. (2009): The rise of the mesopredator. *Bioscience*, 59 779–791. p. <https://doi.org/10.1525/bio.2009.59.9.9>
- 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/>
- RAGNI, B. & RANDI, E. (1986): Multivariate analysis of cranio-metric characters in European wildcat, domestic cat and African wildcat (genus *Felis*). *Z. Säugetierkd.*, 51 243–251. p.
- RAMIREZ, O., ALTET, L., ENSENÁT, C., VILÀ, C., SANCHEZ, A. & RUIZ, A. (2006): Genetic assessment of the Iberian wolf (*Canis lupus*) signatus captive breeding program. *Conservation Genetics*, 7 861–878. p.
- RANDI, E., LUCCHINI, V., CHRISTENSEN, M. F., MUCCI, N., FUNK, S. M., DOLF, G. & LOESCHKE, V. (2000): Mitochondrial DNA variability in Italian and east European wolves: detecting the consequences of small population size and hybridization. *Conservation Biology*, 14 464–473. p.
- 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.
- RANDI, E., & LUCCHINI, V. (2002): Detecting rare introgression of domestic dog genes into wild wolf (*Canis lupus*) populations by Bayesian admixture analyses of microsatellite variation. *Conservation Genetics*, 3 31–45. p.
- RANDI, E. (2008): Detecting hybridization between wild species and their domesticated relatives. *Molecular Ecology*, 17 285–293. p. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03417.x>
- RANDI, E. (2011): Genetics and conservation of wolves (*Canis lupus*) in Europe. *Mammal Review*, 41 99–111. p.
- RANDI, E., HULVA, P., FABBRI, E., GALAVERNI, M., GALOV, A., KUSAK, J., BIGI, D., BOLFIKOVÁ, B. Č., SMETANOVÁ, M. & CANIGLIA, R. (2014): Multilocus detection of wolf × dog hybridization in Italy, and guidelines for marker selection. *PLoS ONE* 9(1) e86409.
- RATKIEWICZ, M., MATOSIUK, M., KOWALCZYK, R., KONOPIN, M. K., OKARMA, H. & OZOLINS, J. (2012): High levels of population differentiation in Eurasian lynx at the edge of the species' western range in Europe revealed by mitochondrial DNA analyses. *Animal Conservation*, 15 603–612. 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.

- REED, D. H. & FRANKHAM, R. (2003): Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*, 17 230–237. p.
- REINHARDT, I., KLUTH, G., NOWAK, S. & MYSŁAJEK, R. W. (2015): Standards for the Monitoring of the Central European Wolf Population in Germany and Poland. Bonn: Federal Agency for Nature Conservation. 43 p.
- RHYMER, J. M. & SIMBERLOFF, D. (1996): Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review Ecology and Systematics*, 27 83–109. p.
- RICO, M. & TORRENTE, J. P. (2000): Caza y rarificación del lobo en España: investigación histórica y conclusiones biológicas. *Galemys*, 12 163–179. 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
- RIPPLE, W. J., ESTES, J. A., BESCHTA, R. L., WILMERS, C. C., RITCHIE, E. G., HEBBLEWHITE, M., BERGER, J., ELMHAGEN, B., LETNIC, M., NELSON, M. P., SCHMITZ, O. J., SMITH, D. W., WALLACH, A. W. & Wirsing, A. J. (2014): Status and ecological effects of the world's largest carnivores. *Science*, 343 6167. <https://doi.org/10.1126/science.1241484>
- RITCHIE, E. G., ELMHAGEN, B., GLEN, A. S., LETNIC, M., LUDWIG, G. & McDONALD, R. A. (2012): Ecosystem restoration with teeth: What role for predators? *Trends in Ecology and Evolution*, 27 265-271. p. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.01.001>
- ROZYLOWICZ, L., CHIRIAC, S., SANDU, R.M. & MANOLACHE, S. (2010): The habitat selection of a female lynx (*Lynx lynx*) in the northwestern part of the Vrancea Mountains, Romania. *North Western Journal of Zoology*, 6 122–127. p.
- RUENESS, E. K., NAIDENKO, S., TROSVIK, P. & STENSETH, N. C. (2014): Large-scale genetic structuring of a widely distributed carnivore – the eurasian lynx (*Lynx lynx*). *Plos One*, e93675. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093675>
- RUTHERFORD, S. (2018): The Anthropocene's animal? Coywolves as feral cotravelers. *Environment and Planning E: Nature and Space*, 1(1–2) 206–223. p.
- SALVATORI, V., OKARMA, H., IONESCU, O., DOVHANYCH, Y., FIND'O, S. & BOITANI, L. (2002): Hunting legislation in the Carpathian Mountains: implications for the conservation and management of large carnivores. *Wildlife Biology*, 8 3–10. p.
- SALVATORI, V. & LINNELL, J. (2005): Report on the conservation status and threats for wolf (*Canis lupus*) in Europe. Strasbourg: Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats. 25 p.

- SALVATORI, V., GODINHO, R., BRASCHI, C., BOITANI, L. & CIUCCI, P. (2019): High levels of recent wolf× dog introgressive hybridization in agricultural landscapes of central Italy. *European Journal of Wildlife Research*, 65(5) 1–14. p.
- SASTRE, N. (2011): Genética de la conservación: el lobo gris (*Canis lupus*). PhD Thesis: Universitat autonòma de Barcelona, Spain.
- SASTRE, N., VILÀ, C., SALINAS, M., BOLOGOV, V. V., URIOS, V., SÁNCHEZ, A., FRANCINO, O. & RAMÍREZ, O. (2011): Signatures of demographic bottlenecks in European wolf populations. *Conservation Genetics*, 12 701–712. p.
- 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>
- SCANDURA, M., IACOLINA, L., CAPITANI, C., GAZZOLA, A., MATTIOLI, L. & APOLLONIO, M. (2011): Fine-scale genetic structure suggests low levels of short-range gene flow in a wolf population of the Italian Apennines. *European Journal of Wildlife Research* 5 949–958. p.
- SCHMIDT, K. (1998): Maternal behaviour and juvenile dispersal in the Eurasian lynx. *Acta Theriologica*, 43 391–408. p.
- SCHMIDT, K., KOWALCZYK, R., OZOLINS, J., MÄNNIL, P. & FICKEL, J. (2009): Genetic structure of the Eurasian lynx population in north-eastern Poland and the Baltic states. *Conservation Genetics*, 10(2) 497–501. p.
- SCHMIDT, K., RATKIEWICZ, M. & KONOPÍŃSKI, 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.
- SEDDON, J. M., PARKER, H. G., OSTRANDER, E. A. & ELLEGREN, H. (2005): SNPs in ecological and conservation studies: a test in the Scandinavian wolf population. *Molecular Ecology*, 14(2) 503–511. p.
- SEDDON, J. M., SUNDQVIST, A. K., BJÖRNERFELDT, S. & ELLEGREN, H. (2006): Genetic identification of immigrants to the Scandinavian wolf population. *Conservation Genetics*, 7 225–230. p.
- SENN, H. V., GHAZALI, M., KADEN, J., BARCLAY, D., HARROWER, B., CAMPBELL, R. D. MACDONALD, W. D. & KITCHENER, C. A. (2019): Distinguishing the victim from the threat: SNP-based methods reveal the extent of introgressive hybridization between

