

Állatorvostudományi Egyetem

Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Tanszék

AZ IGAZSÁGÜGYI
ÁLLATGENETIKA HELYZETE
MAGYARORSZÁGON

Készítette: Kovács Flóra

Témavezető: dr. Zenke Petra

ÁTE

Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Tanszék
tudományos főmunkatárs

2020

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	2
MÉRFÖLDKÖVEK AZ IGAZSÁGÜGYI GENETIKÁBAN	3
AZ IGAZSÁGÜGY ÉS AZ ÁLLATOK TALÁLKOZÁSA	5
Az igazságügyi állatgenetika jelentősége	6
A vadvilág az igazságügy aspektusából	6
Kihívások az igazságszolgáltatásban	7
Az állatbántalmazások felderítésének jelentősége.....	11
A genetika szerepe az állattámadás eseteiben	12
AZ IGAZSÁGÜGYI ÁLLATGENETIKA HELYZETE MAGYARORSZÁGON	13
Az igazságügyi genetika fejlődése a kezdetektől napjainkig.....	13
Az állatgenetika helyzete a külföldi eredményekhez viszonyítva	15
STR-ek analízise.....	15
Kutya STR.....	16
Mitokondriális DNS.....	22
Az igazságügyi genetika jövője	28
ÖSSZEFOGLALÁS	29
FORENSIC ANIMAL GENETICS IN HUNGARY -SUMMARY	30
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	31
IRODALOMJEGYZÉK	32

Rövidítések jegyzéke

CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora)

– Washington-i Egyezmény

CR – kontroll régió

cyt b – citokróm b

DNS – deoxiribonukleinsav

ISFG (International Society for Forensic Genetics) – az Igazságügyi Genetika Nemzetközi Közössége

mtDNS – mitokondriális DNS

NGS (next generation sequencing) – következő generációs szekvenálás

PCR – polimeráz láncreakció

RFLP (restriction fragment length polymorphism) – a DNS enzimatisz hasításával keletkező DNS-szakaszok sokalakúsága

SSR (simple sequence repeats) – egyszerű szekvencia ismétlődések

SNP (single nucleotide polymorphism) – egyetlen bázismutáció okozta polimorfizmus

STR (short tandem repeat) – rövid, ismétlődő egységek számbeli különbségei alapján kialakult lokusz-polimorfizmus

MÉRFOLDKÖVEK AZ IGAZSÁGÜGYI GENETIKÁBAN

A genetika fejlődése és az egyre bővülő ismeretek alkalmazása megújította a forenzikus tudományokat és új lehetőségeket nyitott a bűnüldözés területén. Az 1960-as és 1970-es évek molekuláris biológiai fejlesztései, beleértve a restrikciós enzimeket, a Sanger-féle DNS szekvenálást és a southern blot technikát, lehetővé tették a tudósok számára az örökítőanyag nukleotid sorrendjének meghatározását. A 70-es évek végére detektálták a DNS polimorfizmusokat southern blottal, és 1980-ban megjelentek az első elemzések a magas polimorfizmusú DNS szakaszokról, ahol a polimorfizmus az eltérő allélhosszúságoknak volt köszönhető. Ezt követően 1984-ben Alec Jeffreys kidolgozott egy technikát, amivel ezeket a lokuszokat egyedazonosításra tudta felhasználni, úgynevezett DNS „ujjlenyomatokat” alkotva (Goodwin és mtsai, 2011a).

Az eljárás intakt DNS-t igényelt, amit restrikciós enzimekkel eltérő fragmentumokra hasítottak, majd gélelektroforézissel elválasztották az egyes darabokat. A fragmentumok mintázatát hibridizációval vizualizálták, így fedezték fel az RFLP (restrikciós fragmenthossz-polimorfizmusok) szakaszokat, amik egyedinek bizonyultak minden egyén esetében. Ezt az RFLP technikát tovább fejlesztve azonosították a specifikus miniszatellita lokuszokat, a genetikai variációk egyik fő forrását, amik lehetővé tették az egyének egy magasabb fokú megkülönböztetését (Cassidy és Gonzales, 2005).

A miniszatelliták hatásosnak bizonyultak, de számos tényező limitálta a használatukat: nagy mennyiségű DNS mintára volt szükség, a sérült DNS nem felelt meg és az analízis túl időigényes volt (Goodwin és mtsai, 2011a). A 90-es évekre az RFLP-t felváltotta egy új, pontosabb DNS genotipizálási módszer, ami a mikroszatellita vagy STR (short tandem repeats) szakaszok használatán alapult. Az STR-ek rövid, mindössze 2-6 bázispárból álló, tandemszerűen ismétlődő egységek, amik közvetlenül öröklődnek. Habár kevésbé polimorfok a miniszatellitákkal összevetve, hasonlóan jól használhatóak megkülönböztetésre vagy azonosításra több lokusz vizsgálatával. Előnyük, hogy kevesebb minta is elég, valamint részben degradált DNS is használható (Cassidy és Gonzales, 2005).

A következő mérföldkövet a genetika és a molekuláris biológiához köthető minden területen a PCR (polimeráz láncreakció) feltalálása jelentette 1985-ben, ami Kary Mullis kémikus nevéhez köthető (Mullis és Faloona, 1987). Az új technika jelentőségét figyelembe véve, 1993-ban kémiai Nobel-díjat kapott a felfedezéséért. A PCR segítségével lehetővé vált az egyes DNS szakaszok *in vitro* felszaporítása, ezáltal extrém kis mennyiségű minta is

analizálható, megfelelő körülmények között, akár egyetlen sejt is elég. A technika tovább fejlesztésével megnövekedett a DNS analízis érzékenysége és a használható igazságügyi minták skálája is szélesebb lett (Goodwin és mtsai, 2011a).

Az állatok azonosítását szolgáló módszerek fejlődése közel párhuzamosan zajlott a humán technikák fejlődésével. A humán azonosítási markerek fejlesztése közben a kutatók felismerték az ismétlődő DNS komponensek és az egyszerű szekvencia ismétlődések (short sequence repeats, SSR) jelenlétét minden eukarióta organizmusban. Hasonló hipervariabilitás és genetikai öröklődési mintázatok jellemezték ezeket a nem emberi szervezeteket, így lehetővé vált az egyedi azonosításuk és a származás ellenőrzésük is (Tautz, 1989).

A későbbi kutatások és fejlesztések eredményeként napjainkban egyre több állatfaj genomjában határoznak meg mikroszatellita régiókat, ezzel lehetővé téve a DNS profilok készítését. A vizsgált STR allélok kombinálása, minimalizálja a véletlen egyezéseket, ezáltal egyre megbízhatóbb bizonyítékokat szolgáltatnak az igazságügy számára (Andreassen és mtsai, 2012; Hadas és mtsai, 2016).

Említésre érdemesek még az egy pontos nukleotid polimorfizmusok (single nucleotide polymorphism, SNP), amik új lehetőségeket teremtenek az igazságügyi vizsgálatok terén. Az SNP-k egyetlen nukleotid megváltozásai a genomban, amelyek a populáció legalább 1%-ában előfordulnak. Megfelelő számú SNP együttes vizsgálata igen informatív lehet egyedazonosítási szempontból is (Goodwin és mtsai, 2011b). Házi állatok közül szarvasmarhában (Fernández és mtsai, 2013; 2014), kutyában (Webb és Allard, 2009), macskában (Brooks és mtsai, 2016), míg vadon élő állatoknál többek között tigrisben (Kitpipit és mtsai, 2012) és elefántban (Kitpipit és mtsai, 2017) tanulmányoztak SNP-ket egyed-, faj- és alfaj azonosítási célokból.

AZ IGAZSÁGÜGY ÉS AZ ÁLLATOK TALÁLKOZÁSA

A 13. században Sung Tz'u feljegyzései között található az első utalások állatok érintettségére emberi sérülések és halálesetek során, úgy mint ló, vagy bölény okozta agyontaposás; szamár paták nyomai; tigris, kígyó és más hüllők okozta harapás; rovarcsípések; valamint post-mortem kutyáktól, patkányoktól, rovaroktól eredő sérülések (McKnight, 1981).

Eleinte a technikát még csupán arra használták, hogy emberi bűntények helyszínein talált, gyaníthatóan állatokhoz köthető bizonyítékokat (vér, szőrszál) összekapcsoljanak egy potenciális állattal, annak megerősítése érdekében, hogy a bizonyítékok valóban állathoz köthetők és nem emberi eredetűek. Ez sokkal inkább azt a célt szolgálta, hogy megszüntesse a kapcsolatot a gyanúsított és a bűntény között, semhogy alátámassza azt (Parry és Stoll, 2020).

Jeffrey 1987-ben kiterjesztve munkáját kutyák és macskák DNS-ének genotipizálására hasonló SSR régiókat azonosított, mint a humán genomban fellelhetők. A mikroszatellita régiók meghatározása házi macskában (*Felis domesticatus*) vezetett az első esethez, amikor is állati eredetű DNS-t használtak bizonyítékként egy amerikai bírósági ügy során. A Prince Edward Island-en elkövetett gyilkossági ügy nyomozása során a bűntény helyszínén találtak egy bőrkabátot az áldozat vérével. A rendőrségnek azonban nem állt rendelkezésére bizonyíték, amivel össze tudta volna kapcsolni a fő gyanúsítottat (az elidegenedett élettársat) a bőrkabáttal. Ellenben több fehér szőrszálat is találtak a kabáton, amik nem emberi eredetűeknek bizonyultak. A szőrszálmintákból a mag nélküli sejtek hiányában nukleáris DNS nem nyerhető, de alkalmanként epithelsejtek maradhatnak a szőrszál gyökerén. Ebben az esetben a 27 mintából egyetlen szőrszálon sikerült ilyen sejteket találni és a kinyert DNS genotipizálása után kiderült, hogy azok macska eredetűek és megegyeznek a gyanúsított férfi szüleinek macskájával. Így sikerült összekapcsolni a gyanúsítottat a bőrkabáttal és az áldozattal, akit tárgyalás során el is ítélték (Menotti-Ramond és mtsai, 1997).

Az elmúlt 20 évben az STR régiók vizsgálatát nem csak kutyákra (Berger és mtsai., 2018) és macskákra (Schury és mtsai, 2014), de más házi állatokra is, mint például kerdőzökre (Goor és mtsai, 2009) és vadon élő állatokra (pl. barna medve (Andreassen és mtsai., 2012)) egyaránt kiterjesztették, ennek köszönhetően napjainkra számos igazságügyi esetben használják a mikroszatellitákat egyedi azonosításra, származás ellenőrzésre vagy akár populációs vizsgálatra.

Az igazságügyi állatgenetika jelentősége

Állatok, mint összekötő láncszemek mellett (ún. „csendes szemtanúk”, ahogy azt a macskaszőr azonosítása kapcsán láttuk) kétféleképpen lehetnek érintettek igazságügyi esetekben: lehetnek áldozatok és elkövetők egyaránt. Gyakoribb és sokrétűbb az előbbi szerep, ugyanis itt nem csupán az állatbántalmazásra kell gondolni, hanem ide sorolható az orvvadászat, az illegális állatkereskedelem és állattartás is (Cooper és Cooper 2007). A továbbiakban a vadon élő állatok és az igazságügy kapcsolatával, illetve az állatbántalmazás és állattámadások témakörével foglalkozom részletesebben.

A vadvilág az igazságügy aspektusából

Az utóbbi években megnövekedett az érdeklődés a vadállatokat érintő bűntények kivizsgálására, köszönhetően az egyre növekvő természetvédelmi és környezettudatos elveknek (Linacre, 2009). Az illegális állatkereskedelem és orvvadászat eközben egy megközelítőleg évi 12 milliárd USA dollárt termelő bűnügyi iparágga nőtte ki magát, amit mindössze a drog- és fegyverkereskedelem előz meg (Eccleston, 2007). Ezek a jogellenes bevételek képezik a fő forrását terrorista és katonai szervezetek alapításának, beleértve az Al-Kaidát, míg a csapdázás és az állatok lemészárlása a kihalás szélére sodorja az érintett fajtaikat. Fison (2011) cikke szerint bizonyítékokat találtak, miszerint az afrikai vadhússal és elefántcsonttal való illegális kereskedelemmel közvetlenül támogatnak erőszakos katonai alakulatokat.

A fentebb említett tények rávilágítanak a vadvilágon belül elkövetett bűntények felderítésének jelentőségére. A legelső ilyen célú kezdeményezés a CITES vagy más néven a washingtoni egyezmény (Convention on International Trade in Endangered Species Fauna and Flora - Egyezmény a veszélyeztetett vadon élő állat- és növényfajok nemzetközi kereskedelméről) 1975-ös aláírása volt. Ebben az évben 80 nemzet (jelenleg 183 tagot számlál) egyezséget kötött a nemzetközi állat- és növénykereskedelem ellenőrzött keretek közé foglalásáról, annak érdekében, hogy a kereskedelem ne veszélyeztethesse az egyes fajok fennmaradását. Ez a nemzetközi egyezmény ösztönözte az import és export törvények érvényesítését a listázott (veszélyeztetett, fenyegetett, védett) állatfajokra nézve, és hívta fel a figyelmet egy igazságügyi problémára: az illegális kereskedelemre a listázott fajok termékeivel. Mindez szükségessé tette a fajspecifikus azonosítást biztosító technológiák

kifejlesztését. Így alakult meg 1989-ben az első vadvilági és halászati esetekkel foglalkozó igazságügyi laboratórium az Egyesült Államokban (U.S. Fish and Wildlife Service), aminek ma is elkötelezett célja a megbízható eljárások kidolgozása az igazságügy szolgálata érdekében (Goddard, 2005).

