

SZENT ISTVÁN EGYETEM ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI KAR
Ökológia Tanszék



**A KÁRPÁT-MEDENCE RÉTISAS-POPULÁCIÓJÁNAK
(*HALIAEETUS ALBICILLA*) FILOGEOGRÁFIAI ÉS
POPULÁCIÓ-GENETIKAI VIZSGÁLATA**

**Készítette:
Nemesházi Edina**

**Témavezető:
Szabó Krisztián**

**2013
BUDAPEST**

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	3
1.1. Célkitűzés.....	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	4
2.1. Taxonómiai besorolás.....	4
2.2. A <i>Haliaeetus albicilla</i> általános jellemzői.....	4
2.3. Egyedek vonulása, mozgási mintázatai.....	5
2.4. Az európai rétisas-populációk a 20. században.....	6
2.5. A rétisas-populáció története a Kárpát-medencében a 19. század végétől.....	8
2.5.1. A Kárpát-medence délnyugati területeinek rétisas-állománya.....	9
2.5.1.1. A Kopácsi-rét rétisas-állománya.....	9
2.5.2. A Tisza menti területek rétisas-állománya.....	10
2.5.3. A Magyarországgal határos területek rétisas-populációi.....	10
2.6. A rétisas elterjedése és filogeográfiája	11
2.7. Korábbi populációgenetikai vizsgálatok.....	12
3. MÓDSZEREK.....	13
3.1. A tollminták gyűjtése, tárolása.....	13
3.2. Preparálás, DNS-kivonás.....	14
3.3. Molekuláris ivar-meghatározás.....	14
3.4. A mtDNS szakasz felszaporítása és szekvenálása.....	15
3.5. Mikroszatellita fragmensek amplifikálása és analízise.....	16
4. EREDMÉNYEK.....	19
4.1. Molekuláris ivar-meghatározás.....	19
4.2. Mitokondriális DNS.....	19
4.3. Mikroszatellita markerek.....	22
5. KÖVETKEZTETÉSEK.....	24
5.1. A Kárpát-medence rétisas-populációja.....	24
5.2. A Tisza hazai területeinek rétisasállománya.....	25
6. ÖSSZEFOGLALÓ.....	27
7. SUMMARY.....	28
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	29
IRODALOMJEGYZÉK.....	I
FÜGGELÉK.....	VIII

1. BEVEZETÉS

A rétisas (*Haliaeetus albicilla* [Linnaeus, 1758]) jelentős zászlóshajó- és esernyőfaj, és a természetvédelem szimbóluma Európában (PROBST & GABORIK 2011). A faj szempontjából Európa (elsősorban Közép-Európa) rendkívül nagy jelentőségű terület, mind a költőpárok száma, mind a genetikai diverzitás tekintetében. (HAILER et al. 2006, 2007, HONNEN et al. 2010, LANGGUTH et al. 2012)

A rétisas hazánkban fokozottan védett faj, melynek pénzben kifejezett értéke Magyarországon 1.000.000 Ft. (13/2001. (V. 9.) KöM rendelet) A Természetvédelmi Világszövetség vörös listája a nem fenyegetett (Least Concern) fajok közé sorolja, de 2004-ben még a mérsékelt fenyegetett helyzetű fajként tartották számon (IUCN 2012).

A rétisas európai populációi drámai mértékű hanyatlást mutattak a huszadik század során. Az 1970-es évekre számos helyi populáció kihalt, és a legtöbb fennmaradó szubpopuláció mindössze egy vagy néhány tíz költőpárt számlált. Az 1970-es évek után a rétisas-populációk újra növekedésnek indultak, mely folyamat a mai napig tart. (pl. PROBST & GABORIK 2011, LITERÁK et al. 2007, KOLISNYK & GORBAN 1996, KJELLÉN & ROOS 2000, DEMENTAVIČIUS 2007, GANUSEVICH 1996) (Bővebben ld: 2.4. és 2.5. fejezet)

1.1. Célkitűzés

Jelen kutatásban két fő célt tűztünk ki. Egyik célunk a Kárpát-medencei állomány (mint a rétisas elterjedési területének legdélebbi populációja) és az eddig vizsgált állományok filogeográfiai viszonyainak feltérképezése. Másik célunk az volt, hogy a Kárpát-medence területén belül finomabb felosztást hozzunk létre a populáció genetikai vizsgálata révén.

Magyarország mai Tisza menti költőállományának eredete nem tisztázott. Két hipotézist fogalmaztunk meg ezzel kapcsolatban. Egyrészt, a kérdéses költőpárok eljuthattak ide mintegy diffúz módon terjedve, a huszadik századi populáció-hanyatlás idején megmaradt költőterületek későbbi expanziója során. Másrészt viszont a területen évről évre megjelenő, északabbi költőterületekről származó, jelentős méretű telelőállomány egyedeinek egy része szintén megtelepedhetett itt.

Két szinten vizsgáltuk tehát a populációt: filogeográfiai (a faj elterjedési területe és Kárpát-medence összehasonlítása) és populáció-genetikai (a Tisza menti területek a Kárpát-medencén belül, nyugati és tiszai populáció közti génáramlás feltérképezése) skálán.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Taxonómiai besorolás

A rétisas (*Haliaeetus albicilla* [Linnaeus, 1758]) a Falconiformes (súlyomalkatúak) rend Accipitridae (vágómadárfélék) családjába, azon belül a Haliaeetinae („tengeri sasok”) alcsaládba tartozó faj. Az alcsaládba két nemet sorolnak (*Haliaeetus*, *Ichthyophaga*), elterjedésük globális, Dél-Amerika és az Antarktisz kivételével minden kontinens partvidékein és folyói mentén megtalálhatók. Morfológiai és genetikai vizsgálatok szerint közeli rokonságban állhatnak a Milvinae (kányaformák) alcsaláddal (LERNER & MINDELL 2005, SCHREIBER & WEITZEL 1995), és a valódi sasoktól (*Aquila*) jobban elkülönülnek (SCHREIBER & WEITZEL 1995). A Haliaeetinae monofiletikus, a *Haliaeetus* nem azonban parafiletikus taxonnak mutatkozik. (LERNER & MINDELL 2005)

2.2. A *Haliaeetus albicilla* általános jellemzői

Magányosan fészkelő, territoriális faj, melynek egyedei jellemzően ártéri erdők, illetve vizek menti erdőségek környékén, fák lombkoronájába, illetve sziklaszirtekre, vagy a talajra, pl. mocsarak, turjánok területén, valamint Norvégia, Grönland és Izland bizonyos területein (SCHENK 1929, HELANDER & STJERNBERG 2003) építik gallyakból készült fészkeiket. A Kárpát-medencében gyakran idős erdőrészekben és facsoportokban, jellemzően a fő állományalkotó fajokra (*Populus sp.*, *Quercus robur*, *Fraxinus angustifolia*) építkeznek, általában 18-25 m magasságban (HORVÁTH & PINTÉR 2005, RADOVIĆ & MIKUSKA 2009). Tollazatuk öt éves korukban nyeri el a felnőtt kori színezetét, és általában akkor kezdődik meg a szaporodásuk, de előfordul, hogy már korábban költésbe kezdenek (pl. HELANDER & STJERNBERG 2003, SÁNDOR & ECSEDI 2004). Évente egyszer költenek, melynek fő ideje Közép-Európában február második fele, néhány pár azonban már január közepén megkezdí a kotlást (PROBST & GABORIK 2011, Horváth Zoltán pers.comm.), ezzel szemben Észak-Európában később, pl. Svédországban: március-április időszakban kezdődik (HELANDER 1985a). A fészkealjok 1-3 (jellemzően 2) fiókából állnak (pl. HELANDER 1985a, POCORA 2010, SÁNDOR & ECSEDI 2004, GANUSEVICH 1996). A kirepült fiókák általában 3-4 hét után elhagyják a fészek környékét (pl. HELANDER 1985a) (néha előfordul, hogy tovább is a szülőkkel maradnak, pl. Litvániában gyakran csak ősz végén válnak önállóvá fiatalok, és olykor október elejéig is a szülők etetik őket (DEMENTAVIČIUS & TREINYS 2009).

A szomszédos fészkek távolsága élőhelyenként eltérő lehet, és a populáció egyedsűrűsége

is befolyásolhatja (600m-5 km: BANK et al. 2004; min. 348 m: RADOVIĆ & MIKUSKA 2009; min. 4.5 km: GANUSEVICH 1996).

A rétisas nagyon eltérő élőhelyeken költ (fátlan fjordok, brakkvízi erdőségek, a tajga tavainak és folyóinak mentén, Közép-Európa ártéri erdőségeinek környékén). A legtöbb helyen azonban erősen függnek vizes élőhelyek nyújtotta táplálékforrástól. (pl. HELANDER & STJERNBERG 2003)

Zsákmányuk legjelentősebb részét halak és vízimadarak, kisebb részben emlősök (gyakran döggént fogyasztva, főleg a téli hónapokban (DEMENTAVIČIUS 2004, POCORA 2010, PROBST & GABORIK 2011)), és ritkábban hullók teszik ki. Ezek aránya a széles elterjedési területük egyes részein különböző, az élőhely adottságai szerint változik (DEME et al. 2009, DEMENTAVIČIUS 2004, GANUSEVICH 1996, WILLE & KAMPP 1983, POCORA 2010). Nem ritka más (akár ragadozó) fajok fiókáinak elhurcolása sem (pl. gém: POCORA 2010; egerészölyv (*Buteo buteo*), melynek fiókáját akár etetheti, és fel is nevelheti a sas pár (HORVÁTH 2006, DEMENTAVIČIUS 2004, LITERAK & MRAZ 2011, PALKÓ 1997)). Több kutató is beszámolt arról, hogy néhány költőpár specializálódott egyes nem-tipikus zsákmányállat-fajokra (pl. a Kárpát-medencében mocsári teknősre (*Emys orbicularis*)). (DEME ET AL. 2009, SÁNDOR & ECSEDI 2004, DEMENTAVIČIUS 2004)

2.3. Egyedek vonulása, mozgási mintázatai

A faj idősebb egyedei az elterjedési területen, néhány északi populáció kivételével, általában egész évben helyben maradnak, a fiatal egyedekre viszont jellemző a migráció, illetve a kóborlás (az Atlanti-óceán partjai mentén a fiatalok általában állandóak, de ott is nagy területeket járhatnak be). Az Európa számos régiójában megtalálható vonuló- és telelőterületek általában egybeesnek a költőterületekkel. (HELANDER & STJERNBERG 2003)

Az egyes területeken általában nem ismert pontosan a telelőként megjelenő egyedek eredete, csupán szórványos gyűrűzési adatok alapján tudnak következtetéseket levonni a kutatók. Például Svédország északi és középső régiói fontos telelőterületei mind Svédországból, mind a finn Lappföldről származó rétisasoknak, de láttak itt Lengyelországból és Németországból származó egyedeket is (HELANDER 1985b), és a Cseh Köztársaságban is leírtak Finnországban gyűrűzött madarat (LITERÁK et al. 2007).

A költőpárok a legtöbb területen egész évben a territóriumuk közelében maradnak, bár jelenlétük a fészük közelében a november-január időszakban sokkal alacsonyabb, mint szeptemberen, illetve februárban (Litvánia: DEMENTAVIČIUS & TREINYS 2009).

A fiatalok önállóvá válásuk után jellemzően véletlenszerű kóborolást folytatnak, melynek irányát valószínűleg az elérhető táplálékforrások szabják meg (pl. SHIRAKI 2002). A téli időszakban számos területen megfigyelhető a migrációjuk (pl. PROBST & GABORIK 2011, HELANDER & STJERNBERG 2003). Ebben a korban igen nagy távolságokat tehetnek meg a származási helyüktől (pl. a Cseh Köztársaságban feljegyeztek Észtországból és Finnországból származó egyedeket, több, mint 1000, illetve 2000 km-re a kikelésük helyétől (LITERÁK et al. 2007). Ilyen nagy távolságok megtétele nem okoz nehézséget ezeknek a madaraknak, pl. Magyarországról 2 napon belül jutott el egy példány Oroszországba, 1500 km-t megtéve (SÁNDOR & ECSEDI 2004).

