

Examination of nuclear and mitochondrial genetic markers in mouflons (*Ovis aries musimon*) in Hungary

O. K. Zorkóczy<sup>1\*</sup>  
Zs. Bujtor<sup>1</sup>  
Zs. Wagenhoffer<sup>1</sup>  
P. Lehotzky<sup>2</sup>  
P. Zenke<sup>1</sup>

1. Állatorvostudományi Egyetem,  
Állattenyésztési,  
Takarmányozástani, és  
Laborállat-tudományi Intézet,  
1078 Budapest, István utca 2.

2. Országos Magyar  
Vadászkamara, Fővárosi és Pest  
Vármegyei Területi Szervezete,  
Budapest

\*e-mail: zorkoczy.orsolya.krisztina@  
univet.hu

# Sejtmagi és mitokondriális genetikai markerek tesztelése hazai muflonokban (*Ovis aries musimon*)

Zorkóczy Orsolya Krisztina<sup>1\*</sup>, Bujtor Zsófia<sup>1</sup>, Wagenhoffer Zsombor<sup>1</sup>, Lehotzky Pál<sup>2</sup>, Zenke Petra<sup>1</sup>

## ÖSSZEFOGLALÁS

Az európai muflon (*Ovis aries musimon*) hazánkban csaknem 13 ezres állománnyal rendelkezik és jelentős vadgazdálkodási értéket képvisel. Mivel az itt élő muflonok genetikai vizsgálatáról nem áll rendelkezésre adat, a szerzők különböző, megbízhatóan tipizálható markertípus alkalmazhatóságának felmérését tűzték ki célul. A kutatáshoz 80 darab, a *Cervidae* családjából származó tetramer szerkezetű nukleáris mikroszatellita-markert teszteltek, ill. szekvenálták a mitokondriális kontrollrégiót. Tíz egyed vizsgálata alapján három polimorf mikroszatellita-lokuszt és egy haplotípust kaptak, amely alapján a vizsgált magyarországi állomány vélhetően kicsi genetikai diverzitással rendelkezik.

## SUMMARY

**Background:** The European mouflon (*Ovis aries musimon*) boasts a population of almost 13,000 in Hungary and holds significant value in game management due to its game meat and horn trophies. Since there is no data on genetic investigations of the mouflons in this region, the authors initiated this survey to test the usability of various markers.

**Objectives:** The authors aim to evaluate cross-specific (*Cervidae*) tetranucleotide microsatellite markers capable of monitoring diversity and individual identification. Additionally, they plan to assess maternal lineage diversity based on the mitochondrial control region sequence.

**Materials and Methods:** In this preliminary study, the authors examined ten mouflon individuals from the Pilis mountain region. The tested 80 tetranucleotide microsatellites originating from the suborder *Ruminantia*. Published PCR protocols were available for all markers in the original species, which were adapted and optimized for mouflon samples. Subsequently, these PCR fragments were analyzed by capillary electrophoresis, and polymorphic markers were identified. Regarding the mitochondrial marker, the sequence of almost the entire control region was determined using the Sanger method using primers previously described in sheep.

**Results and Discussion:** Only 20 microsatellite markers provided PCR products of sufficient quality and quantity, resulting in the detection of three polymorphic markers with two alleles each. Regarding the mitochondrial control region, only one haplotype was identified. Our pilot study demonstrates the feasibility of cross-species markers and their primers in mouflon. Consistent with other international research on the species, our results suggest a potential low genetic variation in the Hungarian population, likely due to a genetic bottleneck, founder effect, and inbreeding. Given the limited number of polymorphic markers and allele polymorphism, the current set should be supplemented with more polymorphic markers from closely related species, and testing of mouflon samples from different regions is important.

Az európai muflon eredetét illetően több bizonytalanság áll fenn. A tudomány jelenlegi állása szerint a házi juh (*Ovis aries*) egy visszavadult alfaja [1–4], amely feltehetően 5–6 ezer évvel ezelőtt, mint szőrös juh, kiszorult a tenyésztésből. Egyes kutatások azonban különálló fajként (*Ovis musimon*) hivatkoznak rá [5–8], amely kialakulásának része lehetett egy mára kihalt, eddig ismeretlen juh fajjal való hibridizáció [1].