- wildcats and domestic cats in Scotland and inform future in situ and ex situ management options for species restoration. *Evolutionary applications*, 12(3) 399–414. p.
- SILVA, P., LÓPEZ-BAO, J. V., LLANEZA, L., ÁLVARES, F., LOPES, S., BLANCO, J. C., CORTÉS, Y., GARCÍA, E., PALACIOS, V., RIO-MAIOR, H., FRRAND, N. & GODINHO, R. (2018): Cryptic population structure reveals low dispersal in Iberian wolves. *Scientific Reports*, 8(1) 1–14. p.
- SINDIČIĆ, M., GOMERČIĆ, T., POLANC, P. KROFEL, M., SLIJEPČEVIĆ, V., GEMBAROVSKI, N., ĐURČEVIĆ, M. & HUBER, Đ. (2013a): Kinship analysis of dinaric lynx (*Lynx lynx*) population. *Šumarski List* 137 (1–2), 43–49. p.
- SINDIČIĆ, M., POLANC, P., GOMERČIĆ, T., JELENČIČ, M., HUBER, Đ., TRONTELJ, P. & SKRBINŠEK, T. (2013b): Genetic data confirm critical status of the reintroduced Dinaric population of Eurasian lynx. *Conservation Genetics*, 14(5) 1009–1018. p.
- SMEDS, L., ASPI, J., BERGLUND, J., KOJOLA, I., TIRRONEN, K. & ELLEGREN, H. (2021): Whole-genome analyses provide no evidence for dog introgression in Fennoscandian wolf populations. *Evolutionary Applications*, 14(3) 721–734. p.
- ŠNJEGOTA, D., STEFANOVIĆ, M., VELIČKOVIĆ, N. ĆIROVIĆ, D. & DJAN, M. (2018): Genetic characterization of grey wolves (*Canis lupus* L. 1758) from Bosnia and Herzegovina: implications for conservation. *Conservation Genetics*, 19 755–760. p. <https://doi.org/10.1007/s10592-017-1042-7>
- ŠNJEGOTA, D., STRONEN, A. V., BOLJTE, B., ĆIROVIĆ, D., DJAN, M., HUBER, D., JELENČIČ, M., KONEC, M., KUSAK, J. & SKRBINŠEK, T. (2021): Population genetic structure of wolves in the northwestern Dinaric-Balkan region. *Ecology and Evolution*, 11(24) 18492–18504. p.
- SOMMER, R. S. & NADACHOWSKI, A. (2006): Glacial refugia of mammals in Europe: evidence from fossil records. *Mammal Review*, 36 251–265. p.
- STAHL, P. & ARTOIS, M. (1991): Status and conservation of the wild cat (*Felis silvestris*) in Europe and around the Mediterranean rim. Strasbourg: Council of Europe. 76 p.
- 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., KRAUS, R. H., MÖLICH, T., ANDERS, O., COCCHIARARO, B., FROSCH, C. ET AL. (2016): Large-scale genetic census of an elusive carnivore, the European wildcat (*Felis s. silvestris*). *Conservation Genetics*, 17(5) 1183–1199. p.
- 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>
- STRONEN, A. V., JĘDRZEJEWSKA, B., PERTOLDI, C., DEMONTIS, D., RANDI, E., NIEDZIAŁKOWSKA, M., PILOT, M., SIDOROVICH, V. E., DYKYY, I., KUSAK, J., TSINGARSKA, E., KOJOLA, I., KARAMANLIDIS, A. A., ORNICANS, A., LOBKOV, V. A., ET AL. (2013): North-south differentiation and a region of high diversity in European wolves (*Canis lupus*). *PLoS ONE*, 8(10) e76454.
- STRONEN, A.V., MATTUCCI, F., FABBRI, E. GALAVERNI, M., COCCHIARARO, B., NOWAK, C., GODINHO, R., RUIZ-GONZÁLEZ, A., KUSAK, J., SKRBINŠEK, T., RANDI, E., VLASSEVA, A., MUCCI, N. & CANIGLIA, R. (2022): A reduced SNP panel to trace gene flow across southern European wolf populations and detect hybridization with other *Canis* taxa. *Scientific Reports*, 12 4195 p. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08132-0>
- STUART, C., STUART, T. & DE SMET K. J. (2013): *Felis silvestris*. In: KINGDON, J. & HOFFMANN, M. (Eds.): *The Mammals of Africa. Volume V.: Carnivores, Pangolins, Equids and Rhinoceroses*. London: Bloomsbury Publishing. 560 p.
- SUMINSKI, P. (1962): Research in the native form of the wildcat (*Felis silvestris Schreber*) on the background of its geographical distribution. *Folia Forestalia Polonica*, 8 1–81. p.
- SUNDQVIST, A. K., ELLEGREN, H. & VILÀ, C. (2008): Wolf or dog? Genetic identification of predators from saliva collected around bite wounds on prey. *Conservation Genetics*, 9 1275–1279. 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>
- SZABÓ, Á., HELTAI, M. & LANSZKI, J. (2001): A hiúz és a farkas táplálék-összetétele Magyarországon. *Vadbiológia*, 8 79-83. p.
- SZÉLES, G. L., PURGER, J. J., MOLNÁR, T. & LANSZKI, J. (2018): Comparative analysis of the diet of feral and house cats and wildcat in Europe. *Mammal Research*, 63, 43-53. p.
- SZEMETHY, L. & HELTAI, M. (1996): Néhány védett emlős ragadozó faj helyzete Magyarországon 1987-1994. *Vadbiológia*, 5: 1–17. p.

- SZEMETHY, L. & MÁRKUS, M. (2007b): Eurázsiai hiúz. 206–207. p. In: BIHARI, Z., CSORBA, G. & HELTAI, M. (szerk.): Magyarország emlőseinek atlasza. Budapest: Kossuth Kiadó, 360 p.
- SZEMETHY, L. & MÁRKUS, M. (2007a): Szürke farkas. 218–219. p. In: BIHARI, Z., CSORBA, G. & HELTAI, M. (szerk.): *Magyarország emlőseinek atlasza*. Budapest: Kossuth Kiadó, 360 p.
- 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>
- SZEWCZYK, M., NOWAK, C., HULVA, P., MERGEAY, J., STRONEN, A. V., BOLFÍKOVÁ, B. Č., ET AL. (2021): Genetic support for the current discrete conservation unit of the Central European wolf population. *Wildlife Biology*, 2021(2) 1–7. p.
- TABERLET, P., WAITS, L. P. & LUIKART, G. (1999): Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution*, 14 323–327. p.
- TODESCO, M., PASCUAL, M. A., OWENS, G. L., OSTEVİK, K. L., MOYERS, B. T., HÜBNER, S., HEREDIA, M. S., HAHN, A. M., CASEYS, C., BOCK, G. D. & RIESEBERG, H. L. (2016): Hybridization and extinction. *Evolutionary applications*, 9(7) 892–908. p. <https://doi.org/10.1111/eva.12367>
- 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.
- TROUWBORST, A. (2010): Managing the carnivore comeback: international and EU species protection law and the return of lynx, wolf and bear to Western Europe. *Journal of Environmental Law*, 22 347–372. p. <https://doi.org/10.1093/jel/eqq013>
- 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>
- VALDES, A.M., SLATKIN, M. & FREIMER, N.B. (1993): Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited. *Genetics*, 133 737–749. p.

- VALIERE, N. & TABERLET, P. (2000): Urine collected in the field as a source of DNA for species and individual identification. *Molecular Ecology*, 9 2150–2154. p. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.11142.x>
- VALIÈRE, N., FUMAGALLI, L., GIELLY, L., MIQUEL, C., LEQUETTE, B., POULLE, M.-L., WEBER, J.-M., ARLETTAZ, R. & TABERLET, P. (2003): Long distance wolf recolonization of France and Switzerland inferred from noninvasive genetic sampling over a period of 10 years. *Animal Conservation*, 6 83–92. p.
- VALVERDE, J. A. (1971). El lobo español. *Montes*, 159 228–241. p.
- 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>
- VAN WYK, A. M., DALTON, D.L., HOBAN, S., BRUFORD, M. W., RUSSO, I. R. M., BIRSS, C., GROBLER, P., VAN VUUREN, B. J. & KOTZÉ, A. (2017): Quantitative evaluation of hybridization and the impact on biodiversity conservation. *Ecology and Evolution*, 7:320–330. p.
- VERARDI, A., LUCCHINI, V. & RANDI, E. (2006): Detecting introgressive hybridization between free-ranging domestic dogs and wild wolves (*Canis lupus*) by admixture linkage disequilibrium analysis. *Molecular Ecology*, 15(10) 2845–2855. p.
- VILÀ, C., SAVOLAINEN, P., MALDONADO, J. E., AMORIM, I. R., RICE, J. E., HONEYCUTT, R. L., CRANDALL, K. A., LUNDEBERG, J. & WAYNE, R. K. (1997): Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science*, 276 1687–1689. p.
- VILÀ, C., SUNDQVIST, A. K., FLAGSHD, A., SEDDON, J., BJÖRNERFELDT, S., KOJOLA, I., CASULLI, A., SAND, H., WABAKKEN, P. & ELLEGREN, H. (2003a): Rescue of a severely bottlenecked wolf (*Canis lupus*) population by a single immigrant. *Proc. of Royal Society London, Biological Sciences*, 270 91–97. p. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2184>
- VILÀ, C., WALKER, C., SUNDQVIST, A. K., FLAGSTAD, Ø., ANDERSONE, Z., CASULLI, A., KOJOLA, I., VALDMANN, H., HALVERSON, J. & ELLEGREN, H. (2003b): Combined use of maternal, paternal and bi-parental genetic markers for the identification of wolf-dog hybrids. *Heredity*, 90 17–24. p. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800175>
- VILUMA, A., FLAGSTAD, Ø., ÅKESSON, M., WIKENROS, C., SAND, H., WABAKKEN, P., & ELLEGREN, H. (2022): Whole-genome resequencing of temporally stratified samples reveals substantial loss of haplotype diversity in the highly inbred Scandinavian wolf population. *Genome Research*, 32(3) 449–458. p. <https://doi.org/10.1101/gr.276070.121>

- VON ARX, M., BREITENMOSEER-WÜRSTEN, C., ZIMMERMANN, F. & BREITENMOSEER, U. (2004): Status and conservation of the Eurasian lynx (*Lynx lynx*) in 2001. Muri, KORA Bericht no. 19.
- VONHOLDT, B. M., POLLINGER, J. P., EARL, D. A., KNOWLES, J. C., BOYKO, A. R., PARKER, H., GEFFEN, E., PILOT, M., JĘDRZEJEWSKI, W., JĘDRZEJEWSKA, B., SIDOROVICH, V., GRECO, C., RANDI, E., MUSIANI, M., KAYS, R., ET AL. (2011): A genome-wide perspective on the evolutionary history of enigmatic wolf-like canids. *Genome Research*, 21 1294–1305. p.
- WABAKKEN, P., SAND, H., LIBERG, O. & BJÄRVALL, A. (2001): The recovery, distribution, and population dynamics of wolves on the Scandinavian peninsula, 1978–1998. *Canadian Journal of Zoology*, 79 710–725. p.
- 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>
- WABAKKEN, P., SVENSSON, L., MAARTMANN, E., NORDLI, K., FLAGSTAD, Ø. & ÅKESSON, M. (2020): Bestandsovervakning av ulv vinteren 2019–2020. Bestandsstatus for store rovdyr i Skandinavia 1–2020, Report to the Swedish Environmental Protection Agency (In Swedish with abstract in English). ISBN 978-82-426-4611-8.
- WALLENDUMS, P. (2018): Helyzetjelentés. 133-138 p. In: JAMBOR, L., BIRO, G., BORS, R., DENES, R., FOLDVARI, A., KOVACS, G., KOVACS, Z., RUNG, A. & WALLENDUMS, P. (Eds.): *Vadászévkönyv 2018*. Budapest: Országos Magyar Vadászkamara.
- WEINGARTH, K., HEIBL, C., KNAUER, F., ZIMMERMANN, F., BUFKA, L. & HEURICH, M. (2012): First estimation of Eurasian lynx (*Lynx lynx*) abundance and density using digital cameras and capture-recapture techniques in a German national park. *Animal Biodiversity and Conservation*, 35 197–207. p.
- 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>

YU, J-N., WON, C., JUN, J. & KWAK, M. (2011): Fast and cost-effective mining of microsatellite markers using NGS technology: An example of the Korean water deer *Hypodropotes inermis argyropus*. *PLoS ONE*, 6(11) e26933.