A The Society for Wildlife Forensic Science nemzetközi szervezete 2009-es megalakulásával, megcélozta a forenzikus tudományok vadvilágot érintő területeinek egy átfogó és integrált tudománnyá alakítását, segítve ezzel a kutatók, laboránsok és bűnügyi nyomozók munkáját (<https://www.wildlifeforensicscience.org/>).

Kihívások az igazságszolgáltatásban

Évről-évre egyre több ország és állam válik érintetté illegális állatkereskedelemben vagy orvvadászatban, és egyre több bűntény esetében nem emberi eredetű, a világ minden tájáról származó és a föld teljes biodiverzitását felölelő bizonyítékokkal kell dolgozniuk a tudósoknak. Ebből adódóan nincs még egy ilyen területe a forenzikus tudományoknak, ami hasonlóan széles vizsgálati spektrummal bírna (Hawk, 2012). Összehasonlítva a humán igazságügyi esetekkel, ahol csak egyetlen fajtól származhat a minta, a vadállatokat érintő igazságügyi esetek többségében nincs szükség DNS analízisre, hiszen pl. egy szarvas vagy hal húsa a morfológiai jellegzetességek alapján sok esetben felismerhető. Azonban bizonyos állati termékeknél (pl. kaviár; szőr; vér; ruhadarabok állati termékekből, mint bundák vagy kígyóbőr termékek; elefántcsont tárgyak; kagyló ékszerek; agancs trófeák) ezek a jellegzetességek a feldolgozás folyamata során elvesznek, így nélkülözhetetlenné válik a genetikai módszerek alkalmazása (Moore és Frazier, 2019).

Az elsődleges kérdés ezeknél az igazságügyi nyomozásoknál, hogy történt-e bűntény vagy sem? Ennek megválaszolásához számos más, a mintával kapcsolatos kérdést szükséges megválaszolni, mint pl. „Mi ez?”, „Honnan származik?”, „Kihez köthető?”, „Megegyezik-e egy másik mintával?”. Ezek a kérdések maguk után vonják a fajazonosítás, populáció meghatározás, származás ellenőrzés és az egyes minták egyezésének probléma felvetését (Ogden és Linacre, 2015).

Szemben a humán laborokkal, ahol csak egyetlen fajra nézve szükséges az alkalmazott módszerek egységesítése és adatbázisok készítése a minőség-biztosítás érdekében, azokban a laboratóriumokban, ahol többféle állatfaj DNS mintáival dolgoznak, lényegesen nehezebb a kutatók dolga. A jogi szabályozásban érintett állatfajokra nézve a mintavételi nehézségek miatt az adatbázisok felállítása gyakran komplikált, ugyanis a veszélyeztetett fajok kis

egyedszámmal rendelkeznek és törvény által védettek (Moore és Frazier, 2019). A technológiai fejlődést tovább nehezíti, hogy az igazságügyi genetikusok és az állatokkal/növényekkel/ vadvilággal foglalkozó genetikusok sokáig egymástól izoláltan dolgoztak, ami nem tette lehetővé az igazságügyi munka során nélkülözhetetlen egységes módszertant és markerkészletet. Továbbá az orvvadászat és a természeti értékekkel történő illegális kereskedelem leggyakrabban a fejlődő országokban fordul elő, ahol a korlátozott anyagi források sem kedveznek a kivizsgálásuknak. Ezek az esetek rendszerint mindenhol alacsonyabb prioritásúak az emberek ellen elkövetett bűntényekhez képest (Iyengar, 2014).

Az egyedazonosítás során a véletlen egyezések elkerülése érdekében a kapott egyezéseket statisztikai becslésekkel szükséges megerősíteni, ami allélgyakoriság vizsgálatokat igényel (Johnson és mtsai, 2014). Habár több tanulmány is született már, ahol genetikai variációkat vizsgáltak különböző vadfajokban, kevés tanulmány foglalkozik az igazságügyben gyakorta használt mikroszatellitákkal (Tobe és mtsai, 2010).

Napjainkban a faj-azonosításhoz általában használt gének szekvenciáiról – mint a citokróm B (*cyt b*) és citokróm-oxidáz 1-es alegység (COI) mitokondriális DNS-en kódolt szekvenciái – az egyes adatbankok, így a European Molecular Biology Laboratory (EMBL) (www.ebi.ac.uk/embl) és GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) nagy számú adattal rendelkeznek (Iyengar, 2014). Hebert 2003-as indítványa alapján pedig – amikor javaslatot tett a COI gén 5' régiójának egy univerzális „vonalkód”-ként történő használatára – létre jött egy világméretű kezdeményezés és megalapítottak egy új adatbázist, a Barcode of Life Data (BOLD) rendszerét (Ratnasingham és Hebert, 2007). Az említett kezdeményezések ellenére a fajok lefedettsége egyelőre csekély, az adatok minősége meglehetősen változatos az egyes fajokat tekintve, és a PCR alapú módszerek technikai hibái (fals negatív/pozitív eredmények), valamint az egységesítés hiánya megnehezíti a bizonyítékok biztosítását az igazságszolgáltatáshoz (Amorim, 2019).

A fajazonosítási vizsgálatok során univerzális primerekkel sokszorosítják a kívánt specifikus régiót, majd a DNS szekvenálást követően kapott szekvenciát összevetik az adatbázisok referencia szekvenciáival. Az azonosítás sikeressége nagyban függ a rendelkezésre álló, megbízható referenciáktól (Jun és mtsai, 2011). A leggyakrabban használt adatbázisok a GenBank és BOLD adatbázisai, amik esetében – szemben a humán adatbázisokkal, ahová szigorú feltételek betartása mellett tudnak adatokat feltölteni a laboratóriumok – nincsenek szigorú korlátozások, szinte bármilyen személy/intézmény tölthet fel adatokat. A BOLD feltöltési rendszere némileg komolyabban szabályozott, mint a GenBank rendszere, viszont ez csak egyetlen génszakasz (COI) szekvenciáit gyűjti, míg a

GenBankban jóllehet gyengébb minőségellenőrzési feltételek mellett, de számos állatfaj számos génszakaszának szekvenciáját tartalmazza. Mindkét adatbázisban található nem a megfelelő fajhoz rendelt szekvenciák, téves azonosításból, kontaminációból, vagy a címkézés felcseréléséből adódóan. Éppen ezért, fontos a nyilvános adatbázisokból származó szekvenciák hitelesítése, azok igazságügyi célokból történő felhasználása előtt a publikációk alapos áttanulmányozásával az adott szekvenciáról, vagy a referencia fajtól származó szekvenciával való összevetése (Moore és Frazier, 2019).

Jelentős kihívást jelent az igazságügyi munka során a kevert vagy degradált DNS-t tartalmazó minták kezelése és kiértékelése. Az új generációs szekvenálási eljárások (next generation sequencing, NGS) mindkét esetre megoldást kínálhatnak, míg a rövidebb amplikonok alkalmazása célra vezető lehet degradált minták esetében (Mori és Matsumura, 2020). Ugyanakkor fontos figyelembe venni, hogy a hosszabb összehasonlítható szekvenciák megbízhatóbb eredményeket szolgáltatnak.

Nehezítő tényező a bizonyítékként szolgálható minták sokfélesége is. Ezek szakszerű gyűjtése, kezelése, tárolása és a megfelelő módszerekkel történő feldolgozása biztosítja hitelességüket, felhasználhatóságukat az igazságszolgáltatásban. Olykor a mintákat nagymértékben kontaminálják nyomhordozó felületek, környezeti szennyezések, bomlási folyamatok és számos egyéb tényezők, amik nehezítik, sőt akár el is lehetetlenítik a minták felismerését és azonosítását. Ugyanakkor egy, a bűnténnyel összefüggésbe hozható nyom tényleges jelentőségéről csak a vizsgálatokat követően kapható egyértelmű adat (Pádár és mtsai, 2020).

A bizonyíték típusa	DNS marker	Nyomozás típusa	Faj	Hivatkozás
főtt hús, belsőségek, szárított szövetek a vágódeszkaról	mtDNS (<i>cyt b</i>)	faj azonosítás (orvvadászat)	kék páva	(Gupta és mtsai, 2005)
agyar	STR-ek	földrajzi eredet meghatározása a lefoglalt elefántcsontnak (illegális kereskedelem)	afrikai elefánt	(Wasser és mtsai, 2007)
szövetminta	mtDNS (CR)	faj azonosítás (CITES és US Marine Mammal Protection Act megsértésének gyanúja)	ginkgofogú csőröscet	(Dalebout és mtsai, 2008)
epekövek	mtDNS (<i>cyt b</i>)	faj azonosítás (illegális kereskedelem)	örvös medve	(Peppin és mtsai, 2008)
krokodilbőr táska	mtDNS (COI)	faj azonosítás	krokodil	(Eaton és mtsai, 2010)
fogak	STR-ek	egyedazonosítás (illegális leölés)	farkas	(Caniglia et al., 2010)
elefántcsont tárgy	mtDNS (CR)	faj azonosítás (illegális kereskedelem)	ázsiai elefánt	(Gupta és mtsai; 2011)
vér	STR-ek	faj azonosítás (illegális csempészet)	dél-amerikai tevéfélék	(Di Rocco és mtsai, 2011)
tollak	STR-ek	egyedazonosítás	fehértorkú gyászka	(White és mtsai, 2012)
kaviár	mtDNS (<i>cyt b</i> , CR)	fajazonosítás (illegális kereskedelem, hamis címkézés)	valódi tokfélék és kanalastokfélék	(Doukakis és mtsai, 2012)
karom	mtDNS (<i>cyt b</i>)	fajazonosítás (illegális kereskedelem)	tigris	(Vipin és mtsai, 2016)

1. táblázat

Néhány példa publikációkra a vadvilágot érintő igazságügyi célból történt DNS-vizsgálatokról

Az állatbántalmazások felderítésének jelentősége

Az állatok bántalmazása igen széleskörűen értelmezett fogalom, ide sorolható minden olyan cselekedet, ami az állatnak szükségtelen fájdalmat, szenvedést, stresszt okoz és/vagy a halálához vezet. Így állatbántalmazás alatt nem csupán mérgezésre; különböző szűrő- és vágóeszközökkel, lőfegyverekkel okozott sérülésekre; állatviadalokra; vízbe fojtásra kell gondolni, hanem az állatok elhanyagolása vagy éppen felhalmozása is bántalmazásnak minősül.

Újabban egyre nagyobb figyelem fordul ezekre az esetekre, köszönhetően annak a felismerésnek, miszerint az állatbántalmazások gyakran összefüggésbe hozhatók számos emberek közötti erőszakos cselekedettel, így például a családon belüli erőszak eseteivel és a későbbiekben újabb erőszakos cselekedetek elkövetéséhez vezethetnek (Lockwood és Arkow, 2016).

Lacroix (1998) szerint a társállatokat ellen elkövetett erőszak ugyanúgy a családon belüli erőszakhoz sorolható, hiszen a legtöbb állattartó családtagként tekint a háziállatára. Egy családtag bántalmazásának látványa hátrányos következményekkel járhat a fiatalabb családtagok számára. Figyelembe véve a tanulási mechanizmusokat, az állatbántalmazás látványa otthon arra ösztönözheti a gyermekeket és későbbiekben a felnőtteket, hogy saját maguk is bántalmazóvá váljanak, legyen szó állatok vagy emberek bántalmazásáról (Chan és Wong, 2019).

Ugyanakkor több tanulmány is alátámasztja az összefüggést, miszerint az állatok elleni szexuális abúzus (*zoophilia*) indikátora a korábbi szexuális zaklatásnak vagy erőszaknak és egyúttal előre jelzője lehet egy potenciális jövőbeni szexuális erőszaknak és egyéb paraphiliák előfordulásának (Lockwood és Arkow, 2016).

Más kutatások az iskolai megfélemlítések, zaklatások és az állatbántalmazás összefüggését vizsgálták, pozitív kapcsolatot megállapítva mind fizikai, mind verbális megfélemlítés esetén, fiúknál és lányoknál egyaránt (Baldry 2005; Henry és Sanders, 2007).

A más bűncselekményekkel való kapcsolatot vizsgálva megállapítható, hogy az állatbántalmazást elkövetők hajlamosabbak inkább komolyabb bűncselekmények elkövetésére, – pl. vandalizmus, súlyos testi sértés, magántulajdon súlyos megsértése – mint enyhébb, nem erőszakos bűncselekmények elkövetésére (pl. bolti lopás) (Lucia és Killias, 2011).