Több kutatás eredményei alapján a rétisasok jellemzően terület hűnek tekinthetők, párba állás után gyakran a kikelési helyükhöz közel telepednek le (pl. ROBST & GABORIK 2011, HELANDER 2003a, 2003b, HAILER et al. 2006). Ezzel szemben a rétisas láthatóan nagy távolságú terjedésre és kolonizációra képes, hiszen a faj megtalálható Izlandon, Grönlandon és valószínűleg Hawaiiin is élt kb. 3300 évvel ezelőtt (FLEISCHER et al. 2000), és a téli migrációk alkalmával is nagy távolságokat tesznek meg (pl. LITERÁK et al. 2007, HORVÁTH 2012, DUDÁS 2007).

2.4. Az európai rétisas-populációk a 20. században

A rétisasok számára hosszú ideje veszélyt jelent az erdőgazdálkodási tevékenység, az építkezésből adódó élőhelycsökkenés, a folyók szabályozása és vizek kiszáritása, az emberi zavarás, a táplálékforrások csökkenése, a vadászat (pl. FINTHA 1976, CHERNEL 1899, KOLISNYK & GORBAN 1996), a tojások és fiókák gyűjtése, a különböző eredetű mérgezések, és a 20. század második felétől az elektromos vezetékek okozta áramütések. (HELANDER & STJERNBERG 2003, TEVELY 1996, BANK et al. 2004, HARASZTHY & BAGYURA 1993, STERBETZ 1993)

A 20. század közepén a rétisas-populáció Európa-szerte drámai mértékű csökkentést mutatott, de az észak- és közép-európai populációban kiemelkedően stabil volt Norvégia állománya, mely kevésbé volt kitéve az addigra Európa-szerte elterjedt mezőgazdasági szennyező anyagok (elsősorban a DDT (dikloro-difenil-triklóretán) és származéka, a DDE (dikloro-difenil-diklóretén), valamint a PCB (poliklórozott bifetil) vegyületek) hatásának. Míg más országokban kimutatható volt a DDE és a PCB vegyületek jelentős reprodukcióra gyakorolt csökkentő hatása (pl. Svédország: HELANDER 1985a, HELANDER et al. 2002; Németország: KOEMAN 1972) – első sorban a tojánhéjak elvékonyodása, a tojások kiszáradása

révén (HELANDER et al. 2002; *Haliaeetus leucocephalus*, USA: WIEMEYER 1984) – , Norvégiában nem csökkent jelentősen a populáció szaporodási sikere 1974 és 1994 között, és a tojásoknak mindössze 3%-ában haladta meg a kritikus értéket a DDE-koncentráció (NYGÅRD & SKAARE 1998) (habár a közelmúltban Észak-Norvégiában a tengerparton magas POP (perzisztens organikus szennyező anyagok) szennyezettséget mutattak ki (EULAERS et al. 2011)). A Balti-tenger partján a DDT betiltása után 10 évbe telt, mire a reprodukciós siker újra emelkedni kezdett, de a szennyezés előtti értékeket további 15 év elteltével sem érte el (HELANDER et al. 2002). A közeli rokon *Haliaeetus leucocephalus* faj esetén kimutatták, hogy a perzisztens mérgek mennyisége az egyedekben nő a trofikus szintek számával és a tengeri táplálék arányával (ELLIOTT et al. 2009).

Az 1970-es évek (a DDT, és más lassan bomló vegyületek mezőgazdasági használatának betiltása és számos védelmi intézkedés elindítása) után Európa országainak rétisas-populációi gyors növekedésnek indultak. Például a Kola-félszigeten 1976 és 1990 között kettőről 13-ra emelkedett a költő-territóriumok száma (GANUSEVICH 1996); Litvániában fészkelésének 1978-as teljes megszűnése után 1987-ben kezdett költeni ismét, és 2007-re a territoriális párok száma elérte a 90-et (DEMENTAVIČIUS 2007); Németországban 1981 és 2005 között a territoriális párok száma 130-ról 500-ra emelkedett (SULAWA et al. 2010); Magyarországon 1987 és 2010 között kb. 15-16-ról 226-ra emelkedett a költőpárok száma (PROBST & GABORIK 2011, HORVÁTH 2009, HORVÁTH 2012).

Annak ellenére, hogy a globális populáció-hanyatlás idején az európai állománynak több, mint 70%-át jelentette a Norvégia atlanti-óceáni partjai mentén élő populáció, Észak- és Közép-Európában a génáramlás mértéke alacsonynak mutatkozik, így a mai európai állományok alapvetően nem származtathatóak a norvégiai populációtól. (HAILER et al. 2006)

PROBST & GABORIK (2011) szerint az európai állomány egy északkeleti (első sorban Norvégia, Svédország, Finnország, Oroszország, Lengyelország, Németország) és egy délkeleti (alapvetően a Duna-völgy országai, melyek közül a legfontosabbak: Magyarország, a Bajorország (Németország tartománya), Ausztria, Szlovákia, Horvátország, Szerbia, Bulgária, Románia, és Ukrajnának a Duna-delta vidékére eső része) szubpopulációra osztható. Németország esetén a Dunát egyfajta folyosónak tekintik, amely összeköti a nagy észak-európai populációt a Duna-völgy populációjával. A délkeleti régióba sorolt állományokban a Dunához közel költő párok aránya magasabb (pl. Bulgária: 80%, Románia: közel 90%), míg a németországi állomány a Dunától távolabb, az ország északi régióiban költ, kapcsolatban állva a lengyel állománnyal. (PROBST & GABORIK 2011)

Az említett délkeleti állományban kb. 650 rétisas pár él, melyből közel 200 függ

ökológiailag a Dunától. Emellett a Duna folyórendszere jelentős telelőterülete is a fajnak. (PROBST & GABORIK 2011)

2.5. A rétisas-populáció története a Kárpát-medencében a 19. század végétől

A Kárpát-medence rétisas (*Haliaeetus albicilla*) elterjedési területének déli határán helyezkedik el. (HELANDER & STJERNBERG 2003)

Magyarországon az 1800-as évek végén a rétisas gyakori faj, és a leggyakoribb sasfaj volt (Európában és Ázsiában szinte mindenütt honos volt akkoriban) (WILDBURG 1897, CHERNEL 1899). Sokáig gazdasági kártevőként tartották számon és irtották a rétisast (FINTHA 1976, CHERNEL 1899). Az egyedszám az 1900-as évek elején csökkenésnek indult (pl. FINTHA 1976, BANK et al. 2004).

Magyarország rétisas-élőhelyeit TEVELY (1996) két nagy csoportra osztja: a nagy folyóinkhoz (Duna, Dráva, Tisza) kapcsolódó galériaerdők (kiterjedésük jelentősen csökkent a folyószabályozások következtében), valamint az alföldi erdők, természetes tőrendszerekkel és mesterséges halastavakkal (a dél-dunántúli régió jellegzetes élőhelyei).

Az 1950-es évek elején a teljes hazai állományt 9-10 párba becsülték (FINTHA 1976), pl. Szegeden (BERETZK 1955) és Varáslón (Somogy megye) (BREUER 1955) jegyezték fel költést.

Az 1970-es években 2-12 párba becsülték a költő állományt Magyarország egész területén (a ma elfogadott becslés az időszakra min. 10 pár: Horváth Zoltán pers. com.) (FINTHA 1976, HARASZTY & BAGYURA 1993). Fészkelőként az ország jelentős részéről eltűnt, csak a dél-dunántúli területeken volt ismert költés (HORVÁTH 2009), és bizonyos években egyetlen fióka sem repült ki az országban (FINTHA 1976, HARASZTY & BAGYURA 1993).

A „dúvad-mérgezések” betiltása, vizek vegyi-szennyezésének csökkentése, az ország több pontján végzett téli etetések rendszeressé válása és számos műfészkek kihelyezése hozzájárulhatott (HARASZTHY & BAGYURA 1993, BANK et al. 2004), hogy a hazai állomány az 1980-as években növekedésnek indulhasson. 1991-től több védelmi intézkedés született, a fészkek körül védőzónákat jelöltek ki. Mindezeknek köszönhetően az 1990-es évek elején kb. 35 párból (HARASZTHY & BAGYURA 1993), 2007-ben 166 párból (HORVÁTH 2009), 2010-ben 226 párból állt a hazai állomány (HORVÁTH 2012).

Magyarország a költőállomány hanyatlásakor is fontos telelőterületekkel szolgált a rétisas számára. Az első telelő példányok szeptemberben jelennek meg, létszámuk novemberben éri el a csúcst, a nyári lúd csapatok érkezésével (pl. HORVÁTH 2009, SÁNDOR & ECSEDI 2004).

Előfordul, hogy a hazai párok már megkezdik a költést, amikor még jelen vannak az északabbi területekről származó példányok is (HORVÁTH 2009, SÁNDOR & ECSEDI 2004). Kiemelkedően fontos telelőterületek a biharugrai halastavak, a Hortobágy és a Duna-völgy (BANK et al. 2004). Hazánkban telelő és kóborló egyedeket figyeltek meg pl. Gemencen az egykori Jugoszlávia területéről (HAM et al. 1990), a Hortobágyon Észtországból, Litvániából, Lengyelországból és Oroszországból (DUDÁS 2007), valamint az ország különböző területein feljegyeztek Szlovákiából, Finnországból, Svédországból, Lettországból, Horvátországból és Szerbiából származó színes gyűrűs és szárnyjelölt példányokat is (HORVÁTH 2012). A hazánkban telelő rétisasok száma a költő állománnyal együtt kb. 800-1000 példányra tehető (HORVÁTH 2009).

2.5.1. A Kárpát-medence délnyugati területeinek rétisas-állománya

Az 1970-es években az országban csak a dél-dunántúli területeken volt ismert rétisas-fészkelés. A Hanság, Szigetköz, Hortobágy, Csongrád megye és a Közép-Felső-Tisza régióban biztosan nem költött rétisas. (HORVÁTH 2009)

Jelentős költő- és telelőterület az Alsó-Duna-völgy, melynek körülbelül 75 km-es szakaszán költött 2004-ben a hazai állomány egyötöde (BANK et al. 2004). Gemenc és Somogy megye a legjelentősebb telelőterületek közé tartoznak az országban (HARASZTHY et al. 2003).

1955-re legfeljebb 9-10 lakott fészek volt ismert Gemencen (BÖRÖCZKY 1957). TEVELY (1996) úgy jellemezte a Gemenci Erdőt, mint az egyetlen kivételt a Duna szabályozásából adódó élőhelycsökkenés alól.

2002-ben 10 pár költött sikeresen a területen, a telelni érkező egyedek száma pedig kb. 60-80 (BANK et al. 2004). Nem ismert pontosan, hogy honnan érkeznek ide a telelő egyedek, de feljegyeztek itt pl. az egykori Jugoszlávia területéről származó egyedeket (HAM et al. 1990).

2007-ben a hazánkban ismert 166 költőpár közül 17 a Duna déli szakaszán, 12 Tolna megyében, 23 Baranya megyében, 41 pedig Somogy megyében fészkel (HORVÁTH 2009).

2.5.1.1. A Kopácsi-rét rétisas-állománya

A Kárpát-medence kiemelkedő fontosságú költőterülete a Duna és Dráva összefolyásánál található Kopácsi-rét, ahol régóta jelentős rétisas-állományt tartottak számon (SCHENK 1929). Még a 70-es években is minimum 20 lakott fészek volt jelen a 30 000 hektáros területen (MIKUSKA 1978). A Kopácsi-rét költőállományát 2009-ben 42-45 költőpárra becsülték

(RADOVIĆ & MIKUSKA 2009), napjainkban világszinten kiemelkedő egyedsűrűségben költ itt a faj (MIKUSKA 2009).