ZIMMERMANN, F., BREITENMOSER-WÜRSTEN, C., & BREITENMOSER, U. (2007): Importance of dispersal for the expansion of a Eurasian lynx (*Lynx lynx*) population in a fragmented landscape. *Oryx*, 41 358–368. p.

http1: https://ec.europa.eu/environment/nature/conservation/species/carnivores/conservation_status.htm. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.29.

http2: <https://www.dunaipoly.hu/hu/hir/farkas-eszleles-a-borzsonyben-1>. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.29.

http3: <https://www.bnpi.hu/hu/hir/nagyragadozo-szinkron-a-bukki-nemzeti-park-igazgatosag-teruleten>. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.29.

http4: <https://wwf.hu/hireink/nagyragadozok/amikor-a-farkas-falka-meghatral/>. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.29.

http5:

https://termeszetvedelem.hu/_user/browser/File/Natura2000/HD_17_adatlap_es_terkep_fajok_2019/Canis_lupus_2019.pdf. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.29.

http6: <https://www.bnpi.hu/hu/hir/a-hiuz-eszlesek-margojara>. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.29.

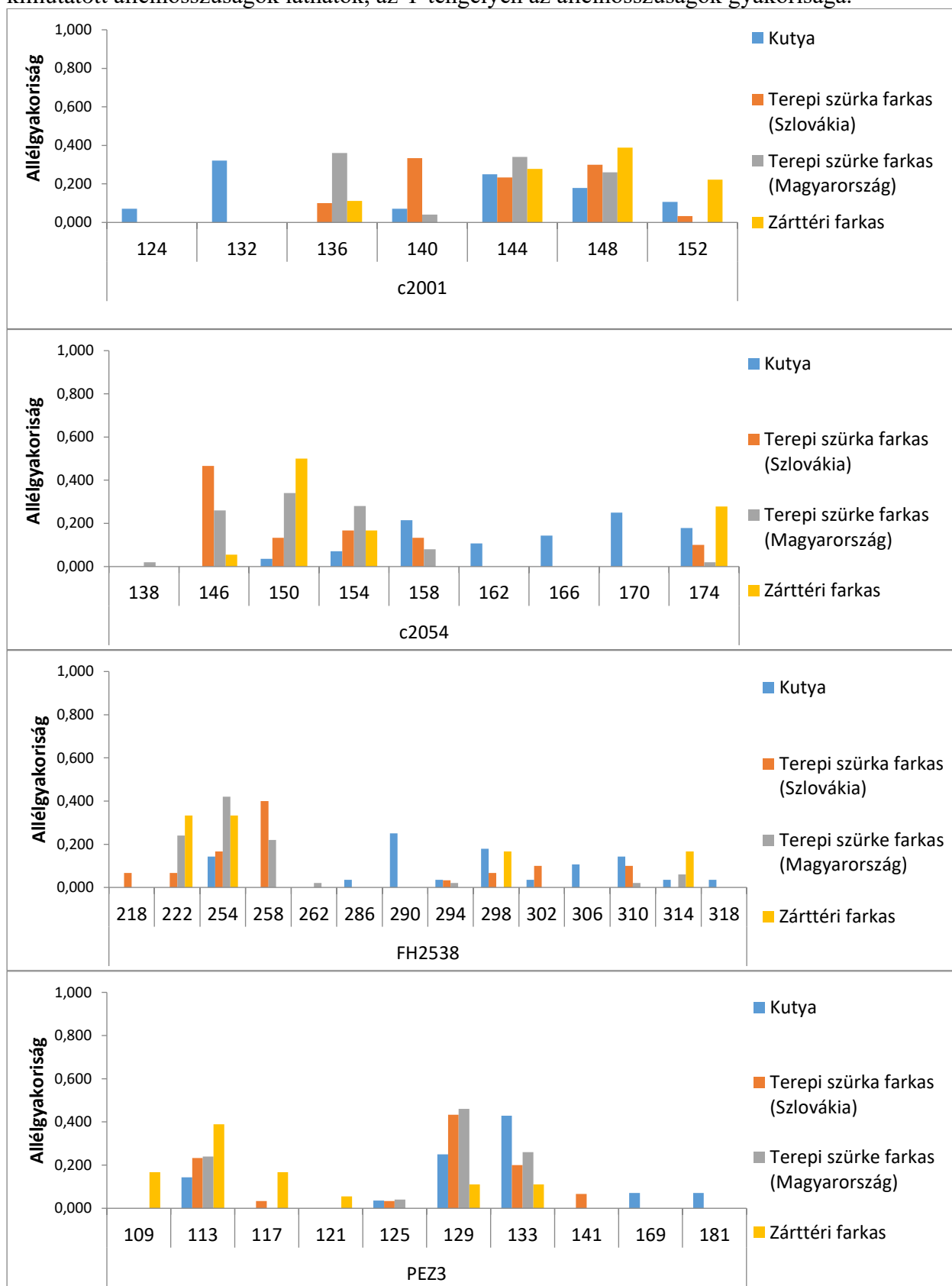
http7: <https://www.erdekesvilag.hu/eloszor-sikerult-felvetelt-kesziteni-az-aggteleki-nemzeti-parkban-elo-hiuzrol/>. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.29.

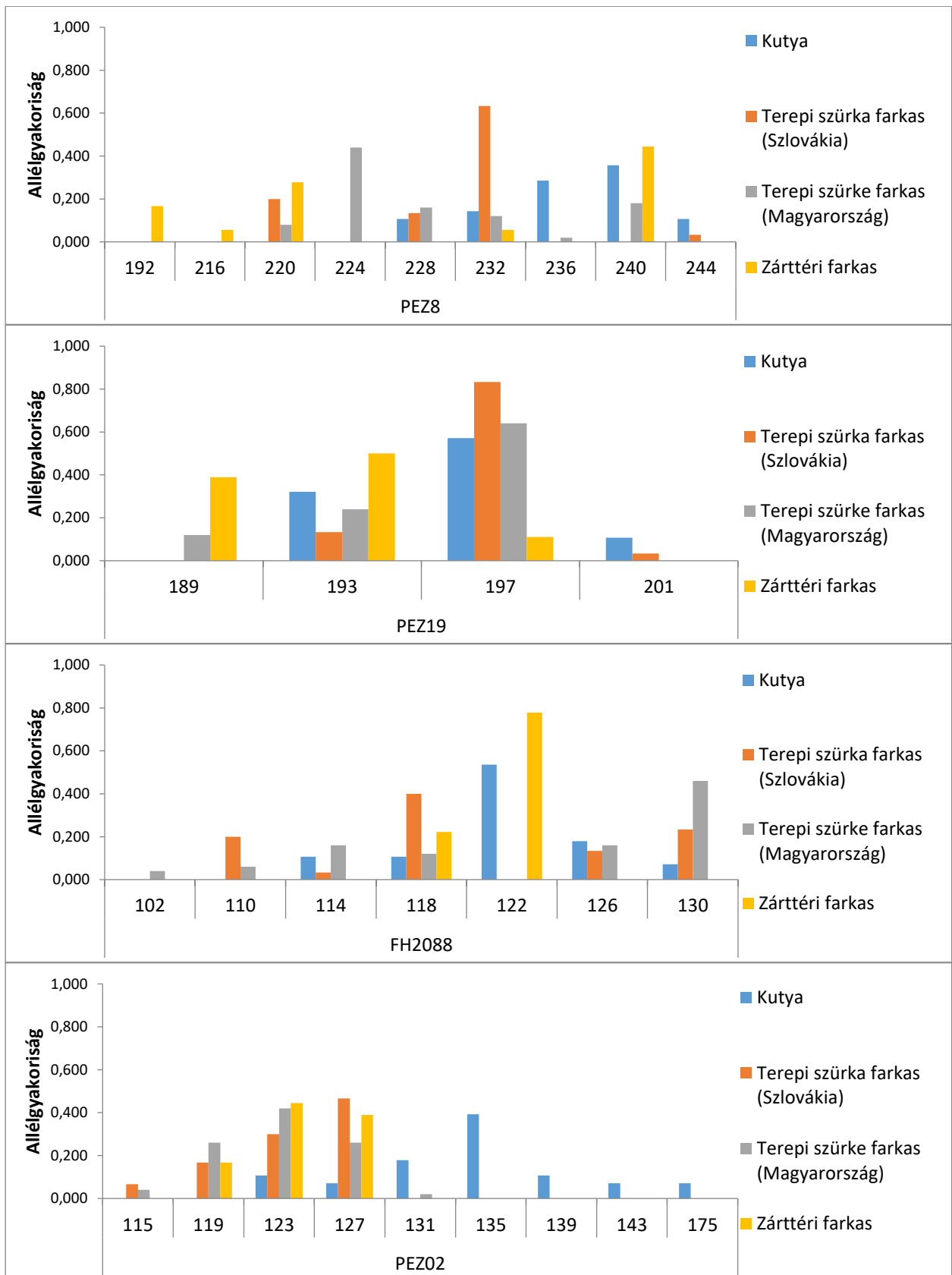
http8: <https://www.dunaipoly.hu/hu/hir/ujabb-hiuz-eszleles-a-borzsonyben>. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.29.