Az állatkínzás gyerekkorban indikátora lehet az emberölési gondolatoknak és a későbbiekben súlyos, erőszakos bűncselekmények elkövetését vetítheti elő, míg felnőttkorban az emberölési indíttatások elfojtását szolgálhatja (DeLisi és mtsai, 2017).

Míg az állatbántalmazás speciális esetei, a kutyaviadatok ma már szinte elválaszthatatlanok más illegális cselekményektől, mint pl. a drogkereskedelemtől vagy az illegális fegyverkereskedelemtől (Lockwood, 2012).

A fent említett példákból jól látható, hogy ha állatok sérülnek, emberek is veszélyben vannak és vice versa. Éppen ezért jelentős ezeknek az igazságügyi eseteknek a felderítése, hogy az esetlegesen előforduló és az adott esethez kapcsolódó, egyéb bűncselekményekre is fény derüljön, vagy azok megelőzhetővé váljanak.

A genetika szerepe az állattámadás eseteiben

Habár az állattámadások (főként harapások) mindennapos esetek – az Egyesült Államokban például évente 4,5 millió kutyaharapás esetet regisztrálnak – nagyon kevés végzetes kimenetelű, megközelítőleg ebből 885 esetben van szükség orvosi ellátásra, és 238 eset végződik halállal a sérülések súlyossága miatt (Kanthaswamy, 2015). Ugyanakkor legtöbbször kisebb gyerekek és idős emberek az elszenvedői (De Munnynck és Van de Voorde, 2002). Az elkövetők lehetnek háziállatok és vadállatok egyaránt, a legtöbb esettanulmányban azonban kutyatámadásokról számolnak be, a szakirodalom kevesebb említést tesz a vadállatok okozta támadásokról (De Giorgio és mtsai, 2007).

A támadások helyszínéről gyűjtött DNS minták analízise erős bizonyítékokat szolgáltat az igazságügyi esetek megoldásához, az egyedi azonosítás révén pedig lehetőséget biztosít a támadást elkövető és potenciálisan veszélyes állatok beazonosításához és szükség esetén leöléséhez (De Munnynck és Van de Voorde, 2002; De Giorgio és mtsai, 2007; Clarke és Vandenberg, 2010).

AZ IGAZSÁGÜGYI ÁLLATGENETIKA HELYZETE MAGYARORSZÁGON

Az igazságügyi genetika történelmi evolúciója lényeges elvi és technológiai fejlődéseket vonultat fel, miközben egy széles és független tudományos területté alakult át, aminek egyre nehezebb meghatározni a kiindulási pontját. A modern társadalmak fejlődése kiszélesítette az igazságügy keretrendszerét, a megelőzésnek nagyobb teret biztosítva és a büntető eljárások nyomozásainak szigorúbb szabályozása révén (Arenas és mtsai, 2017).

Napjainkra ez a tudományterület megkerülhetetlen részévé vált az igazságszolgáltatásnak, hiszen a genetikai vizsgálatok új lehetőségeket teremtettek a bűntények felderítése során. A faj- és személyazonosítás mellett lehetőséget biztosít leszármazási vonalak nyomon követésére, helyszínek összekapcsolására, vagy akár kegyeleti (pl. tömegírok) vizsgálatokra egyaránt. Ezeket az eredményeket a tudásátadás korszerű eszközeivel a nyilvánosság elé tárva, fokozhatóvá válik a bűnmegelőzés sikeressége (Pádár és mtsai, 2019).

Az igazságügyi genetika fejlődése a kezdetektől napjainkig

Az igazságügyi célokból történő genetikai vizsgálatok alkalmazása az 1990-es évekig nyúlik vissza, amikor is az első feljegyzett nyomozás, ahol genetikai vizsgálatot végeztek, egy 1992-ben elkövetett gyilkosság volt. Az áldozat – egy etióp származású nő – holttestén több, gyaníthatóan kés okozta szúrásnyomot találtak. A nyomozó hatóság a bűntett helyszínéről gyűjtött cigarettavégeket és a gyanúsított személy vérszennyeződéseire utaló bűnjeleket. A feltételezett elkövetőtől vett vérmintát és a vérszennyeződéseket szerológiai vizsgálat alá vetették, majd a későbbiekben a szerológiai markerek mellett, a DNS közvetlen vizsgálatára is sor került (erre korábban nem volt precedens hazánkban), szekvencia- és hosszpolimorf markerek vizsgálatának keretein belül (Pádár és mtsai, 2019).

Gyakori eset, hogy a minta degradáltságából adódóan a nukleáris DNS vizsgálata nem hoz eredményt, ilyenkor célra vezető a mitokondriális DNS vizsgálata, hiszen mtDNS-t több másolatban tartalmaz egy sejt (Goodwin és mtsai, 2011c). Az első eset, amikor mitokondriális DNS-t vizsgáltak bűnügyi nyomozás során, egy részlegesen mumifikálódott holttest beazonosítása céljából történt, amiről feltételezték, hogy egy korábban eltűnt, fiatal

lány maradványa lehet. A lágyszöveti- és csontmaradványokból, valamint a feltételezett szülők vérmintájából végzett szerológiai vizsgálat azonban nem vezetett eredményre. A bíróság az STR markerek vizsgálatát követően kalkulált feltételezett apaság ill. anyaság valószínűségét nem tartotta elég erős bizonyítéknak, ekkor rendeltek el Magyarországon először anyai leszármazás vizsgálatot. A technológia hiányosságai miatt a vizsgálatot a római Università Cattolica del Sacro Cuore közreműködésével végezték el és a minták egyezését állapították meg (Pádár és mtsai, 2019).

Míg az anyai leszármazás vizsgálatához a mtDNS használható, a férfiági leszármazás vizsgálatához az Y kromoszóma vehető igénybe. Kettő régiót leszámítva, a kromoszóma 95%-a nem rekombináns, ezáltal férfi specifikus és (a mutációktól eltekintve) változatlanul öröklődik apáról fiúra. Ennek köszönhetően felhasználható apasági tesztekhez azoknál az eseteknél is, mikor a feltételezett apa nem elérhető, elegendő egy férfi rokontól vett minta is. Ugyanakkor eredményesen használható szexuális bűncselekmények nyomozása során, amikor kevert DNS mintával kell dolgozni (Goodwin és mtsai, 2011d).

Az első eset hazánkban, ahol a férfiági leszármazási markerek igénybe vételével sikeresen összekapcsoltak több rokonságban álló férfit, több helyszínen, több időpontban elkövetett bűncselekmények ügyében, a 2008-ban történt „romagyilkosságok” esete volt. Jól bizonyítja a fejlődést, – ahogy a genetikai vizsgálatok egyre nagyobb támogatást és hatékonyabb bizonyítást nyújtottak a bűnüldözés számára – a sikeres megoldása annak a szintén 2008-as kiskunlacházi gyilkosságnak, ahol hasonló genetikai profil-meghatározással és férfi leszármazási markerek használatával, ugyan még adatbázis nélkül, a gyanúsítottak tömeges szűrésével, de az elkövető sikeres azonosításával zárult. 2013-ra már rendelkezésre állt egy bűnügyi DNS nyilvántartás, ami tovább növelte a nyomozások sikerességét (Pádár és mtsai, 2019).

Az ivari kromoszómák és a mitokondriális DNS vizsgálatok új lehetőségeknek adtak teret az összetett, több személytől származó minták azonosítása terén. Míg korábban csupán az időben nem változó tulajdonságokra fókuszáltak a kutatók, újabban jelentős figyelem fordul az ún. gyorsan mutálódó lokuszokra, ezekkel ugyanis lehetővé válik a közeli leszármazási vonalak megkülönböztetése egyaránt. A biallélikus markerek úgy, mint az SNP-k és az inzerció/deléción polimorfizmusok, az egyedazonosítás szintjét átlépve, választ adhatnak külső megjelenéssel (fenotípusos), biogeográfiai eredettel, vagy akár metabolikus sajátossággal kapcsolatos kérdésekre is (Pádár és mtsai, 2020).

Az állatgenetika helyzete a külföldi eredményekhez viszonyítva

Egy 2012-es felmérés szerint, több mint 66 millió macskát és 60 millió kutyát tartanak házi kedvencként az Európai Unióban. Ugyanez a felmérés 223 millióra becsüli a háziállatként tartott kutyák és 220 millióra a macskák számát világszerte. Figyelembe véve, hogy majdnem minden háztartásban előfordul egy társállat, a kutya- ill. macskaszőr és a száraz, levált hámsejtek a leggyakoribb nyomok a bűntettek helyszínein. Ezek a bizonyítékok gyakran keverednek a humán eredetű genetikai bizonyítékokkal, ezáltal fontos a kevert mintákból nyert különböző eredetű DNS-ek hatékony elkülönítése.

Az emberi és állati eredetű minták analízise és a kapott eredmények interpretálása hasonló metódusokon alapszik, ami elősegítette az újabban egyre nagyobb tudományos figyelem kialakulását a nem emberi eredetű minták vizsgálatát illetően. A fejlesztések, amik lehetővé tették a limitált mennyiségű vagy degradált DNS-t tartalmazó mintákból történő adat kinyerését, az egyre megbízhatóbb eljárások a faj- és egyedazonosítás terén és a DNS teszt eredményeinek statisztikai megerősítése egyaránt hozzájárult az állati eredetű bizonyítékok megemelkedett használatához az igazságszolgáltatásban (Kanthaswamy, 2015).

STR-ek analízise

Az igazságügyben használt STR szakaszok 4 vagy 5 bázispár hosszú ismétlődő egységekből állnak, – ahol az ismétlődések száma adja az allélek elnevezését – és legtöbbször nem hosszabbak 350 bázispárnál. Habár több STR régiót felderítettek és vizsgáltak már, az igazságügyi munka során ennél jóval kevesebbet (kb. 20 STR-t) alkalmaznak rutinszerűen. A megfelelő lokuszok kiválasztása során figyelembe vették azok sokszorosíthatóságát PCR-el, a kapott másolat-mennyiséget és a műtermékek megjelenésének szintjét; az alléljeik megkülönböztethetőségét, illetve az esetleges kapcsoltságot más régiókkal (Goodwin és mtsai, 2011e).

Napjainkra számos emlősfaj esetében születtek tanulmányok STR szakaszok vizsgálatáról és azok potenciális igazságügyi célokra történő használatának hatékonyságáról, pl. kutya (Eichmann és mtsai, 2004; 2005), macska (Alama és mtsai, 2018), galamb (Lee és mtsai, 2007), szarvasmarha (Goor és mtsai, 2009), ló (Dimsoski, 2003) és nagymacskák (Singh és mtsai, 2004; Zou és mtsai, 2015) esetében. Az

alkalmazhatónak bizonyult STR lokuszok kiválasztását, ezek genotipizáló csomagokba, ún. kit-ekbe történő integrálása követte. Ilyen kit-ek elérhetőek például kutyák, szarvasmarhák vagy lovak számára (Kanthaswamy, 2015).

Kutya STR

A hiteles adatokat szolgáltató, megbízható STR régiók megtalálásához nélkülözhetetlen a faj-specifikus primerek használata, amik a kevert, nagyobb mennyiségű humán DNS-t is tartalmazó minták esetében is megbízhatóan működnek. Eichmann és mtsai (2004) egy tanulmányukban 15 STR régió specifikusságát tesztelték ebből a célból, ahol a DNS mintákat kutyaharapás okozta sérülésekből vették, amikben nagymértékben keveredik emberi és állati DNS. A vizsgálat eredményeként a kutya STR-ek sokszorosítását nem befolyásolta 100 ng humán DNS jelenléte és az STR régiók értelmezhető profilokat szolgáltattak.

A kedvező eredményeket követően a markerek egyedi azonosításra való használhatóságát is bizonyítani kell, ehhez Eichmann és mtsai (2005), a korábban vizsgált 15 markert – kiegészítve 2 ivarhoz kapcsolt markerrel (SRY, CHR.X) – további vizsgálatnak vetették alá. Százharminc kutya mintáját elemezve nem találtak kapcsoltságot a vizsgált lokuszok között, ugyanakkor a heterozigotitást vizsgálva megbecsülték azt a minimum marker számot (10 darab), ami az azonosság nagy biztonsággal történő megállapításához szükséges. Több marker is ígéretesnek bizonyult igazságügyi célokra, azonban a fajtaspecifikus különbségek további vizsgálatra szorulnak.