2.5.2. A Tisza menti területek rétisas-állománya

A Tisza Csongrád megyei szakaszán 1976-ban szűnt meg a költés (STERBETZ 1993), a Hortobágy területén pedig az 1970-es évek előtt már hosszú ideje nem költött a rétisas (FINTHA 1976), bár október és március között a teelők példányok minden évben felkeresték a Hortobágyi-halastó és az Ohati-tavak vidékét és még néhány tavat (FINTHA 1976, KOVÁCS 1984). A hortobágyi teelők-állomány az 1970-es évek közepén 8-30 egyedből állt, amely nagy létszám ritkaságnak számított Európában (FINTHA 1976), és 1981-ben itt is megkezdtek a rendszeres téli etetésüket (KOVÁCS 1984). 1997-ben az országban előfordult 300-400 teelők egyed közül kb. 50-60 volt jelen a Hortobágyon, és kb. 40 Békés megyében (HARASZTHY et al. 2003). A teelők létszámának csúcsa a Hortobágyon a 2000-es évek elején elérte a 35-60, vagy akár a 80-120 példányt is (HORVÁTH 2009, SÁNDOR & ECSEDI 2004).

Az Alföldön először a Közép-Tisza régióban jegyezték fel sikeres költést 1987-ben, majd az 1990-es évek elejétől fokozatosan jelentek meg újabb területeken (Csongrád megye, Hortobágy, Békés megye) (HORVÁTH 2009).

A Hortobágyon már 1972-ben voltak költési próbálkozások (FINTHA 1976), de az első sikeres fészkelést csak 1995-ben jegyezték fel, majd 1997-ben és 2000-ben újabb párok kezdtek sikeres költésbe (SÁNDOR & ECSEDI 2004). Mára állandó, növekvő fészkelő állomány jött létre, 2007-ben már 13 költőpárt tartottak számon a Hortobágy területén (HORVÁTH 2009).

2007-ben a Jászságban 1, a Kiskunságban 6, a Felső-Tisza vidékén 2, Csongrád megyében 10, Békés megyében 5 költőpárt számláltak (HORVÁTH 2009).

2.5.3. A Magyarországgal határos területek rétisas-populációi

A Kárpát-medencét körülvevő országok közül a 20. század közepén több tíz évig nem jegyezték fel rétisas-költést Szlovákiában, Ausztriában és a Cseh Köztársaságban (LITERÁK et al. 2007, PROBST & GABORIK 2011, HELANDER & STJERNBERG 2003), és a többi országban is egy, vagy néhány tíz költőpárra csökkent az állomány (pl. PROBST & GABORIK 2011, HELANDER & STJERNBERG 2003, KOLISNYK & GORBAN 1996).

2.6. A rétisas elterjedése és filogeográfiája

A rétisas (*Haliaeetus albicilla*) mai fészkelő állományai a Nearktisz legkeletibb részén (Grönland) és a Palearktisz északi felén (Izland, Európa, Közép- és Észak-Ázsia és Japán) találhatóak. Az európai rétisas-populáció több, mint 55%-át Norvégia és Oroszország állománya teszi ki, a teljes európai állományt 5000-6600 költőpárra becsülik. (BIRDLIFE INTERNATIONAL 2004)

A faj filogeográfiai mintázatát a mitokondriális kontroll DNS régió egy 500bp hosszúságú szakasza segítségével térképezték fel (HAILER et al. 2007). A faj teljes elterjedési területén ismert haplotípusok száma 13-ról (HAILER et al. 2007) 38-ra emelkedett későbbi vizsgálatok során (HONNEN et al. 2010, LANGGUTH et al. 2012). A ma ismert 38 haplotípus (egy kivételével) két nagy haplocsoportra osztható, melyek elterjedési területe kelet-nyugati irányban elkülönül, de Európában jelentős átfedést mutat (HAILER et al. 2007, HONNEN et al. 2010, LANGGUTH et al. 2012).

Ez a két ág a késő Pleisztocénben különülhetett el. Úgy látszik, hogy ebben az időszakban a keleti haplocsoport gyors populációs növekedésen és kolonizációs folyamaton ment keresztül Euráziában, míg a nyugati haplocsoport kisebb változatosságot, és a kelet-ázsiai populációtól való nagy távolságot mutat. Mindezek alapján feltehetően 2 nagy refúgiumban vészeltette át a faj az utolsó jégkorszakot, melyek Közép-, illetve Nyugat-Euráziára tehetők. (HAILER et al. 2007) Összhangban áll ezzel az elmélettel a Gibraltár Pleisztocén kori barlangi lerakódásából származó bal humerus (LYDEKKER 1891), de a Bükk-hegység hámosi Puskaporos barlangjában is találtak két Pleisztocén kori rétisas leletet (egy metacarpus és egy ulna, a rágcsáló réteg alatti sárga agyagból) (LAMBRECHT 1914). Az utolsó glaciális időszak végén jelen volt a faj az Egyesült Királyság területén is (HARRISON 1988), és a Neolitikumból (Pleisztocén vége, Holocén eleje) származó leleteket találtak Finnországban is (MANNERMAA 2003).

Az eljegesedés elmúltával a populációk újra növekedésnek indulhattak, és keveredhettek egymással. Az északi területeket az utolsó eljegesedés maximumának idején jégpáncél borította, így a glaciális időszak után keletkező olvadékvíz-folyók és a már kialakult tavak nyújtotta élőhelyen a populáció újra növekedésnek indulhatott. (HAILER et al. 2007)

2.7. Korábbi populációgenetikai vizsgálatok

Az eddig vizsgált európai populációkban az említett mtDNS szakasz (2.6. fejezet) és számos mikroszatellita marker alapján nem tapasztalható a 20. században bekövetkezett állománycsökkenések következtében várt mértékű genetikai diverzitás-csökkenés, nincs jele palacknyak-hatásnak (HAILER et al. 2006, HONNEN et al. 2010). E jelenség egyik oka az lehet, hogy bár az észak- és közép-európai populációk alapvetően lokálisnak tekinthetők, néhány bevándorló egyed növelheti a genetikai változatosságot. Emellett igen jelentős szerepe lehet a faj hosszú generációs idejének (17 év átlagos élettartam), mely csökkenthette a genetikai sodródás mértékét, hiszen a drasztikusan kicsi populációméret 20-30 évnyi időszakot érintett, ami két generációnak felel meg (HAILER et al. 2006).

HONNEN et al. (2010) vizsgálatában a közép-európai rétisas-populációk, hasonlóan az említett haplotípusok európai mintázatához (ld. 2.6. fejezet), hét mikroszatellita marker alapján két klaszterre voltak oszthatók, szintén keletibb és nyugatibb elterjedéssel (habár a minták halott egyedekből, vedlett tollakból és múzeumi példányokból származtak, és pl. az Ausztriában vizsgált 13 egyedből egy Finnországból, egy pedig Észtországból származott).

LITERÁK et al. (2007) a Cseh Köztársaságban a rétisas teljes eltűnését követő újjrakolonizációban résztvevő madarak eredetét vizsgálta. Az analízisbe vont 45 – nem csak a területen fészkelő vagy kirepülő – egyeden, hat mikroszatellita lókuszt alapján, a Cseh Köztársaság és Szlovákia rétisasállománya keveredő populációnak mutatkozott. 18 ismert származású (Cseh Köztársaság, Románia, Németország) egyed külön vizsgálata során azonban a cseh állomány egy északi és délnyugati, valamint egy délkeleti (Szlovákiával összefüggő) állományra volt osztható. A kutatók feltételezik, hogy a délkeleti régiót a Dunához kötődő, Szlovákiából, Ausztriából, illetve Magyarországról származó rétisasok, míg a délnyugati és északi területeket más, pl. németországi, illetve lengyelországi eredetű egyedek foglalták vissza.

3. MÓDSZEREK

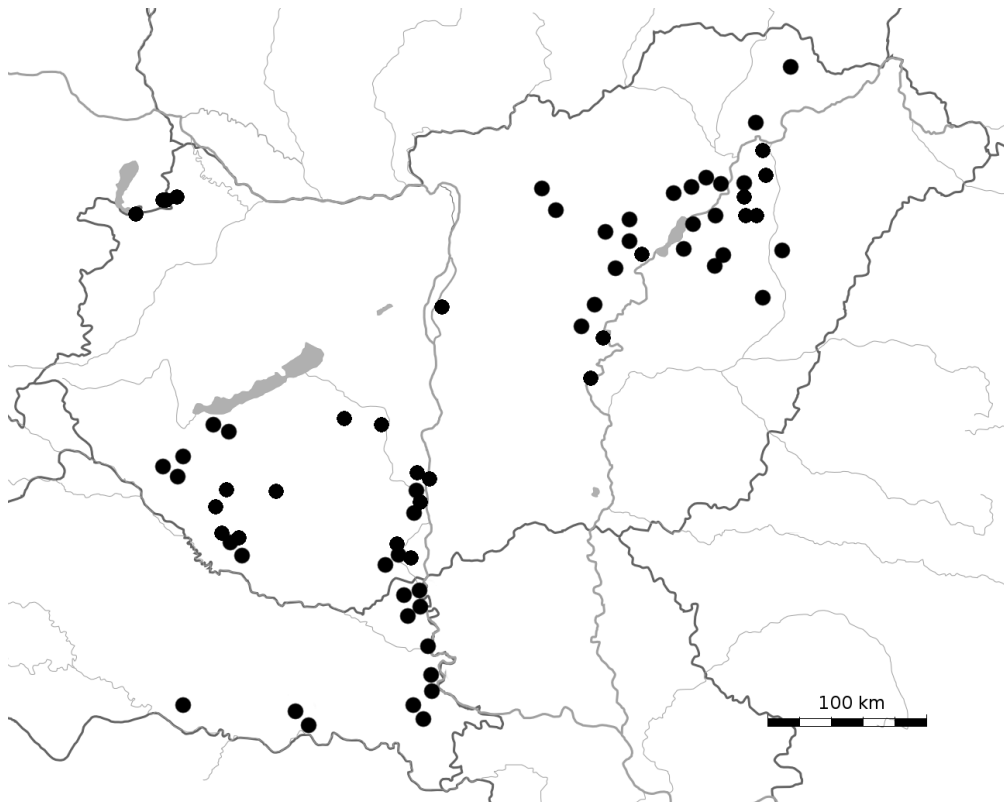
3.1. A tollminták gyűjtése, tárolása

2010-2012-ben a Kárpát-medence Tisza menti és nyugati területein az illetékes nemzeti parkok gyűrzési engedéllyel rendelkező munkatársai, az éves gyűrzési program keretében gyűjtöttek tollmintát a rétisas fiókáktól (Engedélyek: Országos Környezetvédelmi, Természetvédelmi és Vízügyi Főfelügyelőség 14/1514-3/2010 és 14/433-4/2011 ügyszámú határozata). A mintavételi területek a 3.1. ábrán láthatók.

A tollminták gyűjtésének pontos helye (GPS koordináták révén) rögzítésre került. Az egyes egyedektől származó tollak külön, 96%-os etanolt tartalmazó műanyag csőbe (néhány esetben száraz, műanyag zacskóba) kerültek. A laboratóriumba érkezéstől feldolgozásig minden mintát 4°C-on tároltunk.

Minden egyed tollmintái egyedi mintakódot kaptak, táblázatban rögzítettük a gyűjtés pontos helyét, időpontját, valamint a gyűrzőszámot, és (amennyiben volt ilyen) a gyűrző által becsült ivart.

Összesen 143 egyed tollmintáit vizsgáltuk meg, a populációgenetikai vizsgálatokba 104 mintát vontunk be.



3.1. ábra: A rétisas-fiókák mintavételi helyei.