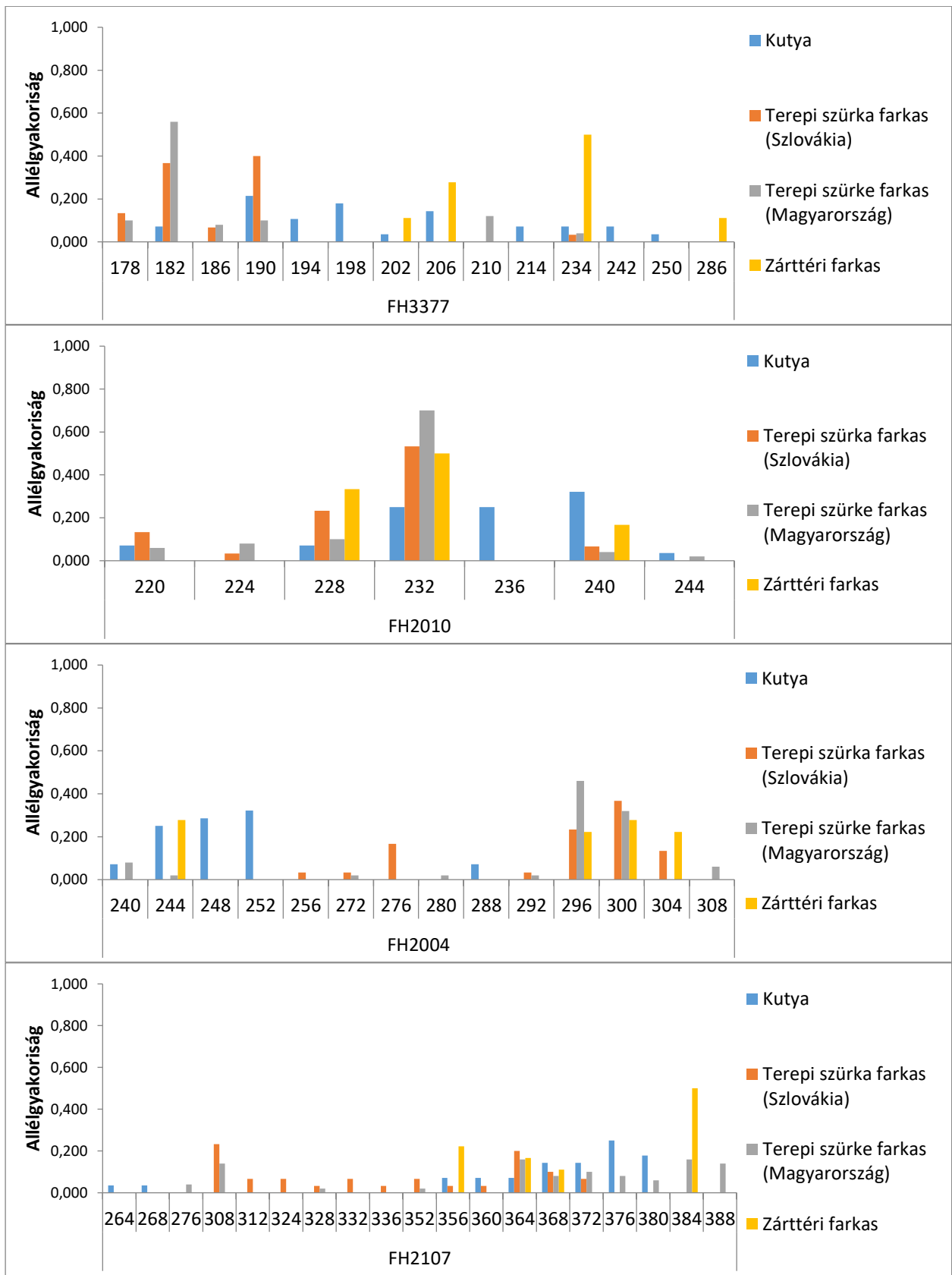
http9: <https://www.lcie.org/Largecarnivores/Eurasianlynx.aspx>. Keresőprogram: Google. Lekérdezés időpontja: 2023.03.29.

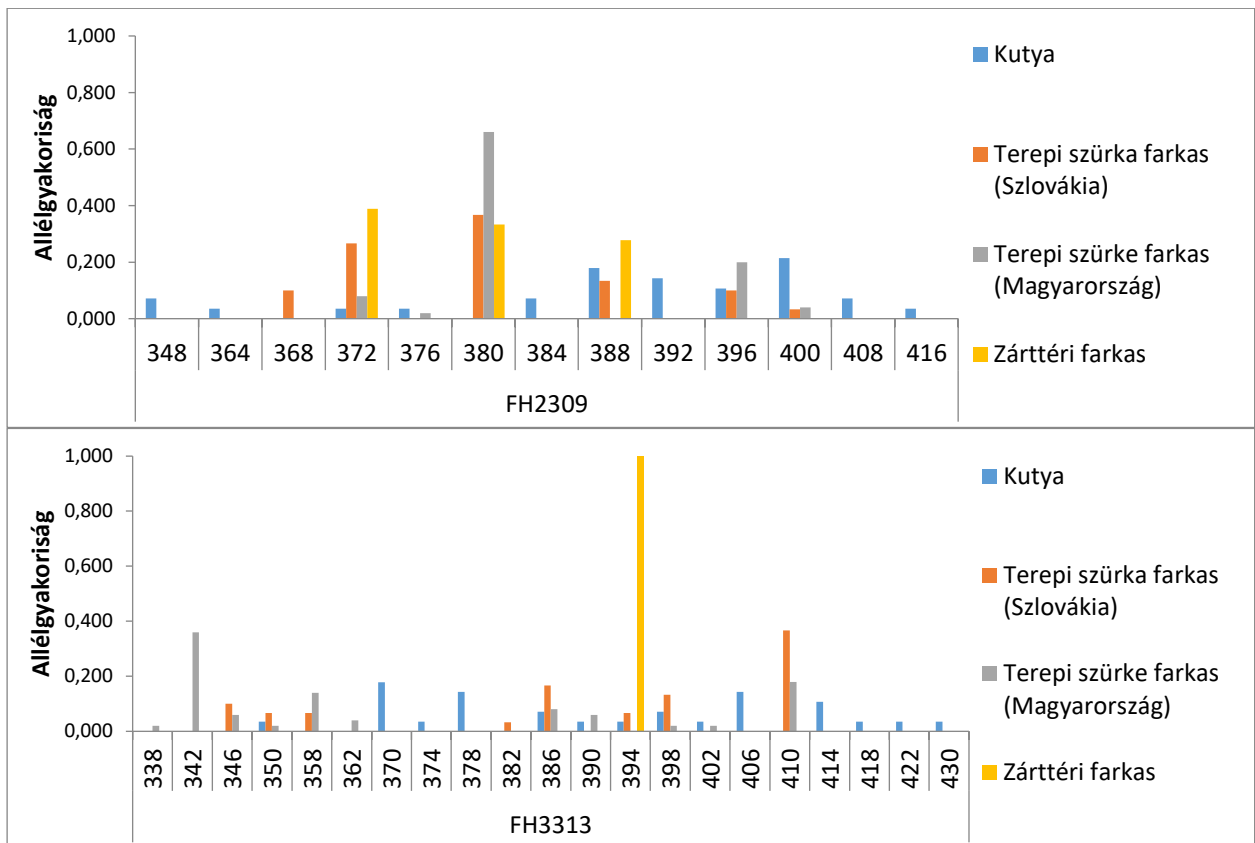
10.2. Melléklet (M2)

Az autoszómás STR markerek lókuszonkénti allélgyakoriság eloszlása a kutya, a terepen gyűjtött és szlovákiai szürke farkas, terepen gyűjtött magyarországi szürke farkas és a zárt térben tartott szürke farkas minták csoportjában. Az X tengelyen a vizsgált lókuszcsoport neve, illetve a lókuszon kimutatott allélhosszúságok láthatók, az Y tengelyen az allélhosszúságok gyakorisága.