A genetikai tesztek eredményeinek megbízhatóságát és súlyát nélkülözhetetlen interpretálni egy bűnügyi eljárás során, ehhez pedig nélkülözhetetlenek a populációt érintő vizsgálatok és allélgyakoriság felmérések. Az első ilyen célú publikációban, ami populációs adatok generálására irányult, 18 STR szakaszt és egy ivarhoz kapcsolt lokuszt vizsgáltak az Egyesült Államokban 236 fajtatiszta és 431 keverék kutyától mintát véve, az STR szakaszok diverzitására valamint a fajtatiszta és keverék kutyák közötti genetikai felosztásra figyelmet fordítva. Megállapítva a fajtára és földrajzi régióra tekintet nélküli magas diverzitását a kombinált 18 lokuszhoz, igazolták ezek igazságügyi és rokonsági vizsgálatokhoz való alkalmasságát (Kanthaswamy és mtsai, 2009). Az évek során az Egyesült Királyságban (Ogden és mtsai, 2012), Németországban, Ausztriában és Svájcban (Berger és mtsai, 2019), Koreában (Moon és mtsai, 2016) és Magyarországon (Zenke és mtsai, 2011) is születtek hasonló populációs vizsgálatok, a különböző országok különböző kutya populációinak

felmérése során felállított adatbázisokban az egyes genetikai paraméterek, allélgyakoriságok összehasonlítása pedig új, hasznos információkat nyújthat a genetikai tesztek eredményeinek kiértékelése során.

A DNS tipizáló eljárások standardizálása szintén erősíti a bizonyítékok hitelességét, ebből a célból publikálta az ajánlásait az ISFG (International Society for Forensic Genetics) 2011-ben a humán gyakorlaton alapulva, a korábbi hiányosságok kiküszöbölésére. Az ajánlások között szerepelt a lehetőség szerinti tetranukleotid STR-ek használata; a primerek esetében a genetikai lokáció feltüntetése (univerzális vagy fajspecifikus primerek elkülönítése). Tervezésüknél a szekvenciák érvényesítése (különösen fontos, ha egy nyílt adatbázisból vett adat), specifikusságuk, érzékenységük és reprodukálhatóságuk igazolása. Továbbá minden primer esetében, amit fajazonosításra használnak elengedhetetlenek a fajon belüli és fajok közötti vizsgálatok. A pontos allélbesoroláshoz pedig szekvenált allél létrákat kell felállítani (kiemelve az ismétlődések számát, mint alap, ellentétben a bázispár számmal). Valamint STR-eket használva származás ellenőrzés vizsgálatokor, mutációs valószínűségeket kell kalkulálni (család tanulmányokkal vizsgálható); és allél-gyakoriság adatbázisokat létrehozni kellő számú, reprezentatív mintából (Linacre és mtsai, 2011).

Az első érvényesített, az igazságügyi munkába sikeresen integrált és ennek köszönhetően az amerikai bíróságokon elfogadott 15 tetranukleotid STR markerből és egy ivarhoz kapcsolt markerből álló rendszer, a DogFiler volt egy jól sokszorosítható, magas megkülönböztető tulajdonsággal és pontossággal bíró rendszer, amihez allél létrát is generáltak, ezáltal ez volt az első publikált állati DNS-t tesztelő kit, ami teljesen hasonlít a humán eljárásokhoz (Wictum és mtsai, 2013).

Berger és mtsai (2014) a korábban említett ISFG ajánlásokat figyelembe véve vizsgálta két STR rendszer (összesen 13 STR + 2 ivarhoz kapcsolt marker) eredményességét kutya DNS minták igazságügyi azonosítása céljából. Összesen 295 németországi és ausztriai mintával dolgozva populációs genetikai paramétereket kalkuláltak, és a markereket megbízhatónak és rutinszerűen sokszorosíthatónak találták. A minták analizálását két másik laborban is végrehajtották teljesen egyező genotípusokat kapva. Az érvényesített rendszerek magas érzékenysége egyértelműen rámutat a primerek gondos megválasztásának fontosságára ahhoz, hogy optimális legyen a sokszorosítás hatékonysága és lehető legrövidebb a másolatok hossza. Az érvényesítés érdekében a tanulmány kitért az ISFG ajánlások között említett fajspecifikusság vizsgálatokra is, és igazolta a kiválasztott STR markerek specifikusságát az ember körül előforduló egyéb állatok (macska, törpe nyúl) és a kutyával rokon fajok (róka, nyestkutya) esetében. Továbbá felismerve az egységesítés egyéb

hiányosságait, javaslatot tettek egy általánosan elfogadott allél nomenklatúra bevezetésére és az allél létrák, mint fontos referencia anyagok széleskörűen elérhetővé tételére, hogy a laborok közötti összehasonlítás elérhetővé váljon. Ennek az előrehaladásnak az érdekében a saját vizsgálati eredményeikből származó allél létrákat harmadik felek számára is hozzáférhetővé tették, a tudományos közösséget bátorítva ezzel hasonló erőfeszítések tételére a nem-humán eredetű DNS-t vizsgáló módszerek fejlesztése terén. Ugyanakkor felhívták a figyelmet az erőteljes szelektív nyomás és tenyésztési menedzsment miatt a populációk meglehetősen magas beltenyésztettségére és ezáltal a genetikai diverzitás egy részének elvesztésére.

Az STR-ek fajspecifikus tulajdonságuk mellett bizonyítottan fajtaspecifikus mintázatokat is mutatnak, ezáltal alkalmasak lehetnek az egyes kutyafajták elkülönítésére. Egy DACH országok (Németország, Ausztria, Svájc) laborjai által kifejlesztett, egyazonosításra sikeresen elfogadtatott és az ISFG ajánlásaival kiegészített, egységesített, 13 STR lokusból álló rendszer tagjait vizsgálva fajtaazonosítási célokból kedvező eredményt kaptak. A régió 23 leggyakoribb kutyafajtája könnyen megkülönböztethetőnek bizonyult a 13 STR használatával. Azonban az eredmények kiértékelését limitálják a közeli rokonságban álló fajták, ezekben az esetekben megoldást jelenthet több mintából, több vizsgálat lefuttatása. A publikáció igazolta a fajták közötti elegendően nagy genetikai változatosság meglétét az STR-ekkel történő fajtaazonosításhoz, ugyanakkor az ilyen célú vizsgálatok megbízhatóságának növeléséhez szükségesek a megfelelő referencia adatbázisok, fajtaspecifikus allél gyakoriságokkal (Berger és mtsai, 2018).

A fent említett példák határozottan alátámasztják az STR-ek igazságügyi célokból történő használatának jelentőségét és hatékonyságát, azonban az eredmények interpretálását több tényező is erősen korlátozhatja akár a mintavétel, akár a laboratóriumi analízis során. Az egyik legnagyobb kihívást a mintából kinyerhető DNS degradáltsága jelenti. Erre a problémára megoldást kínálhat a mini-STR lokuszok használata; amik rövidebb másolatokat eredményeznek, illetve az alacsony kópiaszámú minták újrakopioszorítása is elősegítheti a megfelelő alléldetektálást és következésképpen az eredményes profilok kinyerését. A módszert bélsár minták esetében érdemes lehet alkalmazni, ugyanis az ezekből nyerhető örökítőanyag gyakran igen minimális mennyiségű és degradált (Kun és mtsai, 2013). Megoldást jelenthet továbbá a direkt PCR eljárás, amikor nem kezelik a mintákat a PCR sokszorosítás előtt, ennek köszönhetően nem veszik el DNS a kivonási eljárások közben, így a DNS hozam növelhető, míg az időráfordítás és a költségek csökkenthetőek (Blackie és mtsai, 2015).

Jól láthatóan egyre több törekvés irányul az állati eredetű DNS minták analizálásának pontosabbá, eredményesebbé és megbízhatóbbá tételére, a legtöbb laborban viszont továbbra is technológiai és anyagi hiányosságok szabnak keretet a fejlesztéseknek. A laborok többsége az igazságszolgáltatási tevékenységek ellátása mellett nagyobb hányadában lát el egyéb feladatokat (pl. származás ellenőrzés, kutatás), így nem minden labor számára pragmatikus az akkreditáció. A referencia adatbázisok felállítása költséges és időigényes, a laborok pedig olykor nem érdekeltek az adataik megosztásában. Mindezen nehézségek ellenére az eljárások standardizálása folyamatosan zajlik, a degradált vagy kis mennyiségű DNS-t tartalmazó minták kimutatására is alkalmas módszerek, valamint az egyed- és fajazonosítási procedúrák fejlesztése, és az eredmények statisztikai megerősítések általi hitelesítése biztosítja az állati eredetű bizonyítékok megemelkedett használatát az igazságszolgáltatásban (Kanthaswamy, 2015).

A magyar eredmények

Hazánkban az első publikáció (egy eset bemutatás), – amiben kutya-specifikus mikroszatelliták alkalmazásának hatékonyságát vizsgálták egy bűnügyi nyomozás során – 2001-ben született. Egy Baranya megyei állatkertben valószínűsíthetően egy ott dolgozó biztonsági őr közreműködésével, kutya támadt meg wallabikat, marákat és kamerúni kecskéket. Az állatok tetemei nem mutatták súlyos sérülések jeleit, de a kifutón küzdelem nyomai látszóttak és a kerítésen egy mesterségesen keletkezett rést is találtak a helyszíni vizsgálat során. Az állatorvosi boncolás húsevők fognyomait mutatta ki, az ölés azonban nem táplálkozási célból történhetett. Figyelembe véve, a megtámadott állatok agresszív természetét és a tényt, miszerint a tettes állat kizárólag emberi segítséggel juthatott be, feltételezhető volt a kutya-riadal tréning, mint indíttatás. A gyanúsított kutyák a biztonsági őr mellett dolgozó német juhászkutyák (6 db) voltak. A helyszínen gyűjtött szőrmintákat morfológiai és genetikai vizsgálatnak is alávetették. Előbbi során megerősítették a német juhász eredetet, míg a 10 STR lokusz vizsgálatával egyetlen profilt mutattak ki, ami egyik gyanúsított kutya profiljával sem egyezett meg. A tettes állatot ugyan nem sikerült beazonosítani, de az STR szakaszok értelmezhető profilt produkáltak kis mennyiségű minta esetén is (Pádár és mtsai, 2001).

Ekkor, a 2000-es évek elején kezdődött egy kutya azonosítási rendszer felállítása Magyarországon, a külföldön már alkalmazott és populációs tanulmányokkal vizsgált

mikroszatellitákkal. Az eljárás hatékonyságának bizonyításaként egy gyermek halálának nyomozása során, ahol a nyomok és a körülmények kutyatámadásra engedtek következtetni, többféle mintából (nyál, szőr) is DNS-t izoláltak, és az azokból nyert genetikai profilokat értelmezték. A hat nyálminta közül négy, az egyik gyanúsított kutyát igazolta, míg a másik kettő keverten tartalmazta a két gyanúsított kutya DNS-ét. A szőrminta morfológiailag a másik kutyát igazolta, azonban egyetlen lokuszon eltérést mutatott, ez feltételezhetően egy szomatikus mutáció következménye volt. Az eljárás tehát alkalmasnak bizonyult az elkövető állatok azonosítására és elkezdődhetett a hazai igazságügyi munkában való elterjedése (Pádár és mtsai, 2002).

Az STR markerek használatának magyar igazságügyi gyakorlatba történő integrálását követően, a bizonyítékok hitelességének és megbízhatóságának mérlegeléséhez szükségessé vált a helyi kutya populációk felmérése. Ebből a célból 668 kutyából (összesen 79 különböző fajtából és emellett keverékekből is) vett mintában vizsgálták 10 STR régió allélgyakoriságát. A lokuszok egyes alléljainak struktúráját és méretét szekvenálással határozták meg, majd a még nem regisztrált szekvenciákat felvitték a GenBank adatbázisába (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Ezek az STR lokuszok a vizsgálatok alapján megfelelően informatívnak bizonyultak egyedazonosításhoz, még a beltenyésztett populációk esetében is (Zenke és mtsai, 2011). Az allélgyakoriságok statisztikailag is értékelhetővé tették az egyezéseket, ami elősegítette az eljárás elterjedését és növelte annak relevanciáját a magyar igazságügyi rendszerben.

Az azonosítási rendszer hazai igazságügyi keretek közé történő sikeres integrálását követően, a külföldi fejlesztéseket és ajánlásokat figyelemmel kísérve, Magyarországon is folyamatosak az azonosítási eljárás fejlesztéseire irányuló törekvések. Így például a vizsgált STR szakaszok ún. miniplexekbe történő rendezése és rövidebb másolatok használata degradált minta esetén is hatékonyan bizonyul. Ennek a technikai fejlesztésnek köszönhetően sikerült megoldani egy kisebb juhállomány (47 jerke és 5 bárány) legyilkolásának esetét, ahol a karám kerítésén talált állatszorból kimutatott 12 STR marker megegyezett a feltételezett kutya mintájával (Zenke és mtsai, 2015).