3.2. Preparálás, DNS-kivonás

A fiókáktól származó, tépett tollak esetén könnyen juthatunk nagy mennyiségű DNS-hez a tollvégnlemetszésével (ezt a módszert sikerrel alkalmazta pl. MARKIS 2010, MORIN et al. 1994). Ezekből a tollakból a tollvég 0.5 cm-es darabját vágtam le steril szikepenge segítségével, parafilm alátétén, majd a levágott darabot 1-5 ml-es centrifugacső belső falára helyezem, hogy a konzerváló alkohol elpárologhasson. A kipreparált tolldarabokat -20°C-on tároltuk a DNS-kivonásig.

A sok vért tartalmazó tollak esetén a DNS-kivonást Gemmell & Akiyama (1996) által leírt kisózásos protokoll szerint végeztem, kiegészítve 10 µl ditiotreitolt (DTT, 1M) hozzáadásával (Weigmann 1968). A kisebb tollak, illetve azon tollak esetén, melyekből nem volt sikeres a DNS-kivonás a kisózásos protokoll segítségével, DNS-izoláló kit-et használtam (Quiagen - DNEasy Blood & Tissue Kit), a gyártó által javasolt protokoll szerint. (Előnye, hogy a DNS kivonása gyorsabb, egyszerűbb, és a kapott DNS-oldat nagyobb tisztaságú lehet, mint a kisózásos módszerek esetén.) A kivont DNS-mintákat -20°C-on tároltuk.

3.3. Molekuláris ivar-meghatározás

Minden egyeden molekuláris ivar-meghatározást végeztünk a 2550F-2718R primer pár (FRIDOLFSSON & ELLEGREN 1999) felhasználásával (3.2. táblázat), a szerzők által leírt protokoll szerint, de „touch-down” PCR helyett az anellációs hőmérséklet a kezdetektől 50°C volt. Ez a primerpár az ivari kromoszómákon található CHD1 (kromo-helikáz DNS-kötő fehérje) génhez kötődik, mely két változatban létezik a madarak esetén: W kromoszómához (GRIFFITHS & TIWARI 1995), illetve Z kromoszómához (az eredetileg CHD-NW néven közölt változat a Z kromoszómán található (GRIFFITHS & KORN 1997)) kötött változatban. A 2550F-2718R primer pár a két génváltozaton az eltérő méretű intronok miatt eltérő méretű termékeket eredményez. Ez a különbség a fajok többségénél kb. 150 bp. (FRIDOLFSSON & ELLEGREN, 1999)

Mivel madarak esetén a tojó a heterogametikus (WZ), a hím pedig a homogametikus (ZZ) ivar, ennek a szakasznak a felszaporítása hímek esetén egy (rétisasokban kb. 750 bp (HELANDER et al. 2007), míg tojók esetén két eltérő (rétisasokban kb. 750 és 450 bp (HELANDER et al. 2007) hosszúságú terméket eredményez.

Azon tollak esetén, melyeknél ez a módszer nem volt sikeres, CHANG et al. (2008) módszerét alkalmazva, a jóval rövidebb fragmenseket felszaporító P2 és CHD-ZW-általános, valamint a P2 és CHD-W-specifikus primerpárok segítségével végeztük el az ivar

meghatározását (3.2. táblázat). Az első primerpár a Z és W kromoszómákhoz egyaránt kötődik, és egyforma méretű (eddig vizsgált fajokban kb. 148 bp) fragmenst eredményez (mindkét ivarban látható), míg a másik primerpár csak a W kromoszómához kötődik, így csak tojók esetén ad terméket (eddig vizsgált fajokban kb. 258 bp).

A reakciók 25 µl térfogatban zajlottak (2,5 µl PCR Puffer (10x DreamTaq™, Fermentas), 0,1µl DreamTaq™ (Fermentas), 1µl dNTP (0,5 mM, Fermentas), 1 µl MgCl₂ (25mM, Promega), 2-2µl primer (5 pmol/µl), 15,4 µl H₂O és 1 µl DNS (10-40 ng/µl) hozzáadásával). Az egyedek ivarát a PCR-termékek molekulatömeg-marker (GeneRuler 50 bp, Fermentas) mellett végzett gélelektroforézise után (1,5 % gél, 100V, 45 perc), etídium-bromid oldatban történt festét követően (5 perc etídium-bromid oldat, majd 10 perc deszillált víz), vizuális értékelés során határoztuk meg (UV-asztal: Vilber Lourmat ECX-20.C).

3.4. A mtDNS szakasz felszaporítása és szekvenálása

A Kárpát-medence különböző területein gyűjtött, 18, különböző fészkekből (illetve két minta esetén azonos fészkekből de különböző évből) származó fiókatól gyűjtött tollmintán vizsgáltuk a mitokondriális DNS kontroll régiójának egy szakaszát, amelyet korábban más kutatók is használtak a rétisások genetikai vizsgálata során (HAILER et al. 2006, HAILER et al. 2007, HONNEN et al. 2010, LANGGUTH et al. 2012).

Az alkalmazott HalHVR1F-HalHVR1R (HAILER et al. 2007) primerpár (3.2. táblázat) egy 500 bp hosszúságú szakaszt szaporít fel. A PCR reakció a HAILER et al.(2007) által leírt program szerint zajlott. A kapott termékeket 2%-os agaróz gélen történő elektroforézist (100 V, 30 perc, GeneRuler 50 bp, Fermentas létrával) követően (etidium-bromid oldatban megfestve, majd UV-asztra (Vilber Lourmat ECX-20.C) helyezve) ellenőriztük, és sikeres reakció esetén a minták szekvenálásra kerültek.

A PCR termék a gélből szikével kivágásra került, majd Millipore Montage Kit segítségével tisztítottuk ki. A tisztított terméken mindkét irányban elvégeztük a szekvenáló PCR-t, Abi-BigDye® Terminator v3.1Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) használatával, a gyártó által közreadott receptek szerint. A kapilláris elektroforézis Abi 3130 automata szekvenátorral (Applied Biosystems) történt.

A szekvenáló PCR során a kezdeti denaturáló lépés 96 °C-on zajlott 1 percig, majd 25 ciklusban a denaturáció 96°C-on 10 mp-ig, az anelláció 50°C-on 5 mp-ig, az elongáció pedig 60°C-on 4 percig zajlott. A szekvenáló PCR termékeinek kapilláris elektroforézise Abi 3130 automata szekvenálóval (Applied Biosystems) történt.

A futásfájlokat Staden programcsomaggal (STADEN et al. 2000) ellenőriztük és rendeztük kontigokba, majd ClustalW szoftver (THOMPSON et al. 2002) segítségével illesztettük össze a homológ pozíciókat. Az összeillesztett szekvenciákból a Splitstree 4 szoftver (Huson & Bryant 2006) segítségével median-joining haplotípus-hálózatot számoltunk (BANDELT et al. 1999).

Eredményeinket összevetettük az NCBI nyilvános adatbázisában található szekvenciákkal (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>; AM156933.1 – AM156945.1, GU134347.1 – GU134358.1, JQ435485-JQ435496, EU779948).

3.5. Mikroszatellita fragmensek amplifikálása és analízise

A populáció-genetikai vizsgálatokba 104 mintát vontunk be (köztük 27 közös fészekből származó testvérpár is volt). Mindegyiken 10 mikroszatellita markert vizsgáltunk, melyek *Haliaeetus albicilla* és *Aquila heliaca*, valamint *Aquila adalberti* sasokra publikáltak (részletes adatokat lásd a 3.2. táblázatban), és amelyeket a faj széles elterjedési területének számos populációjában vizsgáltak már (HAILER et al. 2006, HONNEN et al. 2010, LITERÁK et al. 2007).

Minden lókuszt külön PCR során szaporítottunk fel (25 µl térfogatban, részletesen ld. 3.3. fejezet). Az Aa 35 lókuszt kivételével HAILER et al. (2005) módosított PCR-beállításait (37 ciklus, 45 mp anelláció és elongáció) alkalmaztuk. Az anellációs hőmérséklet beállítása néhány kivétellel az adott primerpárt leíró publikáció szerint történt (ld. 3.2. táblázat). Az Aa35 lókuszt esetén „touch-down” PCR ciklust alkalmaztunk (Martínez-Cruz et al. 2002).

Minden PCR reakció sikerességét gélelektroforézis során ellenőriztem (1,5% agaróz gél, 100 V, 35 perc, GeneRuler 50 bp, Fermentas létrával).

Az egyes PCR reakciók termékeiből mintánként két keveréket hoztam létre (az optimalizálás után legjobbnak bizonyult összeállítást ld. a 3.1. táblázatban), majd az így kapott termék-elegyekből 1-1 µl-t új csövekbe helyeztem. Ehhez 14-14 µl-t mértem formamid (Promega) és létra (Gene Scan™-500LIZ™ Size Standard) 200:3 arányú keverékéből, majd 95°C-on 5 percig denaturáltam. Az egyszálúvá vált DNS újraegyesülését a formamid akadályozta meg.

A denaturált mintákat Abi3130 automata szekvenálóban (Applied Biosystems) futtattuk meg, a leolvasott fragmensek hosszát Peak Scanner™ (v1.0, Applied Biosystems) szoftver segítségével azonosítottuk.

3.1. táblázat: A mikroszatellita lókuszok PCR termékeiből összeállított keverékek a fragmens-analízishez

1. Mix			2. Mix		
Lókusz	Mennyiség (µl)	Jelölés *	Lókusz	Mennyiség (µl)	Jelölés *
Aa 35	6	PET (piros)	Hal 1	4	FAM-6 (kék)
Hal 4	6	NED (sárga)	Hal 10	6	NED (sárga)
Hal 9	6	FAM-6 (kék)	Hal 14	5	FAM-6 (kék)
Hal 13	3	VIC (zöld)	IEAAAG 05	5	PET (piros)
IEAAAG 04	4	FAM-6 (kék)	IEAAAG 14	5	VIC (zöld)

* Az alkalmazott fluoreszcens jelölés színe

A feltüntetett mennyiségek mixenként 25 µl térfogatban értendők.

(Az egyes lókuszokon várt allél méreteket a 3.2. táblázat mutatja.)

Az esetleges genotipizálási hibákat és nullallél-előfordulást a Micro-checker (OOSTERHOUT et al. 2004), szoftver segítségével detektáltuk. Az alapvető populáció-genetikai mérőszámokat, valamint az F-statisztikákat a Genepop 4.0 (RAYMOND & ROUSSET 1995), az Arlequin 3.1 (EXCOFFIER & SCHNEIDER 2005) és a Genetic Studio (DYER 2009) szoftverek segítségével számoltuk ki.

A Kárpát-medencén belüli költőállomány genetikai struktúráját három bayes-i megközelítést használó, egyedi genotípusok alapján klaszterező programmal becsültük. Ezek közül a Structure 2.3 (PRITCHARD & WEN 2003) és a BAPS 3.2 (Bayesian Analysis of Population Structure, CORANDER et al. 2003) a klaszterezés során kizárólag a genetikai adatokat használja fel (előbbi MCMC (Markov Chain Monte Carlo), utóbbi Metropolis-Hastings algoritmust használ), míg a Geneland (GUILLOT et al. 2005), amely az R statisztikai környezet (IHAKA & GENTLEMAN 1996) csomagja, viszont figyelembe veszi az egyedek földrajzi távolságait is (szintén MCMC algoritmust használ).