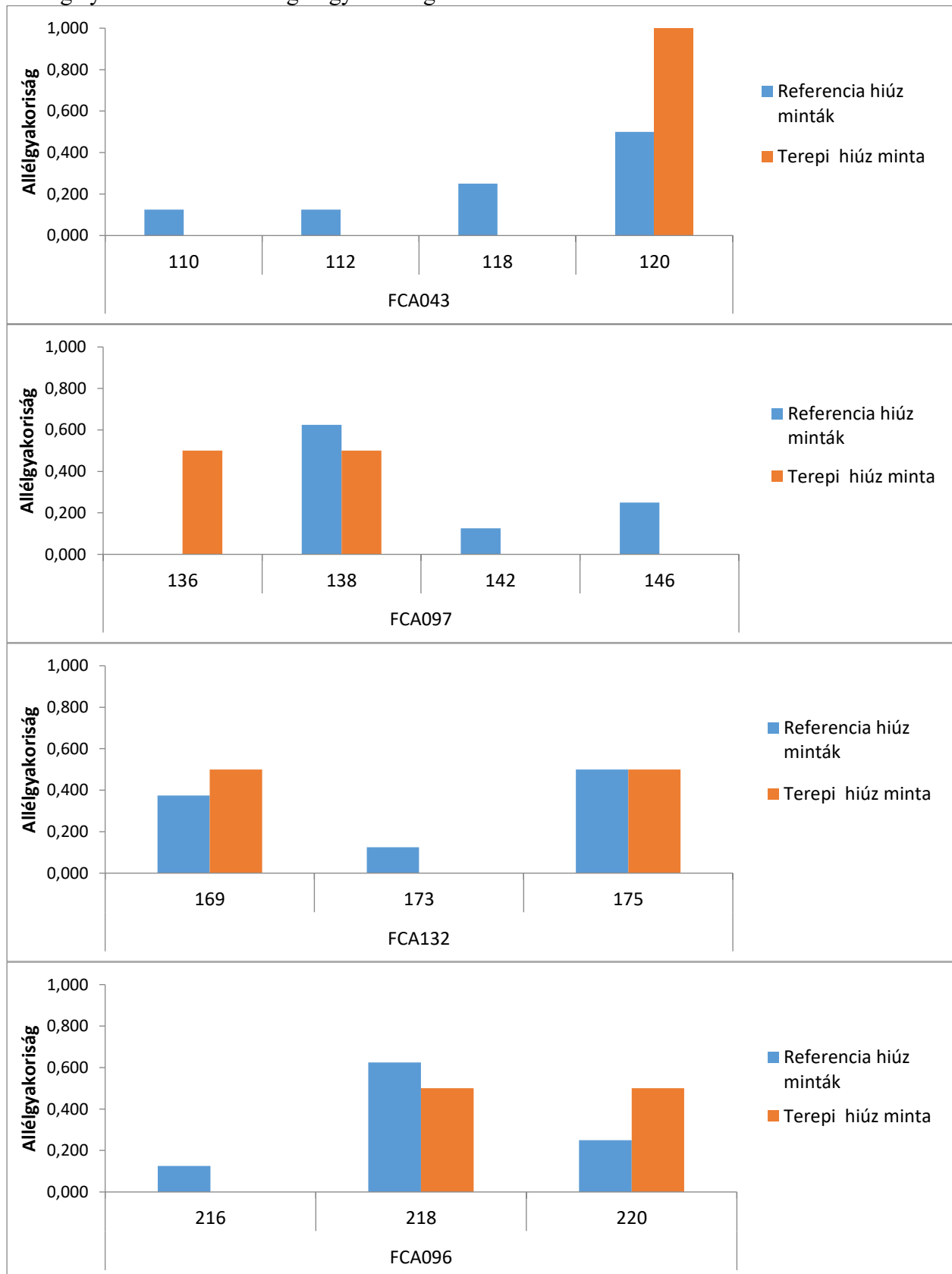


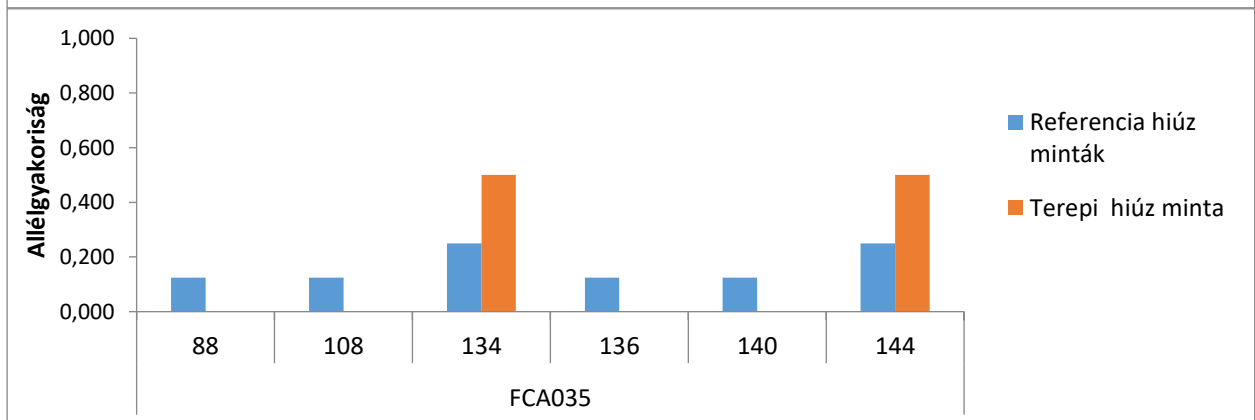
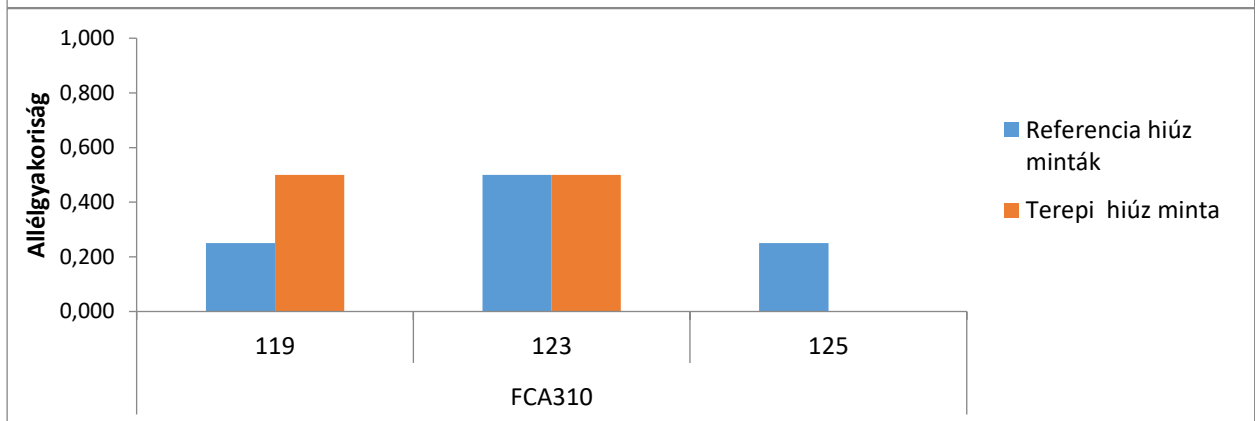
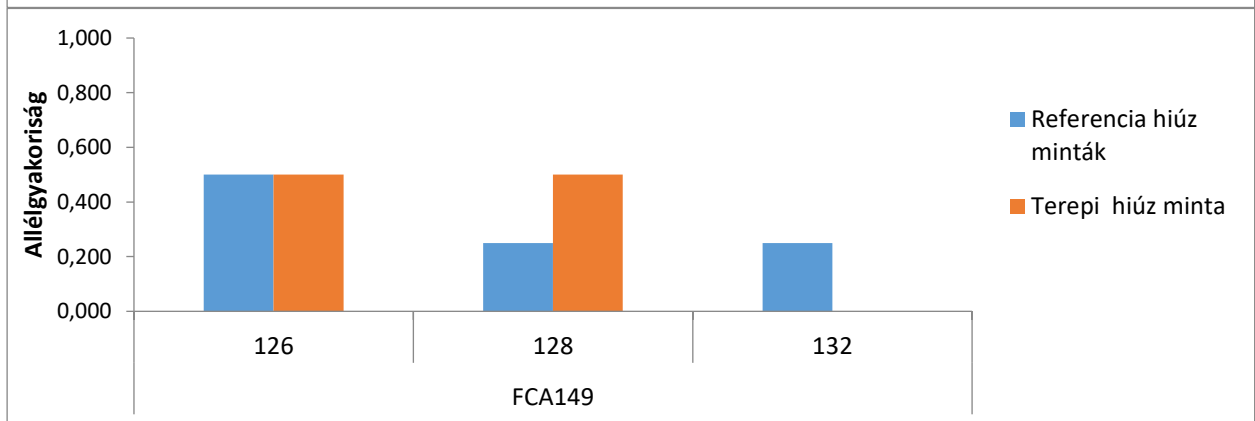
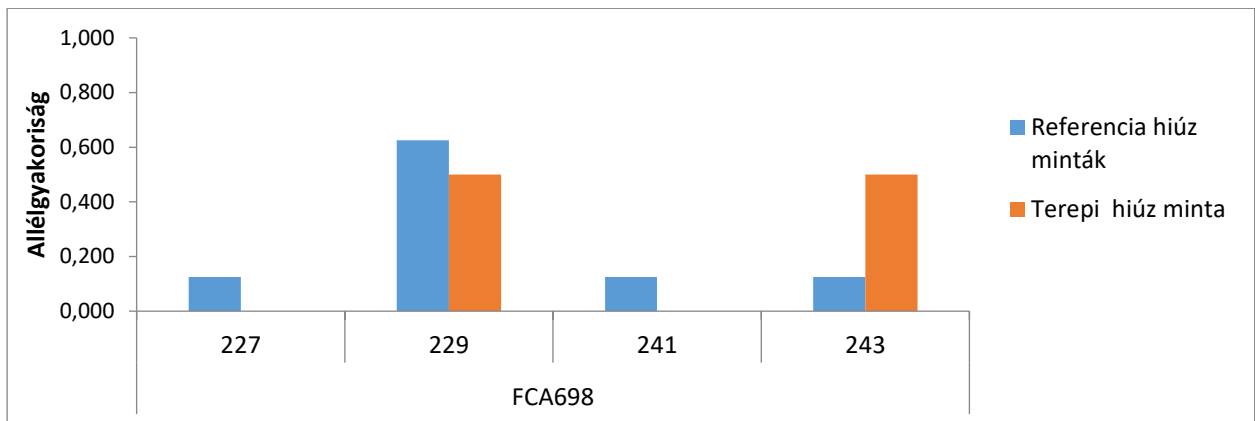