Gímszarvas STR

Az STR markerek igazságügyi célból történő használata nem csupán a háziállatok körében, de a vadállatokat érintő ügyekben is elterjedt hazánkban. Az illegális trófea- és vadhúskereskedelmet, valamint az orvvadászatot érintően sajnálatos módon Magyarország

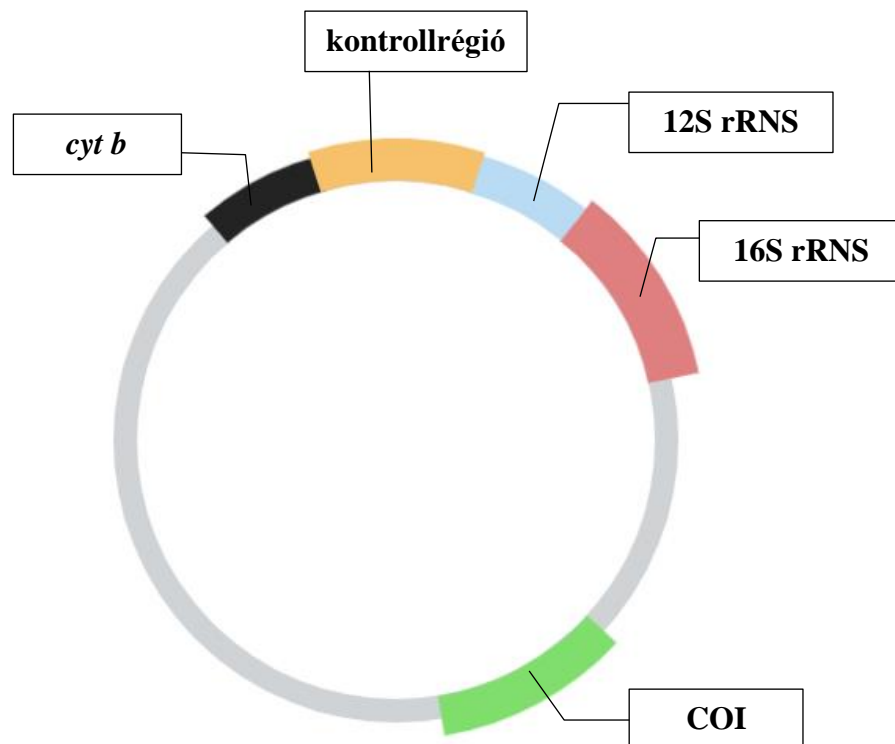
sem kivétel. Ezeknek a bűntetteknek a felderítéséhez a genetikai vizsgálatok meglehetősen célravezetőnek bizonyultak, így itthon is születtek tanulmányok a hazai vadfajok közül, a gímszarvas (*Cervus elaphus hippelaphus*) azonosítása céljából. Ugyanis a gímszarvas a legértékesebb nagyvad országunkban, trófeájának értéke a legmagasabb Európában, emellett húsa és az agancsából nyerhető afrodisziákum miatt tartják és tenyésztik is (Szabolcsi és mtsai, 2014).

Az első gímszarvas azonosítási eljárás kidolgozására irányuló tanulmányban 252 egyed szőr, vér és elhullajtott agancs mintájából vizsgáltak 22 tetranukleotid mikroszatellita markert. Az STR szakaszokat vapititől (*Cervus canadensis*) és öszvérszarvastól (*Odocoileus hemionus*) származtatták, primerként gímszarvas specifikus szekvenciákat használtak. Az allélek szekvenálását követően megtervezték a fajspecifikus primereket a későbbi kutatásokhoz, egyedazonosítási tesztekhez (Szabolcsi és mtsai, 2008).

Ezt követően már kifejezetten igazságügyi célból vizsgáltak 10 STR lokuszt (két db 5-ös multiplexbe rendezve), figyelembe véve a szakirodalmi ajánlásokat, így tetranukleotid STR-eket használtak, az allélhosszakat 250 bp alá csökkentették és az allélnomenklaturát az ISFG ajánlásai szerint alakították ki. A kutatás során egyúttal populáció genetikai vizsgálatot is végeztek: összesen 100 gímszarvas mintáját (vér, izom és elhullajtott agancs) tesztelték, a földrajzi régióra is tekintettel (48 minta származott az ország északkeleti és 52 a délnyugati régiókból, 28 vadászterületről). A markerek fajspecifitásának elbírálásához európai dámvad (*Dama dama*), európai őz (*Capreolus capreolus*), szarvasmarha, muflon (*Ovis musimon*), vaddisznó (*Sus scrofa*), ember, *E. coli*, *Sinorhizobium meliloti* és *Salmonella typhimurium* mintákkal is végeztek tesztek. Az európai dámvad esetében kilenc STR-nél jól értékelhető, specifikus PCR terméket kaptak, ami felveti a rendszerek más szarvasféléknél történő használatának lehetőségét a primerek áttervezése után. Megállapítva a 10 marker specifikusságát és független öröklődését, a rendszer megkülönböztető erejét hasonlónak ítélték, mint a hasonló célokra használt humán rendszereket. Sikeresen alkalmazták is egy illegális vadászat ügyében, ahol a gyanúsított személy fagyasztójából vett húsmintát és a vadász segédjének nadrágjáról származó vért hozzá tudták kötni az illegálisan elejtett vadhoz. Ez volt az első eset, ahol STR markereket használtak fel egyedazonosításhoz orvvadászat ügyében hazánkban (Szabolcsi és mtsai, 2014).

Mitokondriális DNS

A mtDNS cirkuláris genom, tipikusan 16 kb hosszú. Az oxidatív foszforilációban és ATP szintézisben részt vevő enzimeket, 12S és 16S rRNS-t és 22 tRNS-t kódol. Van egy nem kódoló, ún. kontroll régiója (CR), a D-hurok (D-loop), ami szekvenciáját összehasonlítva a kódoló régiók szekvenciájával, az itt található szekvenciák magas variabilitást mutatnak az egyedek között (1. ábra). Azoknál az eseteknél, ahol a minta degradáltságából adódóan a nukleáris DNS nem használható azonosításra, célra vezető lehet a mtDNS használata, ugyanakkor a mtDNS sokkal inkább fajazonosításra alkalmas, mint egyedazonosításra (az anyai öröklődésből kifolyóan). A kontrollrégió két hipervariábilis szakasza (HVR1/HVR2) mellett a *cyt b* enzim, citokróm-oxidáz 1-es alegység (COI), a 12 S rRNS és 16S rRNS génszakaszát is vizsgálták igazságügyi célokból fajazonosításra (Mori és Matsumura, 2020) (1. ábra).



1. ábra

A mtDNS egyes igazságügyi szempontból releváns régiói Mori és Matsumura (2020) alapján

A mtDNS profilok kiértékelése nem mindig egyszerű. Az egyezések könnyen megállapíthatóak, azonban ennek kizárása olykor problémás lehet. A kérdéses minta és a referencia minta közötti egy bázispár eltérés adódhat mutációból is, ugyanis a mtDNS-ben nagyobb eséllyel történnek mutációk a magas másolati számból és az oxidatív foszforiláció során keletkező reaktív oxigénformáknak való kitettségéből adódóan. Egy bázispárnyi különbség esetén az eredményt nem döntő bizonyítékként értelmezik, amennyiben viszont két vagy három bázispár a különbség, azt az egyezés kizárásaként értékelik (Goodwin és mtsai, 2011c).

mtDNS használata különböző fajazonosítási eljárások során

Évtizedekkel ezelőtt a módszerek egységesítésének hiányában, a kevés vagy degradált DNS minta, vagy éppen kevert minták esetében sokkal szűkebb lehetőségek között dolgoztak a laborokban. Napjainkra azonban bővültek a minták elemzésének lehetőségei a nem emberi eredetű bizonyítékokat illetően (Andrejevic és mtsai, 2019).

A szekvencia analízis a leggyakrabban használt módszer fajazonosításhoz. Egy ismeretlen mintából kinyert szekvencia adatot összehasonlítva internetes adatbázisokban tárolt ismert eredetű szekvenciákkal, a minta faji eredete meghatározható. Ehhez olyan régiók szükségesek, amik magas fajok közötti és egyúttal alacsony fajok belüli variabilitással bírnak. A *cyt b* és COI a fajazonosításra leggyakrabban használt génszakaszok.

A szekvencia analíziseknél legtöbbször a GenBank adatbázisára támaszkodnak, aminek szekvenciái minőségileg nem ellenőrzöttek az igazságügyi vizsgálatokhoz (Mori és Matsumura, 2020). Egy egységes azonosítási rendszer céljából jött létre a Barcode of Life Data projekt, ami a COI gén egy 648 bp hosszúságú szakaszát úgynevezett univerzális vonalkódként használva, egy referencia könyvtár kiépítését és kiterjesztését törekszik minden eukarióta fajra megvalósítani (Frézal és Leblois, 2008).

Habár a szekvenálás alapú módszerek hatásosak, de nagyrészt univerzális primerekkel működnek, így egyetlen forrásból (egy egyedtől) származó minták azonosítására használhatók megbízhatóan. A kevert DNS-t tartalmazó mintákból nyerhető profilok nehezen, vagy nem értelmezhetőek és nem megbízható eredményt adnak (Mori és Matsumura, 2020).

A szekvencia analízis mellett gyakorta alkalmazott eljárás a restrikciós fragment hossz polimorfizmusok (RFLP) vizsgálata PCR-rel történő sokszorosítást követően. A módszer lényege a PCR termékek restrikciós enzimekkel végzett emésztése. A restrikciós mintázatok a különböző SNP kombinációknak köszönhetően fajra jellemzőek, az egyes fajok azonosításához viszont szükséges az előzetes ismerete a fajspecifikus mintázatoknak (Andrejevic és mtsai, 2019). A módszer egyszerű és gyors, ugyanakkor a több, ismeretlen fajtól származó minták analizálása problémás, hiszen a kapott eredmény egy átfedése az egyes fajokból nyert mintázatoknak.

A fragmentumok analízise hatékonyabb lehet faj-specifikus primerek használatával. Ezek a primerek kizárólag az adott fajra jellemző szekvenciához kötődnek, ezáltal különböző hosszúságú PCR termékeket eredményeznek. Gél- vagy kapilláris-elektroforézissel ezek az eltérő hosszúságú, fajspecifikus másolatok elkülöníthetőek. Multiplex PCR technikával, több primer együttes alkalmazása mellett egyetlen reakció során megvalósítható több célállatfaj szimultán azonosítása, amivel idő, reagens és templát DNS is megtakaríthatóvá válik (Mori és Matsumura, 2020).

Az újabban megjelent, masszív parallel szekvenáló technikák, vagy más néven az új generációs szekvenáló technikák (next generation sequencing, NGS) forradalmasították a DNS elemzés területét. Az NGS eljárások lehetővé teszik egyszerre akár milliányi DNS olvasását viszonylag rövid idő alatt, és a szekvenálási teljesítményeik évről-évre javulnak. Az NGS technikák DNS bárkód rendszerrel történő kombinálása a DNS-metabárkódolás (Staats és mtsai, 2016). A módszer univerzális primerek használata mellett sokszorosítja a COI gén hosszabb vagy akár rövidebb szakaszát. Jelentős előnye, hogy elméletileg 1%-nyi DNS is azonosítható vele egy adott fajból és meghatározható a mintát alkotó fajok megoszlása (Mori és Matsumura, 2020). Habár az alkalmazása egyszerűnek tűnik, a kapott eredmények kiértékelhetősége nagyban függ a DNS integráltságától. Ugyanakkor a nagy mennyiségű adat elemzése komplikált és több időt igényelhet, a rendelkezésre álló bioinformatikai módszerek megkülönböztető erejét pedig a választott markerek és referencia adatbázisok összetétele befolyásolhatja. A helytelen primer-templát kapcsolódások az eltérő fajokból adódóan, limitálhatják a DNS mennyiségi potenciálját és egyes fajok kihagyásához vezethetnek (Staats és mtsai, 2016). Nem mellesleg a technika beszerzése és fenntartása igen költséges, ez egy jelentős akadályozó tényező a helyi, kisebb igazságügyi laborok esetében.

Az élelmiszerekben állati eredetű DNS vizsgálatához (pl. húskészítmények összetétele) széleskörűen használt módszer a valós idejű PCR (real-time PCR). Szemben a hagyományos PCR technikával, a valós idejű PCR lehetővé teszi kis mennyiségű DNS

elkülönítését és a reakció közben a keletkező termékek mennyiségének mérését. Az egyik leggyakoribb, legolcsóbb és legegyszerűbb módszer egy fluoreszcens festék alkalmazása, ami a dupla-szálú DNS kis árkába kötődik. A fluoreszcencia intenzitása arányos a generált duplaszálú DNS mennyiségével. Hátránya, hogy nem szekvenciaspecifikus, ezáltal a primer-dimerekhez (PCR melléktermékek, komplementer bázisok miatt összetapadt primerek) is kapcsolódik. Az ilyen fals szignálok kiszűrhetőek olvadáspont analízissel (Wu és mtsai, 2018). A másik, bonyolultabb módszer, fluoreszcens jelölővel ellátott hibridizáló próba használata, ami a PCR reakció során hozzátapad a szimpla DNS szálhoz, majd a polimeráz exonukleáz aktivitása nukleotidokra bontja, a hidrolízis révén pedig megszűnik a fluoreszcens jelet gátló hatás.

Napjainkra már kifejlesztették a multiplex valós idejű PCR eljárásokat a mitokondriális gének amplifikálásához, azonban az egyidejűleg, egy reakció során azonosítható fajok száma egyelőre limitált (Mori és Matsumura, 2020).