3.2. táblázat: A PCR reakciók során vizsgált lókuszok és a legfontosabb információk

Génbanki szám	Lókusz	Termék hossza (bp)	Típus	T (°C)	Publikálta
	Hal-HVR1	544	mt	56	Hailer et al. 2007
AY631064	IEAAAG 05	127-163	ms	56 ¹	Busch et al. 2005
AY631063	IEAAAG04	199-219	ms	56 ¹	Busch et al. 2005
AY631069	IEAAAG14	176-188	ms	56 ¹	Busch et al. 2005
AY817040	Hal01	128-140	ms	60	Hailer et al. 2005
AY817043	Hal04	155-163	ms	57	Hailer et al. 2005
AY817048	Hal09	133-151	ms	64	Hailer et al. 2005
AY817049	Hal10	232-240	ms	64	Hailer et al. 2005
AY817052	Hal13	154-168	ms	64	Hailer et al. 2005
AY817053	Hal14	166-251	ms	60	Hailer et al. 2005
AF469503	Aa35	250-264	ms	*	Martínez-Cruz et al. 2002
	CHD1	W: 450 Z: 750 ³	i	50 ²	Fridolfsson & Ellegren 1999
	CHD1	W,Z: 148 W: 258 ⁴	i	56	Chang et al. 2008

¹: Az anellációs hőmérséklet beállítása HAILER et al. (2006) nyomán történt

²: A PCR a publikált „touch-down” eljárás helyett saját optimalizálás szerint, végig 50°C-on zajlott

³: A két felszaporítható szakasz hossza rétisasok esetén (HELANDER et al. 2007)

*: 66-50°C anellációs hőmérsékletű „touch-down” reakció (MARTÍNEZ-CRUZ et al. 2002)

mt: mitokondriális DNS kontroll régió

ms: mikroszatellita

i: ivari kromoszómához kötött

4. EREDMÉNYEK

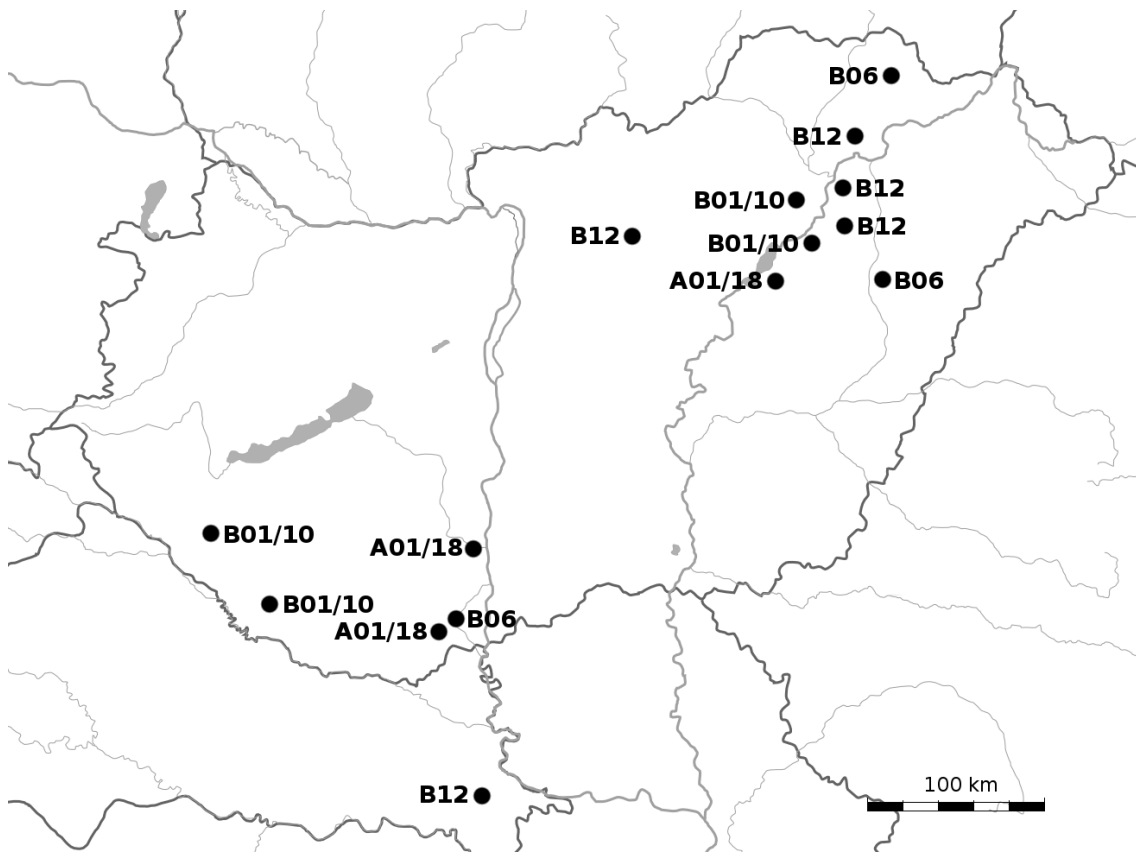
4.1. Molekuláris ivar-meghatározás

Az ivar-meghatározás 143 minta közül 28 esetben nem sikerült, így összesen 51 hím és 62 tojót azonosítottunk. Az analízisbe bevont mintákban a Kárpát-medence nyugati területein 26 hím, 35 tojó, a Tisza menti költőterületeken 25 hím és 27 tojó volt az ivarok megoszlása.

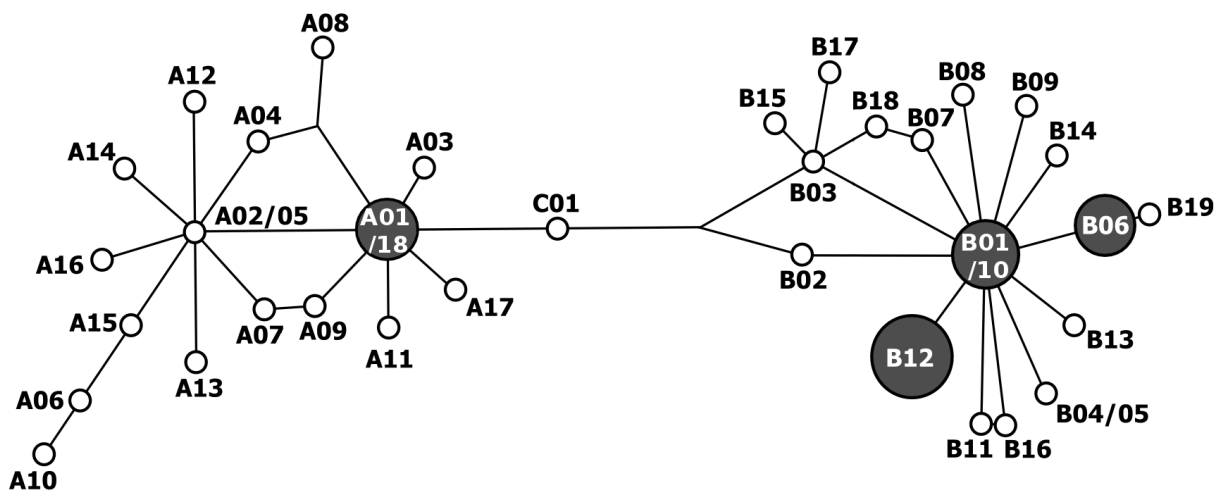
4.2. Mitokondriális DNS

A mitokondriális kontroll DNS-régió 500 bázispáros szakaszát felszaporító primerek közül a reverz (HalHVRR1, HAILER et al. 2007) primerrel történő szekvenálás során rövid leolvasásokat kaptunk, így a vizsgált szakaszt csak 482 bp hosszúságban tudtuk elemezni. Emiatt négy variábilis pozíció az 5' végen nem volt bevonható az analízisekbe, és az eddig (499 bp alapján, összesen 29 variábilis pozícióval) leírt 38 haplotípus helyett csak 34 haplotípus szekvenciáival tudtuk összevetni a mintáinkat (4.2. ábra, 4.1. táblázat).

A 18 szekvenált mintából 16 esetben volt vizsgálható a 482 bp-os szakasz. A két azonos fészekből, de különböző évből származó fióka haplotípusa ugyanaz volt (A1), nagy valószínűséggel ugyanattól az anyától származnak, ezért a későbbi analízisekbe csak az egyiküket vettük be. Az így kapott 15 mintában a 482 bp-os szakaszon összesen hat variábilis pozíciót tudtunk azonosítani (az eddig publikált 25 közül), ezek négy haplotípust határoztak meg (4.1. ábra, 4.1. táblázat), melyek mindegyike ismert volt már korábbi vizsgálatokból: A1/A18 (n=3), B1/B10 (n=4), B6 (n=3) és B12 (n=5). A rövidebb leolvasási hossz miatt az A1 és A18, valamint a B1 és B10 haplotípusok elkülönítése nem volt lehetséges. Mind a négy megtalált haplotípus előfordult mind a Kárpát-medence délnyugati területein (n=6), mind a Tisza menti (n=9) költőterületen (4.1. ábra)



4.1. ábra: A Kárpát-medencében megtalált haplotípusok földrajzi előfordulásai.



4.2. ábra: Median-joining hálózat (Splitstree 4.1) az eddig leírt rétisas-haplotípusokkal.

4.1. táblázat: A 482 bp-os mtDNS-szakaszon ismert *H. albicilla* haplotípusok és variábilis pozíciók (HAILER et al. 2007, HONNEN et al. 2010, LANGGUTH et al. 2012).

Haplo-típus	Génbanki szám	Variábilis pozíciók																									
		2 6	2 9	3 6	4 0	4 3	5 0	9 1	1 0	1 7	1 1	1 6	1 1	1 6	2 0	2 5	2 7	3 7	4 2	4 4	4 1	4 7	4 0	4 8	4 3	4 6	4 7
A01/A18	AM156933.1 JQ435491.1	A	C	G	T	T	T	A	T	T	C	A	G	C	T	G	C	C	C	G	T	G	A	C	G	A	
A02/A05	AM156934.1 GU134358.1	.	.	.	A
A03	AM156935.1	T	.
A04	GU134347.1	.	.	.	A	A
A06	GU134348.1	.	.	.	A	A	T
A07	GU134349.1	.	.	.	A	A
A08	GU134350.1	A	C
A09	GU134351.1	A
A10	GU134352.1	A	T
A11	EU779948.1	A
A12	JQ435485.1	.	.	.	A	.	.	C
A13	JQ435486.1	.	.	.	A	A
A14	JQ435487.1	.	.	.	A	C
A15	JQ435488.1	.	.	.	A	A
A16	JQ435489.1	.	.	.	A	G
A17	JQ435490.1	A
B01/B10	AM156937.1 GU134353.1	C	.	.	A	T	A	.	.	
B02	AM156938.1	A	T	A	.	.	
B03	AM156939.1	C	.	.	A	T	.	.	.	
B04/B05	AM156940.1 AM156941.1	C	.	.	A	T	T	A	.	.	
B06	AM156942.1	G	.	C	.	.	A	T	A	.	.	
B07	AM156943.1	C	.	G	A	T	A	.	.	
B08	AM156944.1	C	T	.	A	T	A	.	.	
B09	AM156945.1	C	T	A	.	.	
B11	GU134354.1	C	.	.	A	A	.	T	A	.	.	
B12	GU134355.1	C	.	.	A	.	C	T	A	.	.	
B13	GU134356.1	.	T	C	.	.	A	T	A	.	.	
B14	GU134357.1	T	C	.	.	A	T	A	.	.	
B15	JQ435492.1	C	.	.	A	.	.	A	T	.	.	.	
B16	JQ435493.1	C	.	.	A	C	.	T	A	.	.	
B17	JQ435494.1	C	.	.	A	C	T	.	.	.	
B18	JQ435495.1	C	.	G	A	T	.	.	.	
B19	JQ435496.1	.	.	A	.	.	G	.	C	.	.	A	T	A	.	.	
C01	AM156936.1	A	

Szürkével kiemelve a Kárpát-medencében talált haplotípusok és variábilis pozíciók.

4.3. Mikroszatellita markerek

A mikroszatellita fragmens-analízis 102 minta esetén volt sikeres (Kárpát-medence nyugati területei: $n=58$, Tisza menti területek: $n=46$). A vizsgált mikroszatellita lókuszek közül a Hal14 monomorfoknak bizonyult, így az analíziseket kilenc lókuszon végeztük el.