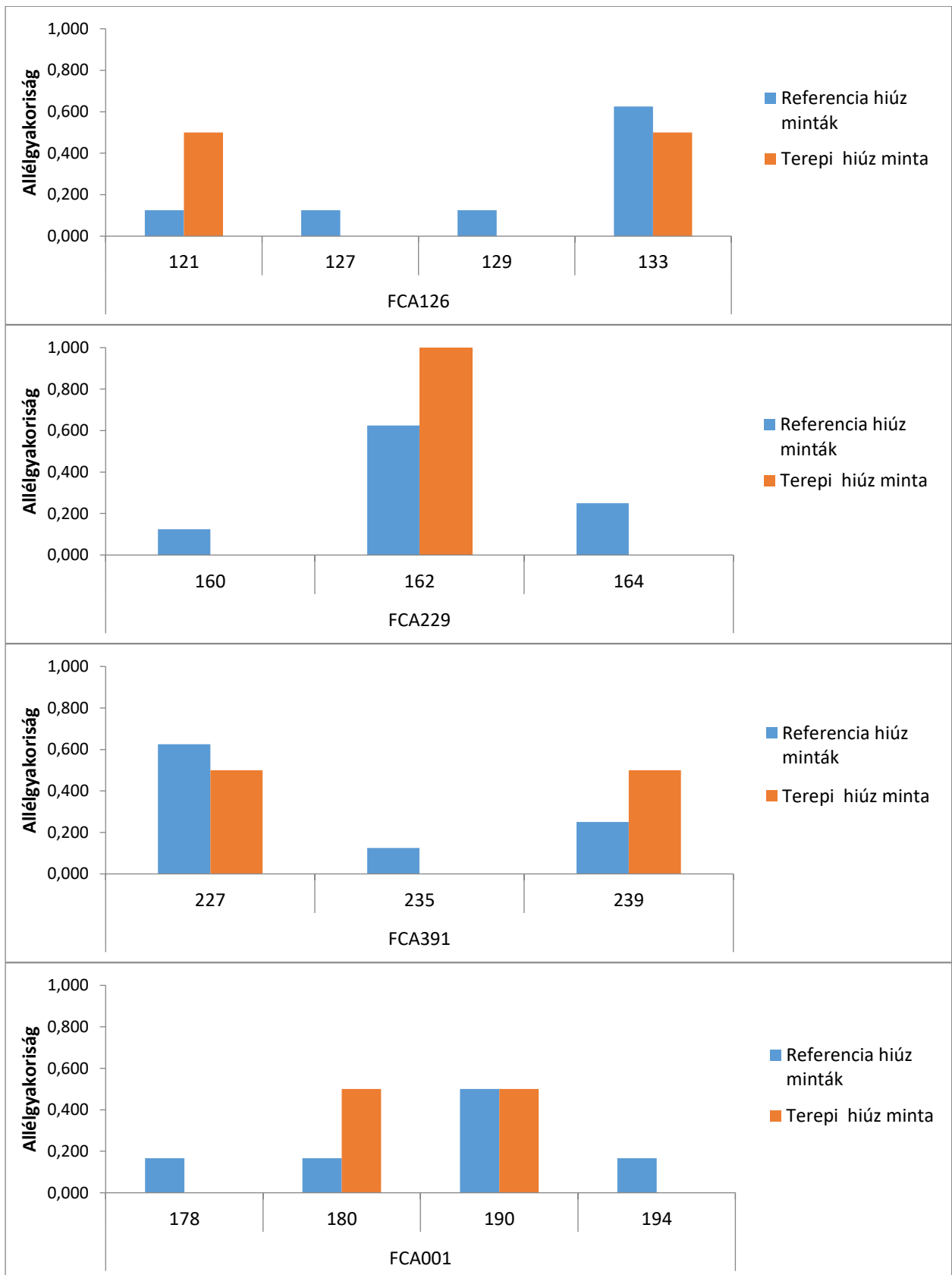


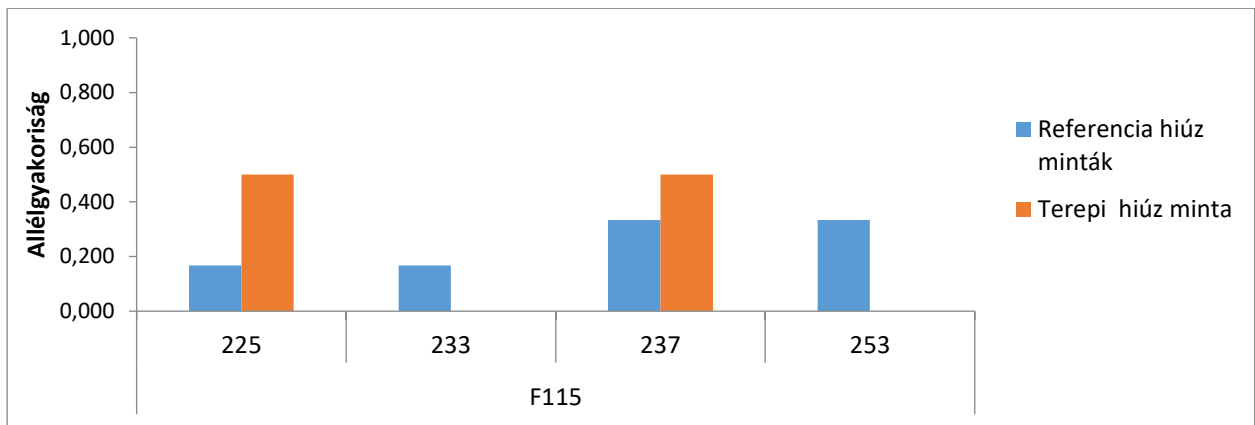
10.3. Melléklet (M3)

Az autoszómás STR markerek lókuszonkénti allélgyakoriság eloszlása az eurázsiai hiúz mintákon. Az X tengelyen a vizsgált lókuszt neve, illetve a lókuszon kimutatott allélhosszúságok láthatók, az Y tengelyen az allélhosszúságok gyakorisága.