A citokróm b (cyt b) gén

A *cyt b* gén az egyik leggyakrabban használt lokusz, nem csak az igazságügyi, de a filogenetikai és biodiverzitást illető tanulmányok esetében egyaránt (Lopez-Oceja és mtsai, 2016). Magas fajok közötti, és alacsonyabb fajok belüli változatosságából adódóan jól alkalmazható fajok azonosítására. Átlagosan 1.140 bázispár hosszúságú, és egy 380 aminosavból álló fehérjét kódol. A fehérje oxidatív foszforilációban betöltött szerepének köszönhetően régiója nagymértékben konzervált. Ez teszi lehetővé univerzális primerek tervezését a különböző emlős fajok számára, sokszorosítva a génszakaszon belüli polimorf területeket. Több primert is terveztek már jellemzően a génszakasz első részének, egy kb. 400 bp hosszú, a kódoló régióra is kiterjedő szakaszának sokszorosításához, ugyanis ezt a részt használják fajazonosításhoz. Mivel az igazságügyi vizsgálatok során a pontos szekvenciák ismerete rendkívül fontos, feltétlenül szükséges mindkét irányból elvégezni a szekvenálást, majd összevetni az adatbázisok szekvenciáival (Linacre, 2012).

Magyarországi faj- és egyedazonosítási esetek mtDNS vizsgálatával

Gímszarvas hús eltulajdonítása

Egy gímszarvas borjú elejtését követően több, értékes húsrészt is eltávolított egy ismeretlen tettes a tetemről, majd a torzót hátrahagyva távozott a helyszínről. A szemle során a tetemről vérgyanús szennyeződést és a helyszínről állati szőrmintákat gyűjtöttek. A gyanúsított személytől több tárgyat (vadászinet, nadrágot, kést) is lefoglaltak, amiken vérgyanús szennyeződést és a pulóveren állati szőrmintát találtak. A mintákból kinyert DNS-t multiplex PCR eljárással vizsgálták, a fajok azonosításához a *cyt b* gént és 12 fajspecifikus primert [ember (*Homo sapiens*), macska (*Felis catus*), kutya (*Canis lupus familiaris*), szarvasmarha (*Bos taurus*), kecske (*Capra hircus*), birka (*Ovis aries*), ló (*Equus caballus*), szamár (*Equus asinus*), sertés/vaddisznó (*Sus scrofa*), nyúl (*Oryctolagus cuniculus*), róka (*Vulpes vulpes*), gímszarvas (*Cervus elaphus*)] használva, míg az egyedazonosításhoz STR lokuszokat alkalmaztak. A minták között szerepelt gímszarvas, sertés/vaddisznó és emberi eredetű DNS is. A gímszarvas eredetű mintákat tovább vizsgálva, két egyedet azonosítottak és kimutatták a bűncselekmény helyszínéről származó mintákkal való egyezést, amit a magyarországi populációs tanulmányok is alátámasztottak (Zenke és mtsai, 2017).

Illegális húskészítmények árusítása

Egy monori hentes 51%-ban medvehúst feltüntető címkével ellátott szalámikat és kolbászokat árusított. Habár a termékeket Romániából importálták, hazánkban a barna medve (*Ursus arctos*) védett faj, ezért a vele kapcsolatos bármilyen kereskedelem engedélyköteles. Az sokszorosításhoz univerzális primert használtak, ami a kevert minták következtében nem olvasható szekvenciákat eredményezett, ezért medvespecifikus primerekkel megismételték az analízist. A kapott, jól értelmezhető szekvenciákat összevetve a GenBank adatbázisában található referencia szekvenciákkal, azok a medve *cyt b* génszakasszal homológoknak bizonyultak, ezáltal a húskészítmények bizonyítottan medvehúst is tartalmaztak (Zenke és mtsai, 2015).

Illegálisan megszerzett vadhúsokkal történő kereskedelem

A rendőrség 118 kg vadhúst foglalt le egy személytől, aki ezeket egy, a vadhúsokkal illegálisan kereskedő személytől vásárolta. A húsminták előzetes morfológiai vizsgálatát követően multiplex PCR vizsgálatot végeztek a lehetséges fajok megállapításához, a *cyt b*

génre tervezett 12 fajspecifikus primerrel [ember (*Homo sapiens*), macska (*Felis catus*), kutya (*Canis lupus familiaris*), szarvasmarha (*Bos taurus*), kecske (*Capra hircus*), birka (*Ovis aries*), ló (*Equus caballus*), szamár (*Equus asinus*), sertés/vaddisznó (*Sus scrofa*), nyúl (*Oryctolagus cuniculus*), róka (*Vulpes vulpes*), gímszarvas (*Cervus elaphus*)]. A minimális egyedszám megállapításához a kontrollrégió hipervariábilis régiójának szekvenciáját vizsgálták, szarvas és vaddisznó/sertésspecifikus primerek alkalmazása mellett. Az eredményeket értelmezve a húsminták legalább egy vaddisznó/sertés és kettő gímszarvas egyedről származtak (Zenke és mtsai, 2017).

Fehér gólya ellen elkövetett támadás

Az első publikált folyóiratcikk az igazságügyi irodalomban, amikor fehér gólya (*Ciconia ciconia*) DNS-ét vizsgálták egy bűnügyi nyomozás során, magyar kutatók munkája. Hazánkban a fehér gólya védett állat, elfogása, tartása és leölése egyaránt törvénybe ütközik. Egy férfit meggyanúsítottak egy gólya lelövésével, a bűntény helyszínén azonban csak vérnymokat találtak, a madár feltételezhetően visszarepült a fészkébe. Néhány nap múlva, egy fej nélküli fehér gólya tetemére bukkantak egy műanyag zsákban. Először mtDNS vizsgálatot végeztek a kontrollrégió szekvencia analízisével, ami eredményeként egy egyedi haplotípust kaptak (egy pozícióban heteroplazmiával). Hónapokkal később, az egyedazonosítás megerősítéséhez, STR markerekkel is vizsgálatot végeztek. Az igazságügyi gyakorlatban használt markerek hiányából adódóan, konzerváziógenetikai adatokra támaszkodva, figyelembe véve populációs tanulmányokból az allélmegoszlást, 10 markert választottak, amiket két multiplex PCR rendszerbe válogattak és 305 bp alá csökkentették a hosszukat. A bűntény helyszínéről és a tetemről származó minta azonosnak bizonyult. Azonban a gólya tetemén nem találtak golyó okozta sérülést, ennek és a fejnek a hiányában, a halál oka azonosíthatatlan maradt, és a zsákról származó emberi eredetű DNS vizsgálata nem vezetett eredményre, így az ügyben nem történt vádemelés (Zenke és mtsai, 2019).

Az igazságügyi genetika jövője

Az elmúlt évtizedek jelentős fejlődést hoztak az állatok faj- és egyedazonosítása terén, mind külföldi, mind magyarországi viszonylatban. Azonban az eljárások egységesítése sok esetben még várat magára és az igazságügyi szakértőknek számos kihívással kell szembe nézniük egy-egy minta feldolgozása és kiértékelése során.

A fajazonosítás hatékonyabbá tételéhez a multiplex PCR rendszerek tovább fejlesztése és ezek egyéb eljárásokkal történő kiegészítése (pl. olvadáspont analízis) nagy előrelépést hozhat (Ishida et al., 2018), hiszen az NGS technikák egyelőre meglehetősen költségesek és időigényesek, sokkal inkább a költséghatékonyabb és gyorsabb módszerek kifejlesztése kívánatos a laborok számára.

A jövőben megoldásra váró kérdés még a hibrid fajok problematikája, ugyanis a hibridek létezésével kevésbé foglalkozik az igazságügyi genetika. Valójában a jelenleg alkalmazott fajazonosítási protokollok egy uniparenterálisan öröklődő marker (mtDNS) vizsgálatán alapulnak, ami ellehetetleníti a hibridek azonosítását. A problémát árnyalja, hogy a biológiai anyagmaradványok morfológiai analízise gyakorta nem kellően informatív, így a molekuláris módszerek maradnak az egyetlen lehetséges alkalmazható technikák. Az állatfajok megközelítőleg 10%-a (az európai fajok esetében ez 6%-ra tehető) hibrid, ezáltal fontos lenne az igazságügyi gyakorlat során ezzel is számolni. Megoldást kínálhat a biparenterálisan öröklődő markerek vizsgálata (Amorim és mtsai, 2020).

A későbbiekben megoldást találva a fentebb említett problémákra, megbízhatóbb és nagyobb bizonyító erővel bíró bizonyítékok tárhatóak a bíróságok elé.

ÖSSZEFOGLALÁS

Állatok érintettek lehetnek bűnügyi esetekben gyanúsított, áldozat és „szemtanú”-ként (a helyszíni szemle során gyűjtött örökítőanyaguk kapcsolatot teremthet helyszín és személyek között). Ugyanakkor az igazságügyi állatgenetika nem csupán bűntények helyszíni vizsgálatára terjed ki, hanem az állati eredetű termékek illegális felhasználására, kereskedelmére egyaránt. Ezeknek az ügyeknek a felderítésére, az igazságszolgáltatás számára kellően meggyőző erejű bizonyítékok szolgáltatásához ma már számos genetikai marker (STR, SNP, mtDNS) és módszer áll rendelkezésre.

Ennek ellenére a nem humán eredetű minták analízisa és interpretálása számtalan nehézségbe ütközik. A legfontosabb és talán legnagyobb akadályt a nagymértékű biodiverzitás jelenti, valamint a jelenlegi szegényes ismereteink róla, és ez nem csak a fajok azonosításának problémájára van befolyással, hanem fajon belüli szinten is, ahol a fajok többségénél még hiányoznak a populációs tanulmányok. Ezáltal a releváns paraméterek elfogadható pontosságú megbecslése, a bizonyíték erejét alátámasztó statisztikai számítások elvégzése ellehetetlenül.

Egy újabb problémát vet fel az eljárások nem kellően előrehaladott egységesítése, ami nélkülözhetetlen az eredmények megbízható interpretálásához. Bár az ISFG ajánlásait követően számos vizsgálat esetében már figyelembe vették ezeket az ajánlásokat és ennek megfelelően megtörtént a vizsgálati módszerek egységesítése, az igazságügyi szempontból releváns állatfajok nagy részénél (CITES listás fajok, amik esetében már születtek tanulmányok faj/egyedazonosítási célokból) ez azonban még várat magára. Az eljárások pontosítása és szabványosítása munka-, költség- és időigényes, amit a kisebb, helyi laboratóriumoknak nem egyszerű és olykor nem pragmatikus abszolválni.

Az egyedazonosság megállapítása a fajazonosításhoz viszonyítva gyakran problémásabb, számos előzetes vizsgálatot, populációs tanulmányokat, statisztikai becsléseket igényel, aminek szükséges feltételei nem minden esetben teremthetők meg. Magyarországon a kutyák egyedazonosításának feltételei adottak, több tanulmány is beszámol a genetikai eljárások sikeres alkalmazásáról bűnügyi eseteknél, míg a vadfajok közül gímszarvasokat érintő esetek lelhetőek fel a szakirodalomban.

Napjainkra a nem emberi eredetű DNS vizsgálatok az igazságügyi genetika egy igen intenzíven fejlődő területét képezve tágítják az igazságszolgáltatás lehetőségeit, és egyúttal segítik előre mozdítani a konzervációgenetika elért eredményeit is.

FORENSIC ANIMAL GENETICS IN HUNGARY - SUMMARY

Animals can be involved in criminal cases as suspects, victims or „eyewitnesses” (animal DNA collected from the crime scene can link the scene with humans). However, animal forensic genetics is not limited to crime scene investigation. Illegal use or trade of animal products are belong to this area, too. Recently, numerous genetic markers (STR, mtDNA, SNP) and methods are available for reveal these cases and provide reliable evidence for jurisdiction.

Nonetheless, analyzing non-human samples and interpreting them can be difficult. Perhaps the most important difficulty is, the enormous biodiversity and our poor knowledge about it, with an impact not only at the interspecific level but also at the intraspecific level where, for most of the species, population genetics data are nonexistent. Thereby, estimating relevant parameters with acceptable accuracy is hard, and the statistical evaluation of the evidence is inhibited.

Another problem is the lack of standardization, what is indispensable for presenting reliable evidence. Although, several research applied the ISFG recommendations, for most of the relevant species from forensic aspect (species on the CITES list), these aren't applied. The improvement and standardization of the methods are labor-intensive, expensive and time-consuming, and often not pragmatic or easy to carry out for the small laboratories.

Identification an individual is generally more complicated than species identification, because it requires various preliminary research including population study, statistical evaluation, and the necessary conditions not always can be obtained. In Hungary, the conditions for individual identification of dogs are given, there are studies about successful adaptation of genetic methods in criminal cases, while in terms of wild animals, studies about red deer can be found in the literature.

In these days, non-human DNA analysis is a fast improving area within forensic genetics, increasing the potential of jurisdiction and helping enhance the result of conservation genetics.