A genotipizálási hibák ellenőrzése során a Micro-checker szoftver nem talált „dadogásból” (stutter bands) vagy allélkiesésből (large allele dropout) származó hibát, viszont az IEAAAG05 lókuszon nullaléket azonosított (0.113 gyakorisággal), így a további analízisek során ezen a lókuszon a Micro-checker által, Oosterhout módszerével, módosított allélgyakoriságokat használtuk.

A kilenc lókuszon összesen 51 allélt azonosítottunk. Közülük a délnyugati populációban összesen 47, a Tisza menti populációban szintén 45 allél fordult elő (részletesen ld. a függelék F.1. táblázata). A populációnkénti allélszámok, a várt, illetve megfigyelt heterozigócia, az átlagos allélszám, az átlagos géndiverzitás, az egyedi allélek számának, valamint a θ populációs paraméter értékeit a 4.2. táblázat mutatja.

A Hardy-Weinberg Egyensúlytól (HWE) egy kivétellel (IEAAAG05, valószínűleg a Micro-checker által detektált nullalélek miatt, $p=0.029$) nem tértek el a vizsgált lókuszek tért el (Arlequin 3; $p=0.08-0.84$).

A két, földrajzilag elkülönülő állomány (délnyugati és Tisza menti) közötti genetikai differenciáltság igen alacsonynak bizonyult, az összes genetikai variancia minimális részét (1.47%) adta a populációk közötti különbség, az összes variancia 98.53%-a a populációkon belülre esett (AMOVA, Arlequin 3). A két állomány között a páros F_{ST} értéke (Genepop 4) 0.0241, a Nei-féle genetikai távolság (Genetic Studio) értéke 0.046 volt.

A genetikai strukturáltságot becsülő, egyedi mikroszatellita genotípusok alapján klaszterező szoftverek mindegyike a $K=1$ particionálást tartotta a legvalószínűbbnek, vagyis mind a Structure 2.3 ($K=1-4$, 200.000 MCMC lépéssel, 20.000 lépéses burnin periódussal, admixture modellel és korrelált allélgyakoriságokkal, $\ln \Pr(X|K) = -1947.0$), mind a BAPS (mixture modell, $\log(\text{ml})$ érték = -2025.1565), mind a Geneland ($K=1-3$, uncorrelated, spatial modell, öt független futás 200000 iterációval, a $K=1$ valószínűsége 57,5% és 61,8% között, átlagos log posterior valószínűség értékei = -3171.91 – -3182.86) úgy becsülte, hogy a Kárpát-medence különböző helyeiről származó rétisasok egyetlen összefüggő populációba tartoznak.

4.2. táblázat: A két földrajzi populáció alapvető mérőszámai a mikroszatellita vizsgálatok alapján

	Nyugat- Kárpát-medence	Tisza menti területek
Összes allélszám	47	45
Átlagos géndiverzitás	0.568 ± 0.317	0.503 ± 0.277
Átlagos allélszám	5.222 (1.716)	5.000 (1.323)
H_0	0.579 (0.155)	0.532 (0.157)
H_E	0.570 (0.119)	0.509 (0.133)
θ	1.324	1.037
Egyedi allélek száma	6	4

H_0 : tapasztalt heterozigócia

H_E : várt heterozigócia

A zárójelekben a szórás értékek láthatók

Az egyedi allélek értékeinek kivételével, minden adatot az Arlequin 3 szoftverrel számoltunk ki.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

5.1. A Kárpát-medence rétisas-populációja

A Kárpát-medence területén vizsgált mtDNS szakaszon nem találtunk olyan új haplotípust, amelyet a faj észak-, illetve közép-európai populációiban ne írtak volna le. Meg kell jegyeznünk azonban, hogy a „reverz” primerrel történő sikertelen szekvenálás miatt elvesztettünk néhány variábilis pozíciót, így nem zárható ki a nem-detektált új haplotípusok előfordulása sem.

A mintáinkban azonosított öt potenciális haplotípus közül kettőt csak Közép-Európában (B10: Ausztria, B12: Ausztria, Szerbia) írtak le eddig (HONNEN et al. 2010, LANGGUTH et al. 2012), a B6 haplotípust pedig az eddig vizsgált közép-európai országok közül csak a Cseh Köztársaságban és Szerbiában (HONNEN et al. 2010, LANGGUTH et al. 2012) találták meg korábban, ezen kívül a svéd lappföldön és a Kola-félszigeten volt jelen (HAILER et al. 2007). Az A1 és a B1 haplotípusokat minden vizsgált közép-európai országban, és még számos területen megtalálták (HONNEN et al. 2010, HAILER et al. 2007, LANGGUTH et al. 2012). Az A18 haplotípust eddig csak egyetlen, Lengyelországban gyűjtött mintán azonosították (LANGGUTH et al. 2012).

Adatainkból kiderül, hogy a Kárpát-medencében jelen vannak mind a Pleisztocén kor feltételezhető nyugati refúgiumában (Nyugat-Európa) kialakult (A), mind a keleti refúgiumhoz (Közép-Eurázsia) köthető (B) haplocsoportba tartozó egyedek. E két haplocsoport más európai országokban is nagy fokú keveredést mutat (HONNEN et al. 2010, HAILER et al. 2007, LANGGUTH et al. 2012), ami a populációk gyors expanzióját követő keveredéssel hozható összefüggésbe (HAILER et al. 2007).

A Kárpát-medence nyugati és Tisza menti költőállományai nem különíthetők el sem a vizsgált mtDNS szakasz (minden azonosított haplotípus jelen volt mindkét állományban), sem a kilenc polimorf mikroszatellita marker (közös allélek nagy aránya, az allélgyakoriságok és a heterozigócia hasonló értékei) alapján. A Kárpát-medence délnyugati és Tisza menti költőállományai nem különíthetők el sem a vizsgált mtDNS szakasz (minden azonosított haplotípus jelen volt mindkét állományban), sem a kilenc polimorf mikroszatellita marker (közös allélek nagy aránya, az allélgyakoriságok és a heterozigócia hasonló értékei) alapján.

Hasonlóan homogén, ám bizonyos mértékig elkülöníthető a Cseh Köztársaság újra-kolonizált állománya, melynek északi és nyugati területein elsősorban Lengyelországból, míg délkeleti régióján feltehetően a Duna költőterületeiről (pl. Szlovákia, Magyarország)

származó egyedek telepedtek meg (LITERÁK et al. 2007).

Érdekes, hogy mintáinkon a Hal14 lókuszt monomorfnek bizonyult, mert korábban Svédországban 8 allélt írtak le rajta (HAILER et al. 2005). Ez is az észak-európai és a Kárpát-medencei állomány elkülönültségére utal.

5.2. A Tisza hazai területeinek rétisasállománya

A Kárpát-medence délnyugati területeivel mutatott nagy genetikai hasonlóság alapján a rétisas Tisza menti költőállománya nagy valószínűséggel nem származtatható az északabbi költőterületekről (pl. Észtország, Lengyelország, Litvánia, Oroszország (DUDÁS 2007) területeiről) nagy számban telelni érkező egyedektől. Irodalmi adatok alapján a faj egyedei gyakran filopatikusak (pl. PROBST & GABORIK 2011, HELANDER 2003a, 2003b, HAILER et al. 2006), ami azt támasztja alá, hogy a környező állományokból származó egyedek telepedhettek meg a területen. Ausztria és Szlovákia területén nem volt ismert költés a hazai tiszai állomány kialakulásakor (LITERÁK et al. 2007, PROBST & GABORIK 2011), Romániában pedig szinte csak a Duna-delta vidékén költ a faj (pl. PROBST & GABORIK 2011). Nem zárható ki azonban Horvátország, Szerbia és Ukrajna rétisas-állományai a lehetséges forrás-populációk közül.

A genetikai vizsgálatunk eredményei alapján valószínűnek tartjuk, hogy a rétisasok a Kárpát-medence déli, illetve délnyugati területein megmaradt állományokból kiindulva, a költőterület expanziója során a Duna, majd a Tisza mentén haladva foglalhatták el újra Magyarország Tiszához kötődő költőterületeit. A folyók mentén történő terjedést valószínűsíti a vízhez kötött életmódjuk is, és irodalmi adatok alapján a 20. századi hanyatlást követően a Duna-menti országok újra-kolonizációja többé-kevésbé egyszerre zajlott (PROBST & GABORIK 2011). Mindezek alapján a mai Tisza menti állomány alapvetően a Dráva, Száva és Dél-Duna költőállományaiból származhat (ezt támasztja alá pl. egy Baranya megyében fiókaként jelölt, majd a Hortobágyon megtelepedett egyed (HORVÁTH 2010) is). Az sem zárható ki, hogy a mai Tisza menti költőállomány részben Szerbia Dél-Dunához, illetve Dél-Tiszához kötődő rétisas-állományából származik, melyek a Tisza, illetve esetleg szintén a Duna-mentén észak felé haladva, jutottak el a Tisza északabbi vidékére. Ennek megállapításához a dél-tiszai állományokból származó minták vizsgálata szükséges.

Meg kell jegyeznünk, hogy a Kárpát-medence délnyugati területén (Duna-völgy), és a Tiszántúlon egyaránt jellemző a telelő rétisas egyedek nagyszámú megjelenése (pl. BANK et al. 2004, HORVÁTH 2009, HARASZTHY et al. 2003). Ezért a Kárpát-medence két részén költő

állomány genetikai hasonlósága akkor is fennállhat, ha az északabbi területekről érkező madarak közül mindkét régióban megtelepszik néhány egyed.

Ahhoz, hogy teljes bizonyosságot nyerjünk a Tisza menti területek rétisállományának eredetét illetően, további vizsgálatokat kell elvégezni, melyek során összehasonlítjuk a Kárpát-medencei minták genotípusait mind a környező, közép-európai populációkkal, mind azon északibb állományokkal, ahonnan származó telelő egyedeket leírtak már a területen.

6. ÖSSZEFOGLALÓ

A rétisas (*Haliaeetus albicilla*, Linnaeus 1758) ártéri erdőkhöz kötődő, fokozottan védett ragadozó madár, melynek legdélebbi állományai a Kárpát medencében találhatók. Az európai populáció a 20. század elején mutatkozó drasztikus állománycsökkenést követően az 1970-es évektől ismét gyarapodásnak indult. Magyarországon az 1970-es években becslések szerint mindössze 10-12 pár költött, feltehetően kizárólag a Dél-Dunántúlon. Napjainkban a hazai állomány meghaladja a 220 költőpárt, és a költőterület is gyors növekedést mutat.

A faj egész elterjedési területén végzett filogeográfiai vizsgálat a mitokondriális kontroll DNS-régió alapján két nagy haplocsoportot különített el, melyek a faj utolsó nagy eljegesedéskor létezett közép- illetve nyugat- eurázsiai két fő refúgiumára utalnak. Később a Kárpát-medencétől északra költő közép-európai populációkban számos új haplotípust találtak a két haplocsoporton belül, tovább finomítva filogeográfiai ismereteinket. Mindezidáig viszont a Kárpát-medencei állomány filogeográfiai és populáció-genetikai viszonyait nem vizsgálták.

Kutatásunkban két fő célt tűztünk ki: (1) a mtDNS vizsgálata révén (16 egyeden) megvizsgálni a hazai rétisas-állomány filogeográfiai viszonyait, összehasonlítva Európa más, korábban vizsgált populációival, (2) mikroszatellita markerek segítségével feltérképezni a Kárpát-medencei populáció genetikai szerkezetét, különös tekintettel a Tisza menti területekre visszatelepült költőállomány eredetére. Két fő hipotézisünk szerint a Tisza menti az állomány származhat (I) Európa északi populációiból ide tömegesen telelni érkező madaraktól, melyek közül néhányan megtelepedhettek a területen, illetve (II) a Kárpát-medence déli területeinek fészkelő állományából származó madarak juthattak el ide a költőterület expanziója során. E kérdés megválaszolásához 104, a Kárpát-medence különböző területein kikelt fióka egyeden kilenc mikroszatellita lókuszt vizsgáltunk. A DNS-mintákat a faj gyűrűs jelölési programja keretében végzett gyűrűzéskor tépett fiókatollak szolgáltatták.