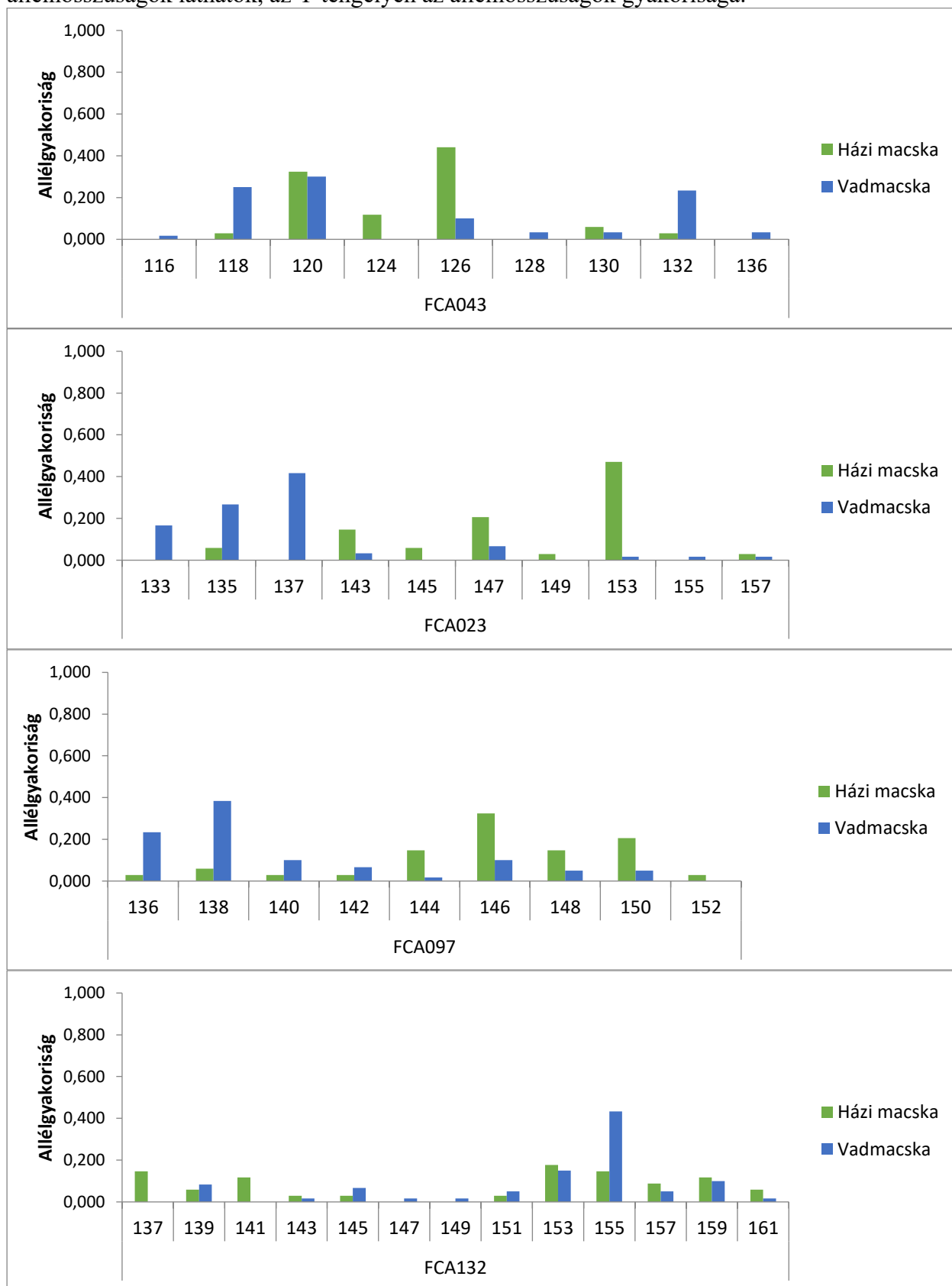


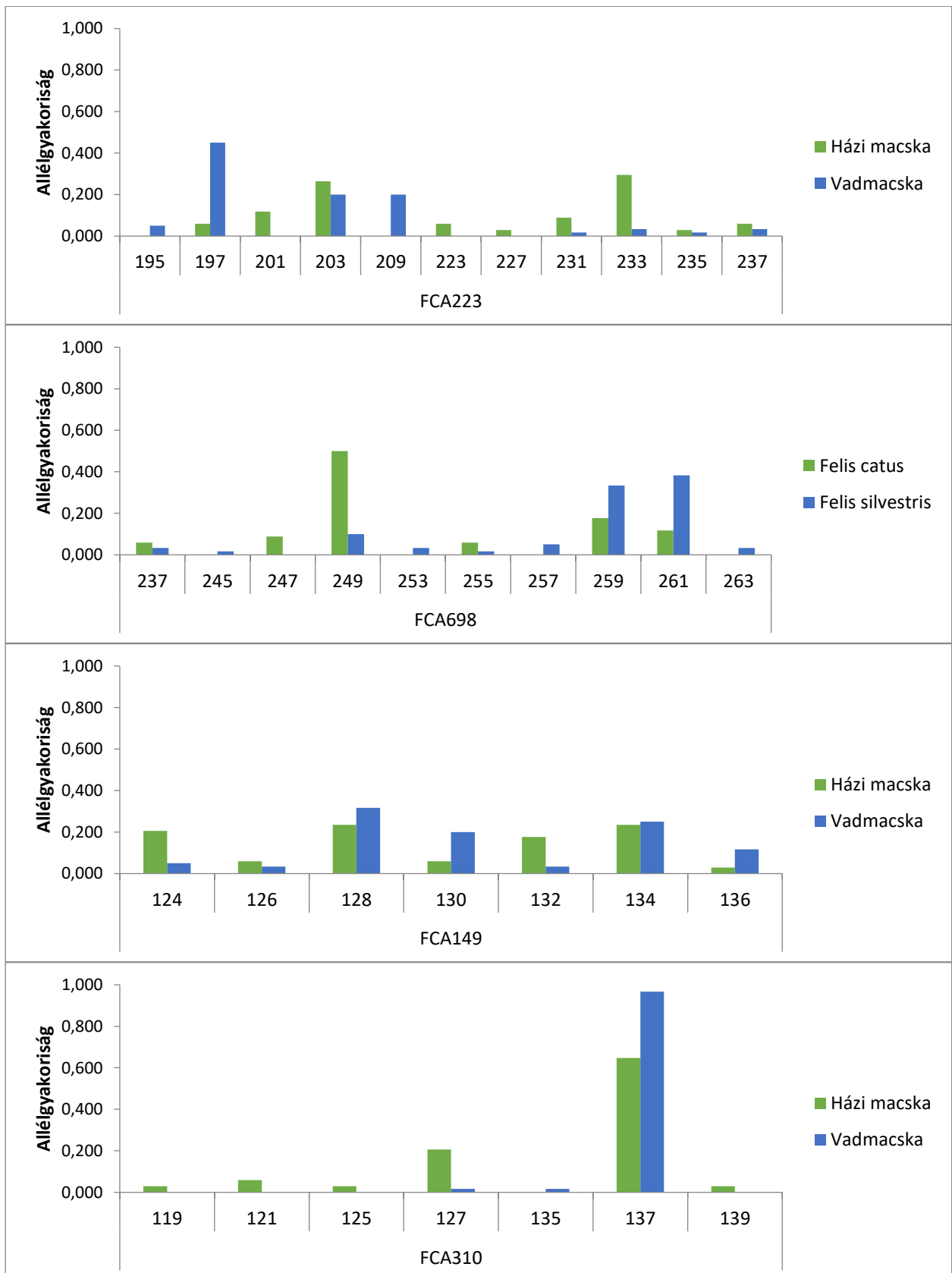


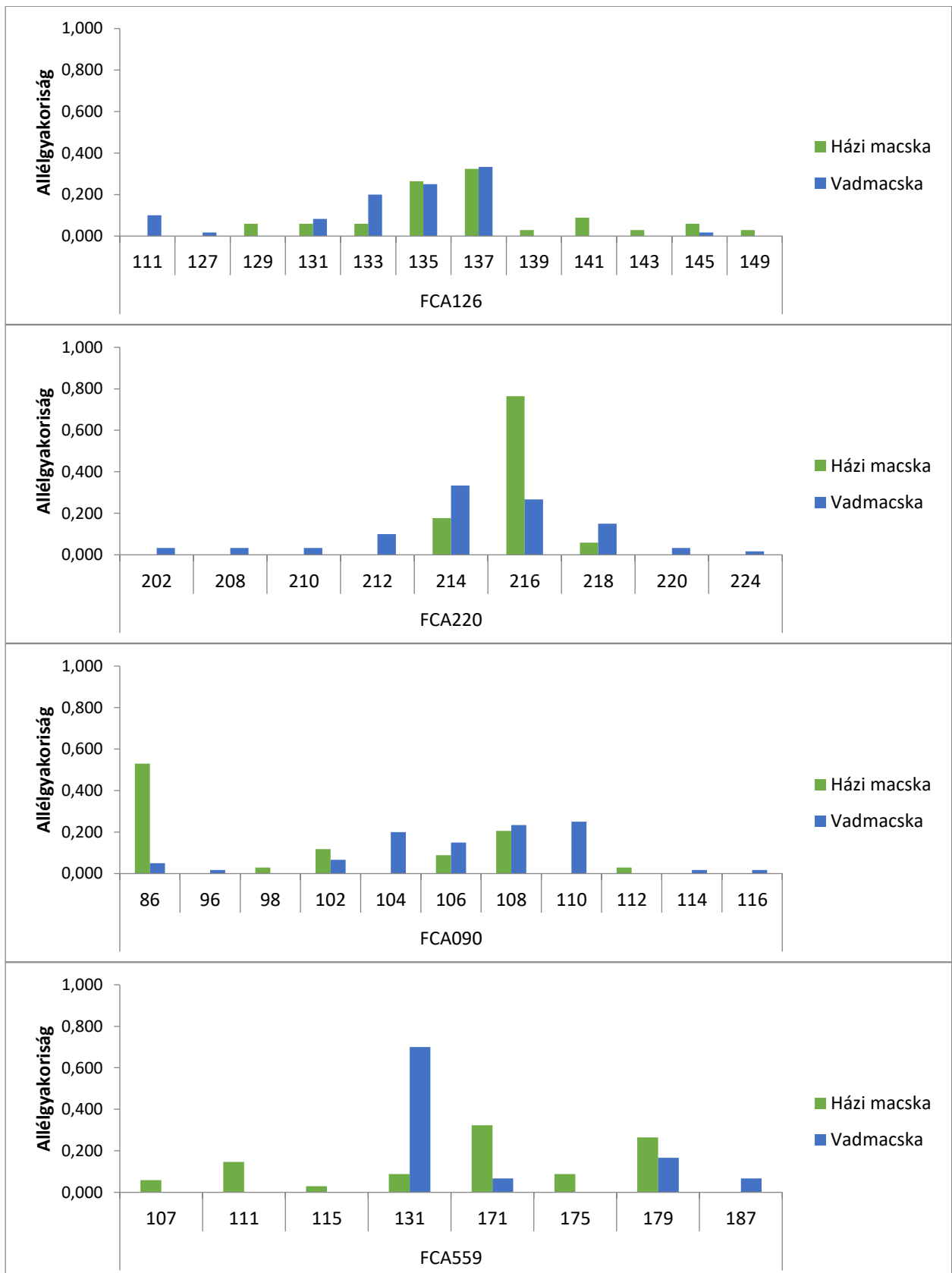


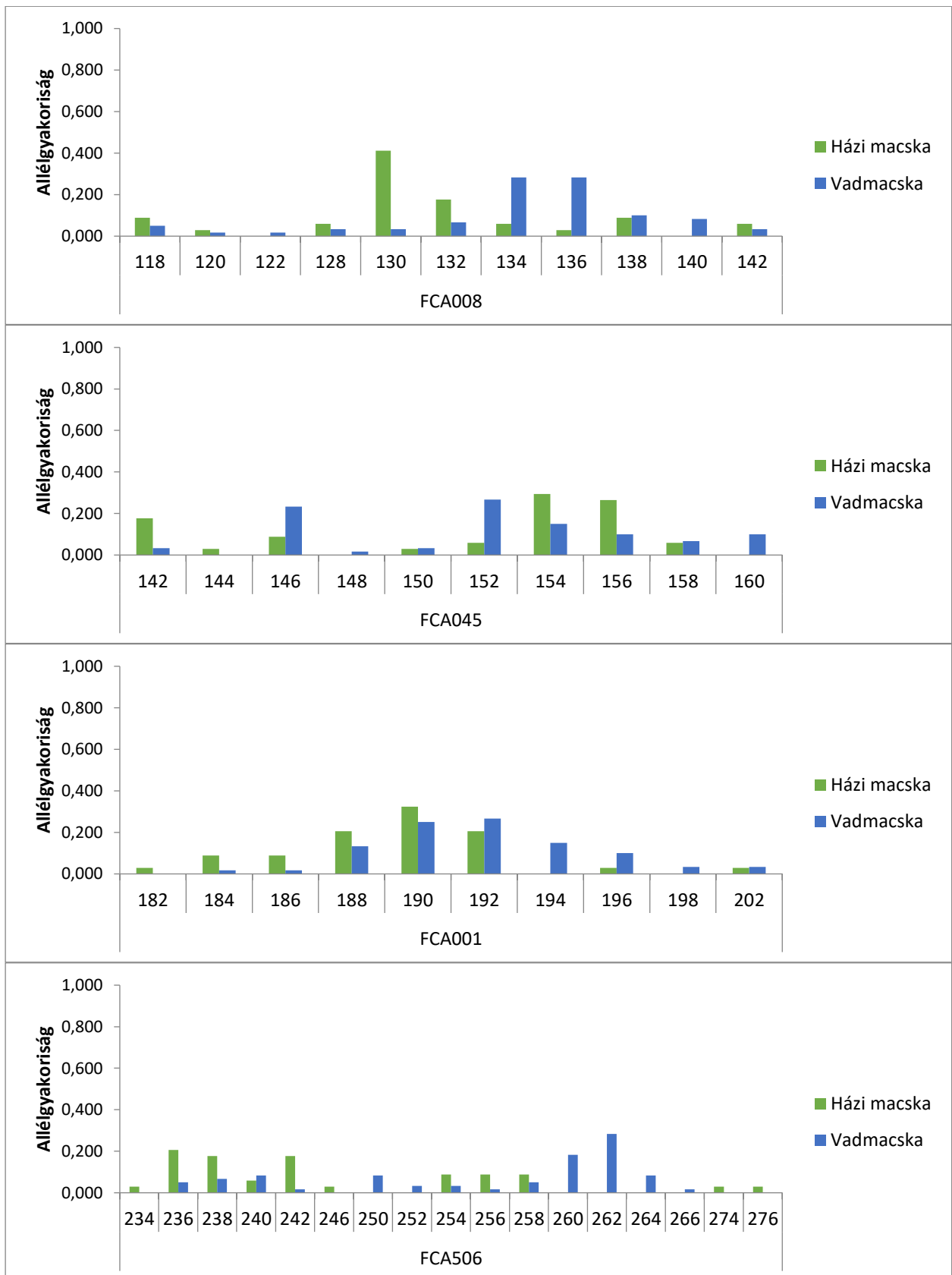
10.4. Melléklet (M4)

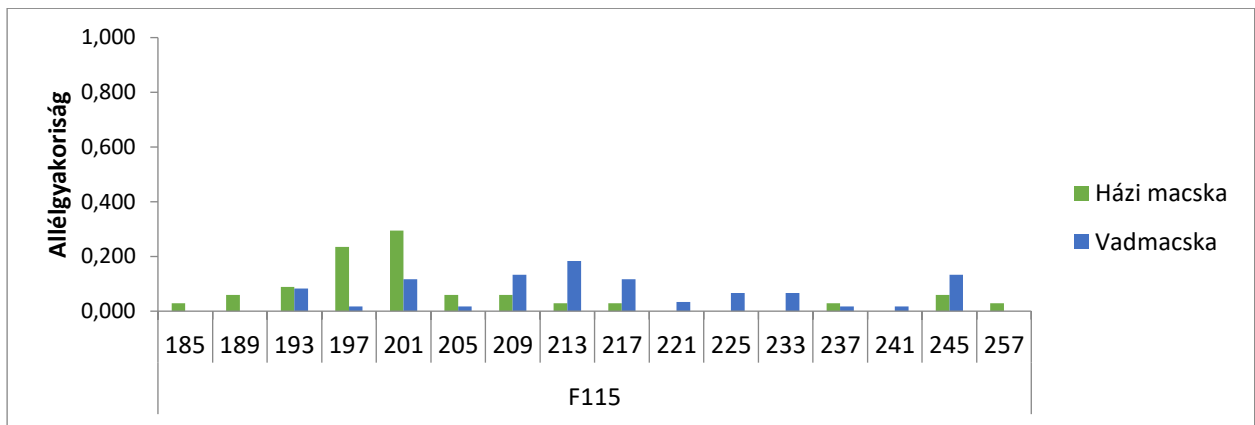
Az autoszómás STR markerek lókuszonkénti allélgyakoriság eloszlása a házi macskák és a vadmacskák csoportjában. Az X tengelyen a vizsgált lókusz neve, illetve a lókuszon kimutatott allélhosszúságok láthatók, az Y tengelyen az allélhosszúságok gyakorisága.











10.5. Melléklet (M5)

A macska gereznából izolált DNS minta genotípusának besorolása a GenAlEx program „Population Assignment” pontja alapján. A referencia mintákkal való összevetés alapján a megvizsgált gerezna minta nagyobb statisztikai valószínűséggel mutat egyezést a vadmacska referencia minták csoportjával.

Minta azonosító	Házi macska	Vadmacska	Hozzárendelt populáció
3476	-29,973	-23,149	Vadmacska

11. FONTOSABB TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

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

❖ **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 közlemények:

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

Az értekezés témájában megjelent impakt faktoral nem rendelkező ismeretterjesztő közlemények:

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

12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőimnek **Dr. Stéger Vikornak** és **Dr. Szemethy Lászlónak**, akik szakmai iránymutatásukkal segítették munkámat az évek folyamán. Dr. Stéger Viktor témavezetőmnek köszönöm továbbá, hogy doktori munkámat az Alkalmazott Vad- és Haszonállat Genomika csoportban végezhettem, mind az ösztöndíjas, mind az azt követő időben is.

A Bükki Nemzeti Park Igazgatóság területéről származó minták gyűjtésében köszönettel tartozom **Gombkötő Péternek** a Bükki Nemzeti Park Igazgatóság gerinces zoológiai szakreferensének, illetve a Bükki Nemzeti Park Igazgatóság Természetvédelmi Őrszolgálat munkatársainak, a teljesség igénye nélkül: **Illyés Evelinnek**, **Mlakár Péternek**, **Bartha Attilának** és **Domboróczki Gábornak**, akik munkájuk során szakszerű módon gyűjtötték és tárolták a genetikai vizsgálatra szánt mintákat.