**Hazánk mai területére  
először 1901- ben  
kerültek muflonok**

**Jelenleg a hazai  
állomány 12-13000  
egyedre tehető**

A hegyvidéki Szardínia és Korzika kivételével Európában nem őshonos muflont 1732-től telepítették a kontinensre, országunk mai területére pedig először 1901-ben került Gyimesről Füzérradványba [9, 10]. Egészen 1942-ig a további telepítésre használt egyedek is mind ezen állományból kerültek ki [11], ekkor a hazai muflonok száma elérte a kb. kétezret [9]. A második világháborút követően azonban az egyedszám kb. 50–100 egyedre esett vissza [9, 11]. A helyzet javítása érdekében indult betelepítéseknek köszönhetően, a '70-es években a muflonállomány komoly növekedésnek indult [9]. Napjainkban az ország valamennyi középhegységében előfordul [12, 13], a populációk azonban általában szigetszerűen vannak jelen [13] és a vérfrissítés hiánya miatt az állomány beltenyésztéses leromlásnak van kitéve. Egy franciaországi vizsgálat során azt találták, hogy mind a mufloncsigák mérete, mind az egyedek testtömege csökkenést mutatott az évtizedekkel korábbi állapotokhoz viszonyítva, és ennek okaként a nem szakszerű vadászatot, azaz a jó genetikai állományú állatok kilövését jelölték meg [14]. A muflonvadászatra való kereslet Magyarországon is folyamatosan nő. Trófeája mellett a húsa és a bőre is hasznosításra kerül, azonban a legnagyobb értéket az állat jellegzetes csiga alakú visszahajló szarva, az úgynevezett mufloncsiga képezi [15, 16]. Az állományunk 1997 óta folyamatosan növekszik – 10 ezer körüli példányszámról 12–13 ezer példányra emelkedett –, ezzel párhuzamosan a vadaskerti elejtések száma szintén egyre több [12].

#### EDDIGI GENETIKAI KUTATÁSOK MUFLONBAN ÉS MÁS ROKON FAJOKBAN

A kezdeti, vércsoportantigének és fehérjék azonosításán alapuló kutatásokat [17–21] már az ezredforduló előtt felváltották a DNS-szintű vizsgálatok [22]. A muflonokban történt eddigi genetikai tesztek nagyrészt Európában [1, 23–29], azon belül is Franciaországban [22, 30–41], Szardínián [14, 35, 36, 42–44], és Cipruson [45, 46] koncentráálódtak. Ezen kívül Amerikából [47, 48] és Ázsiából [1, 28, 29, 49–52] is rendelkezünk számos, muflonokon végzett genetikai kutatással. A különböző genetikai markerekkel végzett széles spektrumú, különböző célú kutatást az 1. táblázatban foglaljuk össze.

Az állományok genetikai összetételének ismerete lényeges információkkal szolgál az állományok dinamikájával, fennmaradásával és túlélésével kapcsolatban, ill. hozzájárul a populációk fenntartható kezeléséhez, és az emberi tevékenységek negatív hatásainak minimalizálásához. A genetikai diverzitás kapcsolatban lehet egyes betegségek megjelenésével és a populációk szaporodásbiológiai mutatóival, a jérék és anyajuhok termékenységgel, valamint megvilágítják egyes gének öröklődésének mechanizmusait. Az igazságügyi célból végzett vizsgálatok kiemelkedő fontosságúak lehetnek a muflonokat érintő vadorzás és ételmisszer-hamisítási ügyekben. Az összehasonlító genetikai vizsgálatok muflonok és juhok között hozzájárulnak a genetikai hasonlóságok és különbségek feltáráshoz, a köztük lévő hibridizációs hatások, valamint az alfajok/fajták kialakulásának megértéséhez.