Eredményeink alapján a Kárpát-medencében a mtDNS haplotípusok nagyfokú keveredést mutatnak; megtalálhatók ázsiai, észak- és közép-európai populációkban előforduló haplotípusok is. A délnyugati és Tisza menti állományok nem mutatnak genetikai strukturáltságot, így a Kárpát-medence rétisas-állománya egy összefüggő populációnak tekinthető. Mindezek arra utalnak, hogy az Alföldön a Tisza menti területek költőállománya alapvetően a Kárpát-medence déli részein megmaradt költőterületekről származhat.

7. SUMMARY

The white-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*, Linnaeus 1758) is a large raptor species, whose southernmost population is located in the Carpathian Basin. After a drastic decrease in the early 20th century, from the 1970's the European population have started to recover. In the 1970s, the total Hungarian breeding population was estimated 10-12 pairs, all inhabiting the South Transdanubian region, with presumably no breeding birds in the Tiszántúl region. Nowadays, population census of the country is more than 220 breeding pairs, with abundant territories also nearby the Tisza river.

Phylogeography throughout the distribution range of the species was studied using the mitochondrial DNA control region, revealing two distinct haplogroups with predominantly eastern or western distribution. According to this, the species is suggested to have survived the last glacial event in two main refugia, probably located in Central and Western Eurasia. This distribution pattern was later refined with involving samples from the breeding populations of Central Europe, describing several new haplotypes from this region. However, phylogeography and population structure of the population inhabiting the Carpathian Basin was not studied until now.

In this study, we attempted (1) to reveal phylogeographic relations of the white-tailed eagle population inhabiting the Carpathian Basin in relation to other populations in Europe, using a mtDNA control region fragment (16 samples), and (2) to highlight origin of the breeding population in the Tisza region. According to our two main hypothesis, eagles in this breeding area may originate (I) from wintering birds that arrived from the Northern European populations and settled in the area, or (II) from dispersing birds of the breeding areas located in the southern part of the Carpathian Basin. To answer this question, we studied genetic structure and gene-flow between southwestern and Tisza region breeding areas using nine nuclear microsatellite loci, involving 104 nestling from different localities of the Carpathian Basin. As DNA source, we used plucked feathers of nestling birds,

Our results showed a high mixture of haplotypes in the Carpathian Basin, with haplotypes that are present in Asian, North- and Central-European populations as well. Moreover, we found no genetic differentiation between southwestern and Tisza region, suggesting that the white-tailed eagles inhabiting the Carpathian Basin belong to one single population. According to these results, birds breeding in the Tisza region can be originated from the southwestern breeding area of the Carpathian Basin.

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Szabó Krisztiánnak mind a témáért, mind a munka közben kapott számos segítségért, hasznos tanácsért.

Köszönöm továbbá Horváth Zoltánnak, a Duna-Dráva Nemzeti Park munkatársának, valamint Tihanyi Gábornak, a Hortobágyi Nemzeti Park munkatársának hogy a vizsgálathoz elengedhetetlen mintákat és információkat biztosították a kutatáshoz. A tollminták gyűjtéséért köszönettel tartozom az illetékes nemzeti parkok többi, gyűrűzést végző munkatársainak is.

Köszönöm, hogy kutatómunkámhoz a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Karának Biológiai Intézete laboratóriumot biztosított, és köszönöm a Magyar Természettudományi Múzeum Molekuláris Taxonómiai Laboratóriuma munkatársainak, Krizsik Virágnak és Tuschek Máriának a szekvenálási munkákban nyújtott segítséget. A molekuláris munkák pénzügyi hátterét a Duna-Dráva Nemzeti Park Igazgatóság biztosította.

IRODALOMJEGYZÉK

- Bandelt H-J, Forster P, Röhl A. (1999)** Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16: pp.37-48
- Bank L, Deme T, Horváth Z, Kalocsa B, Tamás E. (2004)** Population changes of the White-tailed Eagle *Haliaeetus albicilla* in Hungary, with special attention to the lower Hungarian Danube-valley, 1987-2003. *Raptors Worldwide* (eds.: Chancellor RD and Meyberg B-U; proceedings of the VI world conference on Birds of Prey and Owls): pp. 529-536.
- Beretz P. (1955)** Újabb adatok a szegedi Fehértó madárvilágához 1949-1953. *Aquila* 59/62: pp. 217-227.
- Birdlife International. (2004)** Birds in Europe: Population Estimates, Trends and Conservation Status. BirdLife International (BirdLife Conservation Series No. 12) Cambridge, UK: 374 pp.
- Böröczky K. (1957)** Ragadozómadarak, feketególya és feketeharkály fészkelése a gemenci vadvédelmi területen. *Aquila* 63/64: pp. 270, 334.
- Breuer Gy. (1955)** A rétisas fészkelése Varáslón. *Aquila* 59/62: pp. 379, 437.
- Busch JD, Katzner TE, Bragin E, Keim P. (2005)** Tetranucleotide microsatellites for *aquila* and *haliaeetus* eagles. *Molecular Ecology Notes* 5: pp. 39-41.
- Chernel I. (1899)** Rétisas. Magyarország madarai különös tekintettel gazdasági jelentőségökre (ed.: Chernel I; Második könyv, Budapest): pp. 399-402.
- Corander J, Waldmann P, Sillampää. (2003)** Bayesian Analysis of Genetic Differentiation Between Populations. *Genetics* 163,1: pp. 367-374.
- Deme T, Mikusa T, Mórocz A. (2009)** Adatok a rétisas táplálkozásához a Duna mentén, Gemenctől a Kopácsi rétig. *Élet a Duna-ártéren, Konferencia (BITE)* pp. 50-55.
- Dementavičius D, Treinys R. (2009)** Nest-site attendance of the resident white-tailed sea eagle (*Haliaeetus albicilla*) outside the breeding season. *Acta Zoologica Lituanica* 19, 1: pp. 10-17.
- Dementavičius D. (2004)** Common buzzard (*Buteo buteo*) and white-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*): breeding parasitism or atypical feeding behaviour? *Acta Zoologica Lituanica* 14, 1: pp. 76-79.
- Dementavičius D. (2007)** White-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*) in Lithuania: population numbers and trends 1900-2007. *Acta Zoologica Lituanica* 17, 4: pp. 281-285.
- Dudás DM. (2007)** A rétisas (*Haliaeetus albicilla*) védelme a Hortobágyi Nemzeti Park működési területén. *Debreceni Egyetem, szakdolgozat (Debrecen, 2007)*.

- Dyer RJ. (2009)** GeneticStudio: A suite of programs for the spatial analysis of genetic marker data. *Molecular Ecology Resources* 9: pp. 110-113.
- Elliott KH, Cesh LS, Dooley JA, Letcher RJ, Elliott JE. (2009)** PCBs and DDE, but not PDBEs, increase with trophic level and marine input in nestling bald eagles. *Science of the Total Environment* 407: pp. 3867-3875.
- Eulaers I, Covaci A, Herzke D, Eens M, Sonne C, Moum T, Schnug L, Hanssen SA, Johnsen TV, Bustnes JO, Jaspers VL. (2011)** A first evaluation of the usefulness of feathers of nestling predatory birds for non-destructive biomonitoring of persistent organic pollutants. *Environmental International* 37: pp. 622-630.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. (2005)** Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: pp. 47-50.
- Fintha I. (1976)** The White-tailed Eagle (*Haliaeetus albicilla* L.) in Hortobágy – A rétság a Hortobágyon. *Aquila* 83: pp. 243–259.
- Fleischer RC, Storrs LO, James HF, Cooper AC. (2000)** Identification of the Extinct Hawaiian Eagle (*Haliaeetus*) by mtDNA Sequence Analysis. *The Auk* 117, 4: pp. 1051-1056.
- Fridolfsson AK, Ellegren H. (1999)** A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of Avian Biology* 30: pp.116-121.
- Ganusevich S. (1996)** The White-tailed Sea Eagle *Haliaeetus albicilla* in Kola Peninsula. *Eagle Studies* (eds.:Meyburg B-U, Chancellor RD; 1996): pp. 47-50.
- Gemmell N, Akiyama S. (1998)** An efficient method for the extraction of DNA from vertebrate tissue. *Trends in Genetics* 12: pp. 338-339.
- Griffiths R, Korn RA. (1997)** CHD1 gene is Z chromosome linked in the chicken *Gallus domesticus*. *Gene* 197, 1-2: pp. 225-229.
- Griffiths R, Tiwari B. (1995)** Sex of the last wild SpixOs macaw. *Nature* 375: pp. 454.
- Guillot G, Mortier F, Estoup A. (2005)** Geneland: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* 5: pp. 712-715.
- Hailer F, Gautschi B, Helander B. (2005)** Development and multiplex PCR amplification of novel microsatellite markers in the White-tailed Sea Eagle, *Haliaeetus albicilla* (Aves: Falconiformes, Accipitridae). *Molecular Ecology Notes* 5, 4: pp. 938-940
- Hailer F, Helander B, Folkestad AO, Ganusevich SA, Garstad S, Hauff P, Koren C, Masterov VB, Nygård T, Rudnick JA, Shiraki S, Skarphedinsson K, Volke V, Wille F, Vilà C. (2007)** Phylogeography of the white-tailed eagle, a generalist with large dispersal capacity. *J. Biogeogr.* 34: pp. 1193-1206.

- Hailer F, Helander B, Folkestad AO, Ganusevich SA, Garstad S, Hauff P, Koren C, Nygård T, Volke V, Vilà C, Ellegren H. (2006)** Bottlenecked but long-lived: high genetic diversity retained in white-tailed eagles upon recovery from population decline. *Biology Letters* 2: pp. 316-319.
- Ham I, Mikuska J, Schneider M, Gec D. (1990)** Recoveries and sightings of banded and wingtagged White-tailed Eagles in Yugoslavia during 1985-1988. *Larus* 41-42: pp. 69-86.
- Haraszthy L, Bagyura J. (1993)** Ragadozómadár-védelem az elmúlt 100 évben Magyarországon. *Aquila* 100: pp.105–121.
- Haraszthy L, Horváth Z, Kalocsa B. (2003)** Rétság. Veszélyeztetett madarak fajvédelmi tervei (Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület (MME), Budapest) pp. 47-56.
- Harrison CJO. (1988)** Bird Bones from Soldier's Hole Cheddar, Somerset. *UBSS Proceedings* 18, 2: pp. 258-264.
- Helander B, Hailer F, Vilà C. (2007)** Morphological and genetic sex identification of white-tailed eagle *Haliaeetus albicilla* nestlings. *J Ornithol* 148: pp. 435-442.
- Helander B, Olsson A, Bignert A, Asplund L, Litzén K. (2002)** The Role of DDE, PCB, Coplanar PCB and Eggshell Parameters for Reproduction in the White-tailed Sea Eagle (*Haliaeetus albicilla*) in Sweden. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* 31, 5: pp.386-403.
- Helander B, Stjernberg T. (2003)** (eds.) Action plan for the conservation of white-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*). (Recommendation 92/2002 adopted by the Standing Committee of the Bern Convention in December 2002.) BirdLife International
- Helander B. (1985) a** Reproduction of the white-tailed sea eagle *Haliaeetus albicilla* in Sweden. *Holarctic Ecology* 8, 3: pp. 211-227.
- Helander B. (1985) b** Colour-ringing of White-tailed Sea Eagles in northern Europe. *Conservation Studies On Raptors* (eds.: Newton I, and Chancellor RD; International Council for Bird Preservation, Cambridge, UK): pp. 401-407.
- Helander B. (2003) a** The White-tailed Sea Eagle in Sweden – reproduction numbers and trends. *Sea Eagle 2000* (eds.: Helander B, Marquiss M, BOWERMAN W; Proceedings from an international conference at Björko, Sweden, 13-17 September 2000. Swedish Society for Nature Conservation/SNF & Atta.45 Tryckeri AB. Stockholm): pp. 57-66.
- Helander B. (2003) b** The international colour-ringing programme - adult survival, homing, and the expansion of the White-tailed Sea Eagle in Sweden. *Sea Eagle 2000* (eds.: Helander B, Marquiss M, BOWERMAN W; Proceedings from an international conference at Björko, Sweden, 13-17 September 2000. Swedish Society for Nature