Bedő Péternek, **Robin Riggnek** és a The Slovak Wildlife Society munkatársainak köszönöm, hogy lehetőséget nyújtottak szlovákiai szürke farkas minták felhasználásához, ezzel is emelve dolgozatom tudományos jelentőségét.

Darányi Lászlónak, **Bedő Péternek** és a Börzsöny Alapítvány tagjainak köszönettel tartozom az eurázsiai hiúz és szürke farkas minták gyűjtéséért a Börzsöny hegységben.

A disszertációban szereplő zárttéri farkas mintákat az Európa Vadvilágának Megmentéséért Alapítvány farkasaitól gyűjtöttem, ezért hálával tartozom **Dr. Újváry Dórának** és **Horkai Zoltánnak**.

Szlovákiából származó eurázsiai hiúz és szürke farkas minták gyűjtésében **Nagy Zoltán** a Nagyvad Hunting Vadászatszervező Iroda cégvezetője is segítséget nyújtott, azmit ez úton is szeretnék megköszönni Neki.

A referencia kutya és házi macska minták többsége az Állatorvostudományi Egyetem Patológia Tanszékéről származnak. A minták gyűjtéséért és rendelkezésemre bocsátásáért köszönettel tartozom **Dr. Német Zoltánnak** és **Pápai Zoltánnak**.

Köszönetemet szeretném kifejezni csoportunk egykori tagjának **Dr. Frank Krisztiánnak**, aki doktoranduszi munkám során végig ötleteivel, tanácsaival látott el és több bioinformatikai program elsajátításában is segített. Köszönöm továbbá a kutatócsoport volt és jelenlegi tagjainak, külön kiemelve **Heltai Botond**, **Szepesi Kinga** és **Ninausz Nóra** segítségét.

A nagytesű emlsős ragadozókkal kapcsolatos kutatómunkámat alapszakos hallgatóként kezdtem, szakdolgozati munkámmal, ahol **Dr. Heltai Miklós** volt a témavezetőm. Neki, illetve volt és jelenlegi munkatársainak **Dr. Patkó Lászlónak** és **Dr. Szabó Lászlónak** szintén szeretném megköszönni, hogy akkor elindítottak ezen az úton.

Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani családomnak, szüleimnek **Fehér Ildikónak** és **Fehér Árpádnak**, illetve feleségemnek **Fehér-Pásztor Adrienn-nek**, akik az évek folyamán mindvégig mellettem álltak és támogattak munkám befejezésében.