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, dr. Zenke Petrának, aki észrevételeivel és hasznos tanácsaival segítette munkámat, valamint rendelkezésemre bocsátotta a dolgozat elkészüléséhez szükséges szakirodalmat.

Köszönöm szüleimnek és testvéremnek türelmüket, toleranciájukat és támogatásukat, amik nélkül ma nem tartanék itt, valamint barátaimnak, akikkel együtt élhettem meg az egyetemi évek mélységeit és magasságait.

Továbbá szeretném megköszönni az Állatorvostudományi Egyetem valamennyi oktatójának, dolgozójának azt a lelkiismeretes munkáját, amivel a hallgatók képzését, tanulását és a versenyképes tudásuk megszerzését támogatják.

IRODALOMJEGYZÉK

Alama A., Jonkisz A., Tokarski M., Małodobra-Mazur M., Lebioda A., Kowalczyk E., Dobosz T., 2018: Preliminary analysis of polymorphism of STR markers in the population of domestic cats (*Felis catus*) in Lower Silesia. *Archives of Forensic Medicine and Criminology*, 68. 2. p. 96–107. <https://doi.org/10.5114/amsik.2018.77922>

Amorim A., 2019: Nonhuman forensic genetic. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 7. p. 44–46. <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2019.09.019>

Amorim A., Pereira F., Alves C., García O., 2020: Species assignment in forensics and the challenge of hybrids. *Forensic Science International: Genetics* 48. 102333. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102333>

Andreassen R., Schregel J., Kopatz A., Tobiassen C., Knappskog P.M., Hagen S.B., Kleven O., Schneider M., Kojola I., Aspi J., Rykov A., Tirronen K.F., Danilov P.I., Eiken H.G., 2012: A forensic DNA profiling system for Northern European brown bears (*Ursus arctos*). *Forensic Science International: Genetics* 6. p. 798–809. <https://doi.org/doi:10.1016/j.fsigen.2012.03.002>

Andrejevic M., Markovic M.K., Bursac B., Mihajlovic M., Tanasic V., Kecmanovic M., Keckarevic D., 2019: Identification of a broad spectrum of mammalian and avian species using the short fragment of the mitochondrially encoded cytochrome b gene. *Forensic Science, Medicine and Pathology*, 15. 2. p. 169–177. <https://doi.org/10.1007/s12024-019-00096-4>

Arenas M., Pereira F., Oliveira M., Pinto N., Lopes A.M., Gomes V., Carracedo A., Amorim A., 2017: Forensic genetics and genomics: Much more than just a human affair. *PLOS Genetics*, 13. 9. e1006960. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006960>

Baldry A.C., 2005: Animal abuse among preadolescents directly and indirectly victimized at school and at home. *Criminal Behaviour and Mental Health*, 15. 2. p. 97–110. <https://doi.org/10.1002/cbm.42>

Berger B., Berger C., Hecht W., Hellmann A., Rohleder U., Schleenbecker U., Parson W., 2014: Validation of two canine STR multiplex-assays following the ISFG recommendations for non-human DNA analysis. *Forensic Science International: Genetics* 8. 1. p. 90–100. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.07.002>

Berger B., Berger C., Heinrich J., Niederstatter H., Hecht W., Hellmann A., Rohleder U., Schleenbecker U., Morf N., Freire-Aradas A., McNevin D., Phillips C., Parson W., 2018: Dog breed affiliation with a forensically validated canine STR set. *Forensic Science International: Genetics*, 37. p. 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.08.005>

Berger B., Heinrich J., Niederstatter H., Hecht W., Morf N., Hellmann A., Rohleder U., Schleenbecker U., Berger C., Parson W., 2019: Forensic characterization and statistical considerations of the CaDNAP 13-STR panel in 1,184 domestic dogs from Germany, Austria, and Switzerland. *Forensic Science International: Genetics* 42. p. 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.06.017>

- Blackie R., Taylor D., Linacre A., 2015: Successful direct amplification of nuclear markers from single dog hairs using DogFiler multiplex: Nucleic Acids. *ELECTROPHORESIS*, 36. 17. p. 2082–2085. <https://doi.org/10.1002/elps.201400560>
- Brooks A., Creighton E.K., Gandolfi B., Khan R., Grahn R.A., Lyons L.A., 2016: SNP Miniplexes for Individual Identification of Random-Bred Domestic Cats. *Journal of Forensic Sciences*, 61. 3. p. 594–606. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13026>
- Caniglia R., Fabbri E., Greco C., Galaverni M., Randi E., 2010: Forensic DNA against wildlife poaching: Identification of a serial wolf killing in Italy. *Forensic Science International: Genetics*, 4. p. 334–338. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2009.10.012>
- Cassidy B.G., Gonzales A. R., 2005: DNA testing in animal forensics. *Journal of Wildlife Management*, 69. 4. p. 1454–1462.
- Chan H.C., Wong R.W.Y., 2019: Childhood and adolescent animal cruelty and subsequent interpersonal violence in adulthood: A review of the literature. *Aggression and Violent Behaviour*, 48. p. 83–93. <https://doi.org/10.1016/j.avb.2019.08.007>
- Clarke M., Vandenberg N., 2010: Dog attack: the application of canine DNA profiling in forensic casework. *Forensic Science, Medicine and Pathology*, 6. 3. p. 151–157. <https://doi.org/10.1007/s12024-009-9114-8>
- Cooper J.E., Cooper M.E., 2007: Special Features of Veterinary and Comparative Forensic Medicine In: COOPER J.E., COOPER M.E., 2007: *Introduction to Veterinary and Comparative Forensic Medicine*. Blackwell Publishing Ltd. p. 10
- Dalebout M.L., Robertson K.M., Chivers S.J., Samuels A., 2008: DNA identification and the impact of illegal, unregulated, and unreported (IUU) fishing on rare whales in Micronesian waters. *Micronesica*, 40. p. 139–147.
- De Giorgio F., Rainio J., Pascali V.L., Lalu K., 2007: Bear attack—A unique fatality in Finland. *Forensic Science International*, 173. p. 64–67. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.08.026>
- De Munnynck K., Van de Voorde W., 2002: Forensic approach of fatal dog attacks: a case report and literature review. *International Journal of Legal Medicine*, 116. 5. p. 295–300. <https://doi.org/10.1007/s00414-002-0332-9>
- DeLisi M., Tahja K., Drury A.J., Caropreso D., Elbert M., Heinrichs T., 2017: The Criminology of Homicidal Ideation: Associations with Criminal Careers and Psychopathology among Federal Correctional Clients. *American Journal of Criminal Justice*, 42. 3. p. 554–573. <https://doi.org/10.1007/s12103-016-9371-5>
- Di Rocco F., Posik D.M., Ripoli M.V., Díaz S., Maté M.L., Giovambattista G., Vidal-Rioja L., 2011: South American camelid illegal traffic detection by means of molecular markers. *Legal Medicine*, 13. 6. p. 289–292. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2011.08.001>
- Dimoski P., 2003: Development of a 17-plex Microsatellite Polymerase Chain Reaction Kit for Genotyping Horses. *Croatian Medical Journal*, 44. p. 332–335.
- Doukakis P., Pikitch E.K., Rothschild A., DeSalle R., Amato G., Kolokotronis S.-O., 2012: Testing the Effectiveness of an International Conservation Agreement: Marketplace

Forensics and CITES Caviar Trade Regulation. *PLoS ONE*, 7. 7. e40907. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040907>

Eaton M.J., Meyers G.L., Kolokotronis S.-O., Leslie M.S., Martin A.P., Amato G., 2010: Barcoding bushmeat: molecular identification of Central African and South American harvested vertebrates. *Conservation Genetics*, 11. 4. p. 1389–1404. <https://doi.org/10.1007/s10592-009-9967-0>

Eccleston P., 2007: Gangs moving into environmental crime. The Telegraph. <http://www.telegraph.co.uk/earth/earthnews/3296580/Gangs-moving-into-environmental-crime.html>

Eichmann C., Berger B., Reinhold M., Lutz M., Parson W., 2004: Canine-specific STR typing of saliva traces on dog bite wounds. *International Journal of Legal Medicine*, 118. 6. p. 337–342. <https://doi.org/10.1007/s00414-004-0479-7>

Eichmann C., Berger B., Steinlechner M., Parson W., 2005: Estimating the probability of identity in a random dog population using 15 highly polymorphic canine STR markers. *Forensic Science International*, 151. 1. p. 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.07.002>

Fernández M.E., Goszczynski D.E., Lirón J.P., Villegas-Castagnasso E.E., Carino M.H., Ripoli M.V., Rogberg-Muñoz A., Posik D.M., Peral-García P., Giovambattista G., 2013: Comparison of the effectiveness of microsatellites and SNP panels for genetic identification, traceability and assessment of parentage in an inbred Angus herd. *Genetics and Molecular Biology*, 36. 2. p. 185–191. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572013000200008>

Fernández M.E., Rogberg-Muñoz A., Lirón J.P., Goszczynski D.E., Ripoli M.V., Carino M.H., Peral-García P., Giovambattista G., 2014: Effectiveness of Single-Nucleotide Polymorphisms to Investigate Cattle Rustling. *Journal of Forensic Sciences*, 59. 6. p. 1607–1613. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12562>

Frézal L., Leblois R., 2008: Four years of DNA barcoding: Current advances and prospects. *Infection Genetics and Evolution*, 8. 5. p. 727–736. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2008.05.005>

Fison M., 2011: The £6bn trade in animal smuggling: it funds terrorists and civil wars, and brings more species closer to extinction. WildSingapore. <http://wildsingaporenews.blogspot.com/2011/03/6bn-trade-in-animal-smuggling.html>

Goddard K., 2005: Veterinary aspects of forensic medicine, wild animals, In: Payne-James J., Byard R., Corey T., Henderson C. (eds): *Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine*. Oxford. Elsevier Limited. pp. 344-349.

Goodwin W., Linacre A., Hadi S., 2011a: Introduction to forensic genetics In: Goodwin W., Linacre A., Hadi S.: *An Introduction to Forensic Genetics*, Oxford. Wiley-Blackwell. p. 1-6

Goodwin W., Linacre A., Hadi S., 2011b: Single nucleotide polymorphisms In: Goodwin W., Linacre A., Hadi S.: *An Introduction to Forensic Genetics*, Oxford. Wiley-Blackwell. p. 145

Goodwin W., Linacre A., Hadi S., 2011c: Lineage markers In: Goodwin W., Linacre A., Hadi S.: *An Introduction to Forensic Genetics*, Oxford. Wiley-Blackwell. p. 155-160

- Goodwin W., Linacre A., Hadi S., 2011d: Lineage markers In: Goodwin W., Linacre A., Hadi S.: *An Introduction to Forensic Genetics*, Oxford. Wiley-Blackwell. p. 161-163
- Goodwin W., Linacre A., Hadi S., 2011e: The analysis of short tandem repeats In: Goodwin W., Linacre A., Hadi S.: *An Introduction to Forensic Genetics*, Oxford. Wiley-Blackwell. p. 67
- Goor L.H.P. van de, Panneman H., van Haeringen W.A., 2009: A proposal for standardization in forensic bovine DNA typing: allele nomenclature of 16 cattle-specific short tandem repeat loci. *Animal Genetics*, 40. 5. p. 630–636. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.01891.x>
- Gupta S.K., Thangaraj K., Singh L., 2011: Identification of the Source of Ivory Idol by DNA Analysis*. *Journal of Forensic Sciences*, 56. 5. p. 1343–1345. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2011.01750.x>
- Gupta S.K., Verma S.K., Singh L., 2005: Molecular insight into a wildlife crime: the case of a peafowl slaughter. *Forensic Science International*, 154. 2-3. p. 214–217. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.12.010>
- Hadas L., Hermon D., Kahila Bar-Gal G., 2016: Before they are gone – improving gazelle protection using wildlife forensic genetics. *Forensic Science International: Genetics*, 24. p. 51–52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.05.018>
- Henry B., Sanders C., 2007: Bullying and Animal Abuse: Is There a Connection? *Society & Animals* 15. 2. p. 107–126. <https://doi.org/10.1163/156853007X187081>
- Hawk DD. 2012: Society for Wildlife Forensic Science In: Huffman J.E., Wallace J.R. (eds): *Wildlife Forensics - Methods and Applications*. Oxford. John Wiley & Sons, Ltd., p. 17
- Ishida N., Sakurada M., Kusunoki H., Ueno Y., 2018: Development of a simultaneous identification method for 13 animal species using two multiplex real-time PCR assays and melting curve analysis. *Legal Medicine*, 30. p. 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2017.11.007>
- Iyengar A., 2014: Forensic DNA analysis for animal protection and biodiversity conservation: A review. *Journal for Nature Conservation*, 22. p. 195–205. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnc.2013.12.001>
- Johnson R.N., Wilson-Wilde L., Linacre A., 2014: Current and future directions of DNA in wildlife forensic science. *Forensic Science International: Genetics*, 10. p. 1-11 <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.12.007>
- Jun J., Han S.H., Jeong T.-J., Park H.C., Lee B., Kwak M., 2011: Wildlife forensics using mitochondrial DNA sequences: Species identification based on hairs collected in the field and confiscated tanned Felidae leathers. *Genes & Genomics*, 33. 6. p. 721–726. <https://doi.org/10.1007/s13258-011-0080-7>
- Kanthaswamy S., 2015: Review: domestic animal forensic genetics - biological evidence, genetic markers, analytical approaches and challenges. *Animal Genetics*, 46. 4. p. 473–484. <https://doi.org/10.1111/age.12335>
- Kanthaswamy S., Tom B.K., Mattila A.-M., Johnston E., Dayton M., Kinaga J., Erickson B.J.-A., Halverson J., Fantin D., DeNise S., Kou A., Malladi V., Satkoski J., Budowle B.,