- Conservation/SNF & Atta.45 Tryckeri AB. Stockholm): pp. 145-167.
- Honnen A-C, Hailer F, Kenntner N, Literák I, Dubská L, Zachos FE. (2010)** Mitochondrial DNA and nuclear microsatellites reveal high diversity and genetic structure in an avian top predator, the white-tailed eagle, in central Europe. *Biological Journal of the Linnean Society* 99: pp. 727-737.
- Horváth Z, Pintér T. (2005)** A hazai rétisas (*Haliaeetus albicilla*)-állomány fészkelőhely-választása a 2000. év felmérései alapján. *Aquila* 112: pp. 23–32.
- Horváth Z. (2006)** Further observations on Common Buzzard (*Buteo buteo*) chick found in a White-tailed Eagle (*Haliaeetus albicilla*) nest. *Heliaca* 113: pp. 179-180.
- Horváth Z. (2009)** White-tailed Eagle (*Haliaeetus albicilla*) populations in Hungary between 1987-2007. *Denisia* 27: pp. 85-95.
- Horváth Z. (2010)** A magyarországi rétisas-védelmi program tevékenysége 2009-ben. *Heliaca* 7: 55-58.
- Horváth Z. (2012)** Magyarországi rétisasvédelmi program eredményei 2010-ben. *Heliaca* 8: 36-39.
- Huson DH, Bryant D. (2006)** Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. *Molecular Biology and Evolution*, 23,2: pp. 254-267.
- Ihaka R, Gentleman R. (1996)** R: A language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 5: pp. 299-314.
- IUCN 2012:** BirdLife International 2012. *Haliaeetus albicilla*. In: IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.1. URL: www.iucnredlist.org, Letöltés időpontja: 2012.10.10.
- Kjellén N, Roos G. (2000)** Population trends in Swedish raptors demonstrated by migration counts at Falsterbo, Sweden 1942-97. *Bird Study* 47: pp. 195-211.
- Koeman JH, Hadderingh RH, Bijleveld MFIJ. (1972)** Persistent pollutants in the white-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*) in the Federal Republic of Germany. *Biological Conservation* 4,5: pp. 373-377.
- Kolisnyk J, Gorban I. (1996)** The white-tailed eagle *Haliaeetus albicilla* in Ukraine. *Eagle Studies* (eds.:Meyburg B-U, Chancellor RD; 1996): pp.165-168
- Kovács G. (1984)** A hortobágyi halastavak madárvilága 10 év megfigyelései alapján. *Aquila* 91: pp. 21-46.
- Lambrecht K. (1914)** Fossilis szakállas saskeselyű -*Gypaetus barbatus* L.- és rétisas -*Haliaeetus albicilla* L.- a borsodi Bükkben. *Aquila* 21: pp. 85-88.
- Langguth T, Honnen A-C, Hailer F, Mizera T, Skoric S, Väli Ü, Zachos FE. (2012)** Genetic

- structure and phylogeography of a European flagship species, the white-tailed sea eagle *Haliaeetus albicilla*. *Journal of Avian Biology*. URL: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-048X.2012.00075.x> , Letöltés ideje: 2013.01.23.
- Lerner HRL, Mindell DP. (2005)** Phylogeny of eagles, Old World vultures, and other Accipitridae based on nuclear and mitochondrial DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: pp. 327-346.
- Literák I, Mraz J. (2011)** Adoptions of Young Common Buzzards in White-tailed Sea Eagle Nests. *The Wilson Journal of Ornithology* 123,1: pp. 174-176.
- Literák I, Mrlík V, Hovorková A, Mikulíček P, Lengyel J, Št'astný K, Cepák J, Dubská L. (2007)** Origin and genetic structure of white-tailed sea eagles (*Haliaeetus albicilla*) in the Czech Republic: an analysis of breeding distribution, ringing data and DNA microsatellites. *European Journal of Wildlife Research* 53: pp. 195-203.
- Lydekker R. (1891)** (ed.) Catalogue of the fossil birds in the British Museum. British Museum, London. pp. 23-24.
- Mannermaa K. (2003)** Birds in Finnish prehistory. *Fennoscandia archaeologica* XX, pp. 3-39.
- Markis M. (2010)** Feather tip monitoring of Marek's disease virus in experimental and commercial settings. Faculty of the University of Delaware: Master thesis.
- Martínez-Cruz B, David VA, Godoy JA, Negro JJ, O'Brien SJ, Jhonson WE. (2002)** Eighteen polymorphic microsatellite markers for the highly endangered Spanish imperial eagle (*Aquila adalberti*) and related species. *Molecular Ecology Notes* 3: pp. 323-326.
- Mikuska J. (1978)** Seeadler (*Haliaeetus albicilla*) im Naturschutzgebiet Kopácsi-rét und in der Umgebung – A rétisasok (*Haliaeetus albicilla* L., 1758) a Kopácsi-rét természetvédelmi rezervátum területén és környékén. *Aquila* 85: pp. 45-47.
- Mikuska T. (2009)**: A review of recent knowledge on White-tailed Eagles in Croatia. *Denisia* 27: pp. 115- 126.
- Morin PA, Messier J, Woodruff DS. (1994)** DNA extraction, amplification, and direct sequencing from hornbill feathers. *J.Sci. Soc. Thailand* 20: pp. 31-41.
- Nygård T, Skaare JU. (1998)** Organochlorines and Mercury in Eggs of White-tailed Sea Eagles *Haliaeetus albicilla* in Norway 1974-1994. *Holarctic Birds of Prey ADENEX-WWGBP* (eds.: Chancellor RD, Meyburg B-U & Ferrero JJ, 1998) pp. 501-524
- Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P. (2004)** Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology*

Notes 4,3: pp. 535-538.

- Palkó S. (1997)** Rétságas (*Haliaeetus albicilla*) által nevelt egerészölyv (*Buteo buteo*) fiókák *Common Buzzard nestlings reared by White-tailed Eagle*. Túzok 2,3: pp. 109-111.
- Pocora V. (2010)** Diurnal birds of prey (Aves) from Letea Forest (The Danube Delta Biosphere Reservation, Romania). Travaux du Muséum National d'Historie Naturelle „Grigore Antipa” 53: pp. 303-318
- Pritchard JK, Wen W. (2003)** Documentation for Structure software: version 2.
- Probst R, Gaborik A. (2011)** Action Plan for the Conservation of the White-tailed Sea Eagle (*Haliaeetus albicilla*) along the Danube. c/o Donau-Auen National Park Schloss Orth, Austria.
- Radović A, Mikuska T. (2009)** Population size, distribution and habitat selection of the white-tailed eagle *Haliaeetus albicilla* in the alluvial wetlands of Croatia. Biologia 64,1 pp.156-164.
- Raymond M, Rousset F. (1995)** Genepop (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. The Journal of Heredity 86, 3: pp. 248-249.
- Sándor I, Ecsedi Z. (2004)** Rétságas (*Haliaeetus albicilla*). A Hortobágy madárvilága. (ed.: Ecsedi Z; Hortobágy Természetvédelmi Egyesület, Winter Fair Kiadó): pp. 198-200.
- Schenk J. (1929)**: Réti sas. Madarak III. kötet, Brehm: Az állatok világa. Gutenberg Könyvkiadóvállalat, Budapest. Újabb kiadás (10): 1995, Kassák Kiadó, Budapest: pp. 181-183.
- Schreiber A, Weitzel T. (1995)** Biochemical Systematics of Sea Eagles (Genus *Haliaeetus* Savigny 1809), with a Note on Allozyme Differentiation Between Black and Red Kites (Genus *Milvus* L. 1758). Biochemical Systematics and Ecology 23,3: pp. 235-244.
- Shiraki S. (2002)** Post-fledging Movements and Foraging Habitats of Immature White-tailed Sea Eagles in th Nemuro Region, Hokkaido, Japan. J Raptor Res 36,3: pp. 220-224.
- Staden R, Beal KF, Bonfield JK. (2000)** The Staden package, 1998. Methods Mol. Biol 132: pp. 115–130.
- Sterbetz I. (1993)** A rétságas (*Haliaeetus albicilla* L., 1758) állományának pusztulása a Tisza Csongrád megyei szakaszán. Állattani közlemények 79: pp. 105–112.
- Sulawa J, Robert A, Köppen U, Hauff P, Krone O. (2010)** Recovery dynamics and viability of the white-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*) in Germany. Biodivers Conserv 19: pp. 97-112.
- Tevely R. (1996)** The Status of the White-tailed Sea Eagle *Haliaeetus albicilla* in Hungary.

- Eagle Studies (eds.:Meyburg B-U, Chancellor RD; 1996): pp. 147-148
- Thompson** JD, Gibson TJ, Higgins DG. (2002) UNIT 2.3 multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. *Current Protocols in Bioinformatics*: 2.3.1–2.3.22.
- Weigmann** H-D. (1968) Reduction of disulfide bonds in keratin with 1,4-dithiothreitol. I. Kinetic investigation. *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* 6: pp. 2237–2253.
- Wiemeyer** SN, Lamont TG, Bunck CM, Sindelar CR, Gramlich FJ, Fraser JD, Byrd MA. (1984) Organochlorine Pesticide, Polychlorobiphenyl, and Mercury Residues in Bald Eagle Eggs – 1969-79 – and Their Relationships to Shell Thinning and Reproduction. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 13: pp. 529-549.
- Wildburg** A. (1897) Adatok a réti-sas természetrajzához. *A Természet* 8: pp. 1-2.
- Wille** F, **Kampp** K. (1983) Food of the white-tailed eagle *Haliaeetus albicilla* in Greenland. *Holarctic Ecology* 6, 1: pp. 81-88.

FÜGGELÉK

F.1. táblázat: Kilenc mikroszatellita relatív allélgyakoriságai a Kárpát-medencében.

Lókuszt	Allél (bp)	NY-Kárpát-medence (56 minta)	Tisza menti területek (46 minta)
Aa35	239	0,188	0,141
	241	0,714	0,750
	245	0,098	0,109
Hal01	132	0,009	0,011
	134	0,639	0,556
	136	0,056	0,078
	138	0,296	0,311
	140	-	0,011
	142	-	0,033
Hal04	154	0,029	0,022
	156	0,135	0,087
	158	0,010	0,087
	160	0,721	0,641
	162	0,106	0,163
Hal09	127	0,036	0,065
	133	0,295	0,239
	137	0,036	-
	139	0,036	0,033
	141	0,312	0,467
	143	0,107	0,120
	145	0,179	0,076
Hal10	232	0,179	0,087
	234	0,027	0,011
	236	0,098	0,054
	238	0,696	0,848
Hal13	149	0,009	0,011
	151	0,089	0,043
	155	0,009	0,011
	157	0,562	0,717
	159	0,018	0,033
	161	0,286	0,185
	165	0,027	-
IEAAAG04	202	0,045	0,065
	206	0,634	0,565
	210	0,304	0,348
	214	0,018	0,022
IEAAAG05	133	0,038	-
	137	0,019	-
	141	0,132	0,033
	145	0,585	0,761
	149	0,019	-
	153	0,047	0,054
	157	-	0,011
	161	0,075	0,011
	169	0,085	0,098
	180	-	0,033
IEAAAG14	174	0,277	0,500
	178	0,357	0,333
	182	0,321	0,156
	186	0,018	0,011
	190	0,027	-