- Smith D.G., Koskinen M.T., 2009. Canine Population Data Generated from a Multiplex STR Kit for Use in Forensic Casework*. *Journal of Forensic Sciences*, 54. 4. p. 829–840. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01080.x>
- Kitpipit T., Thongjued K., Penchart K., Ouithavon K., Chotigeat W., 2017: Mini-SNaPshot multiplex assays authenticate elephant ivory and simultaneously identify the species origin. *Forensic Science International: Genetics*, 27. p. 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.12.007>
- Kitpipit T., Tobe S.S., Kitchener A.C., Gill P., Linacre A., 2012: The development and validation of a single SNaPshot multiplex for tiger species and subspecies identification—Implications for forensic purposes. *Forensic Science International: Genetics*, 6. 2. p. 250–257. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.06.001>
- Kun T., Lyons L.A., Sacks B.N., Ballard R.E., Lindquist C., Wictum E.J., 2013: Developmental validation of Mini-DogFiler for degraded canine DNA. *Forensic Science International: Genetics*, 7. 1. p. 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.09.002>
- Lacroix C.A., 1998: Another Weapon for Combating Family Violence: Prevention of Animal Abuse. *Animal Law*, 4. p. 1-36
- Lee J.C., Tsai L., Kuan Y., Chien W., Chang K., Wu C., Linacre A., Hsieh H., 2007: Racing pigeon identification using STR and chromo-helicase DNA binding gene markers. *Electrophoresis* 28. 23. p. 4274–4281. <https://doi.org/10.1002/elps.200700063>
- Linacre A., 2012: Capillary Electrophoresis of mtDNA Cytochrome b Gene Sequences for Animal Species Identification, In: Alonso, A. (ed): *DNA Electrophoresis Protocols for Forensic Genetics, Methods in Molecular Biology*. Totowa. Humana Press, p. 321–329. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-461-2_22
- Linacre A. (ed.), 2009: *Forensic Science in Wildlife Investigations, International Forensic Science And Investigation Series*. Boca Raton. Taylor & Francis Group. p. 180
- Linacre A., Gusmão L., Hecht W., Hellmann A.P., Mayr W.R., Parson W., Prinz M., Schneider P.M., Morling N., 2011: ISFG: Recommendations regarding the use of non-human (animal) DNA in forensic genetic investigations. *Forensic Science International: Genetics*, 5. . p. 501–505. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2010.10.017>
- Lockwood R., 2012: Animal Fighting, In: Miller, L., Zawistowski, S. (eds.): *Shelter Medicine for Veterinarians and Staff*. Oxford. Wiley-Blackwell. pp. 441–452. <https://doi.org/10.1002/9781119421511.ch27>
- Lockwood R., Arkow P., 2016: Animal Abuse and Interpersonal Violence: The Cruelty Connection and Its Implications for Veterinary Pathology. *Veterinary Pathology*, 53. 5. p. 910–913. <https://doi.org/DOI: 10.1177/0300985815626575>
- Lopez-Oceja A., Gamarra D., Borragan S., Jiménez-Moreno S., de Pancorbo M.M., 2016: New cyt b gene universal primer set for forensic analysis. *Forensic Science International: Genetics*, 23. p. 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.05.001>
- Lucia S., Killias M., 2011. Is animal cruelty a marker of interpersonal violence and delinquency? Results of a Swiss National Self-Report study. *Psychology of Violence*, 1. 2. p. 93–105. <https://doi.org/10.1037/a0022986>

- Menotti-Ramond M., David V., Stephens J., Lyons L., O'Brien S., 1997: Genetic Individualization of Domestic Cats Using Feline STR Loci for Forensic Applications. *Journal of Forensic Sciences*, 42. 6. p. 1039–1051. <https://doi.org/10.1520/JFS14258J>
- Moon S.H., Jang Y.-J., Han M.S., Cho M.-H., 2016: Population genetic study of 10 short tandem repeat loci from 600 domestic dogs in Korea. *Journal of Veterinary Science*, 17. 3. p. 391. <https://doi.org/10.4142/jvs.2016.17.3.391>
- Moore M.K., Frazier K., 2019: Humans Are Animals, Too: Critical Commonalities and Differences Between Human and Wildlife Forensic Genetics. *Journal of Forensic Sciences*, 64. 6. p. 1603-1621. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.14066>
- Mori C., Matsumura S., 2020: Current issues for mammalian species identification in forensic science: a review. *International Journal of Legal Medicine*, <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02341-w>
- Mullis K.B., Faloona F.A., 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction, In: Wu R. (ed): *Methods in Enzymology, Recombinant DNA Part F*. Academic Press, pp. 335–350. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)55023-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)55023-6)
- Ogden R., Linacre A., 2015: Wildlife forensic science: A review of genetic geographic origin assignment. *Forensic Science International: Genetics*, 18. p. 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.02.008>
- Ogden R., Mellanby R.J., Clements D., Gow A.G., Powell R., McEwing R., 2012: Genetic data from 15 STR loci for forensic individual identification and parentage analyses in UK domestic dogs (*Canis lupus familiaris*). *Forensic Science International: Genetics*, 6. 2. e63–e65. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.04.015>
- Pádár Z., Angyal M., Egyed B., Füredi S., Woller J., Zöldág L., Fekete S., 2001: Canine microsatellite polymorphisms as the resolution of an illegal animal death case in a Hungarian Zoological Gardens. *International Journal of Legal Medicine*, 115. 2. p. 79–81. <https://doi.org/10.1007/s004140100222>
- Pádár Z., Egyed B., Kontadakis K., Füredi S., Woller J., Zöldág L., Fekete S., 2002: Canine STR analyses in forensic practice: Observation of a possible mutation in a dog hair. *International Journal of Legal Medicine*, 116. 5. p. 286–288. <https://doi.org/10.1007/s00414-002-0302-2>
- Pádár Z., Kovács G., Kozma Z., 2020: Molekuláris bűnjelek – Genetika a törvényszéken. *Magyar Tudomány*, 181. 5. p. 604–613. <https://doi.org/10.1556/2065.181.2020.5.4>
- Pádár Z., Kovács G., Nogel M., Czebe A., Zenke P., 2019: Genetika és bűnüldözés - Az igazságügyi célú DNS-vizsgálatok első negyedszázada Magyarországon. *Belügyi Szemle*, 12. 67. p. 7–34.
- Parry N.M.A., Stoll A., 2020: The rise of veterinary forensics. *Forensic Science International*, 306. p. 110069. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.110069>
- Peppin L., McEwing R., Carvalho G.R., Ogden R., 2008: A DNA-Based Approach for the Forensic Identification of Asiatic Black Bear (*Ursus thibetanus*) in a Traditional Asian Medicine*. *Journal of Forensic Sciences* 53. 6. p. 1358–1362. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00857.x>

- Ratnasingham S., Hebert P.D.N., 2007: BOLD: The Barcode of Life Data System. *Molecular Ecology Notes*, 7. p. 355–364. <https://doi.org/doi:10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x>
- S. Tz'u, B. McKnight, B.E. (ford.)1981: The washing away of wrongs, first ed., In: N. Sivin (ed.), *Science, Medicine, & Technology in East Asia*, Ann Arbor. The University of Michigan Center for Chinese Studies. p.145–162.
- Schury N., Schleenbecker U., A. Hellmann, 2014: Forensic animal DNA Typing: Allele Nomenclature and Standardization of 14 Feline STR Markers. *Forensic Science International: Genetics*, 12. p. 42-59. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.05.002>
- Singh A., Gaur A., Shailaja K., Satyare Bala B., Singh L., 2004: A novel microsatellite (STR) marker for forensic identification of big cats in India. *Forensic Science International*, 141. 2-3. p. 143–147. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.01.015>
- Staats M., Arulandhu A.J., Gravendeel B., Holst-Jensen A., Scholtens I., Peelen T., Prins T.W., Kok E., 2016: Advances in DNA metabarcoding for food and wildlife forensic species identification. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408. p. 4615–4630. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9595-8>
- Szabolcsi Z., Egyed B., Zenke P., Borsy A., Pádár Z., Zöldág L., Buzás Z., Raskó I., Orosz L., 2008: Genetic identification of red deer using autosomal STR markers. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 1. 1. p. 623–624. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2007.10.003>
- Szabolcsi Z., Egyed B., Zenke P., Padar Z., Borsy A., Steger V., Pasztor E., Csanyi S., Buzas Z., Orosz L., 2014: Constructing STR Multiplexes for Individual Identification of Hungarian Red Deer. *Journal of Forensic Sciences*, 59. 4. p. 1090–1099. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12403>
- Tautz D., 1989: Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 17. 16. p. 6463–6471. <https://doi.org/10.1093/nar/17.16.6463>
- Tobe S.S., Kitchener A.C., Linacre A., 2010: Reconstructing Mammalian Phylogenies: A Detailed Comparison of the Cytochrome b and Cytochrome Oxidase Subunit I Mitochondrial Genes. *PLoS ONE* 5. 11. e14156. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014156>
- Verscheure S., Backeljau T., Desmyter S., 2013: Reviewing population studies for forensic purposes: Dog mitochondrial DNA. *ZooKeys* 365. p. 381–411. <https://doi.org/10.3897/zookeys.365.5859>
- Vipin, Sharma V., Sharma C.P., Kumar V.P., Goyal S.P., 2016: Pioneer identification of fake tiger claws using morphometric and DNA-based analysis in wildlife forensics in India. *Forensic Science International*, 266. p. 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.05.024>
- Wasser S.K., Mailand C., Booth R., Mutayoba B., Kisamo E., Clark B., Stephens M., 2007: Using DNA to track the origin of the largest ivory seizure since the 1989 trade ban. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104. 10. p. 4228–4233. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609714104>

Webb K.M., Allard M.W., 2009: Identification of Forensically Informative SNPs in the Domestic Dog Mitochondrial Control Region*. *Journal of Forensic Sciences*, 54. 2. p. 289–304. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00953.x>

White N.E., Dawson R., Coghlan M.L., Tridico S.R., Mawson P.R., Haile J., Bunce M., 2012: Application of STR markers in wildlife forensic casework involving Australian black-cockatoos (*Calyptorhynchus* spp.). *Forensic Science International: Genetics*, 6. 5. p. 664–670. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.10.003>

Wictum E., Kun T., Lindquist C., Malvick J., Vankan D., Sacks B., 2013: Developmental validation of DogFiler, a novel multiplex for canine DNA profiling in forensic casework. *Forensic Science International: Genetics*, 7. 1. p. 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.07.001>

Wu Q., Xiang S., Wang W., Zhao J., Xia J., Zhen Y., Liu B., 2018: Species Identification of Fox-, Mink-, Dog-, and Rabbit-Derived Ingredients by Multiplex PCR and Real-Time PCR Assay. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 185. 1. p. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2621-2>

Zenke P., Egyed B., Kovács G., Pádár Z., 2019: Implementation of genetic based individualization of White stork (*Ciconia ciconia*) in forensic casework. *Forensic Science International: Genetics*, 40. p. e245–e247. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.02.001>

Zenke P., Egyed B., Pádár Z., 2017: A vadászható fajok védelme: az orvvadászat bizonyíthatósága az igazságügyi genetika segítségével. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 139. 631–639.

Zenke P., Egyed B., Pádár Z., Kovács G., 2015: Increasing relevance of non-human genetics in Hungarian forensic practice. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 5. p. e250–e252.

Zenke P., Egyed B., Zöldág L., Pádár Z., 2011: Population genetic study in Hungarian canine populations using forensically informative STR loci. *Forensic Science International: Genetics* 5. 1. p. e31–e36. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2010.03.013>

Zou Z., Uphyrkina O.V., Fomenko P., Luo S., 2015: The development and application of a multiplex short tandem repeat (STR) system for identifying subspecies, individuals and sex in tigers. *Integrative Zoology*, 10. 4. p. 376–388. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12136>

Konzulensi ellenjegyzés

Alulírott Dr. Zente Petra Igazolom, hogy

Kovács Flóra (a hallgató neve)

Az igazságügyi állatgenetika helyzetek
Magyarországon című

diplomamunkáját ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2020 11. 18.

.....
Zentner

Aláírás

.....
ATLT

.....
Tanszék