#### GENETIKAI MARKEREK KIVÁLASZTÁSA

A különböző célú genetikai vizsgálatokhoz leggyakrabban a nukleáris mikroszatellitákat (STR: short tandem repeat) és a mitokondriális kontrollrégiót vizsgálják (1. táblázat). Gyakori előfordulásuk és a kevesebb genotipizálási hiba miatt mikroszatellitákon belül, különösen igazságügyi célokra, javasolt a négy bázispár

**1. TÁBLÁZAT.** Genetikai vizsgálatok muflonban és rokonfajokban**TABLE 1.** Genetic studies in mouflon and related species

Vizsgált markerek	Vizsgált fajok	Vizsgálat célja	Referencia
Mikroszatelliták	EM, CipM, kőszáli kecske, háziasított juhajták	fajmegőrzés, parazita rezisztencia, igazságügyi vizsgálatok, introgresszió, hibridizáció	[14, 22, 25–27, 31, 37–40, 43–50]
MHC gén	EM, háziasított juhajták	parazita rezisztencia, fajmegőrzés	[34, 39]
Y-STR, Y-SNP, SRY	EM, háziasított juhajták, kanadai vadjuh, ural, argali	Y kromoszómához kötött öröklődés, introgresszió	[24]
MT1 melatonin-receptor gén	EM	szaporodásbiológia	[42]
Endogén retrovírus markerek	EM, háziasított juhajták	introgresszió, hibridizáció	[26, 27]
mRNS, mikroRNS	EM, háziasított juhajták	termékenység	[80]
SNP-k (kazein génekben, teljes genomban)	EM, ÁM, muflon-juh hibridek, háziasított juhajták	fajták eredete, introgresszió	[28, 51, 52, 78]
Mitokondriális DNS (Cytb, kontroll régió, 12S rRNS)	EM, CipM, KorM, kőszáli kecske, zerge, ural, argali, háziasított juhajták	húsvizsgálat, fajmegőrzés, igazságügyi vizsgálatok	[14, 23, 35, 40, 41, 44–46]
Teljes genom szekvenálás	EM, AM, ural, szibériai juh, alaszakai vadjuh, argali	genomi információk kutatáshoz	[1, 29]

EM: európai muflon, AM: ázsiai muflon, CipM: ciprusi muflon, KorM: korzikai muflon

EM: European mouflon, AM: Asian mouflon, CipM: Cypriot mouflon, KorM: Corsican mouflon

**Az adott faj genetikai diverzitásának felmérésére alkalmas markerkészlet fejlesztésének első lépése a lokuszok keresése**

ismétlődésű tetranukleotidokat alkalmazni [53–57]. Az ennél rövidebb ismétlődő egységeket tartalmazó di- és trimer mikroszatelliták kevésbé egyértelműen meghatározhatók, mivel nagyobb valószínűséggel eredményeznek műterméket a PCR-reakció során [53, 56]. Az adott faj genetikai diverzitásának felmérésére alkalmas markerkészlet fejlesztésének első lépése a lokuszok keresése. Ez történhet a cél faj genomszekvenciájának vizsgálatával [57], vagy korábbi publikációban más, rokon fajokra leírt markerek kiválasztásával [43, 54, 56, 58, 59]. Ezt követően tesztelni és optimalizálni kell a PCR- programot, hogy a cél fajban is specifikus, megfelelő mennyiségű és specificitású eredményt kapjunk. Mivel sem a muflonra sem a házi juhra nem áll rendelkezésre tetramer mikroszatellita-markerszett, a közelebbi rokonfajokban pedig szinte kizárólag csak dinukleotid mikroszatellita-markereket alkalmaznak, így a szarvasfélék családjába (*Cervidae*) tartozó távolabbi rokonfajoknál leírt primerpárokat választottunk tesztelésre. A taxonon

belül a markerek primerkötő régiója gyakran konzervált, ennek köszönhetően pedig sok primerpár több fajban is fel tudja sokszorosítani ugyanazt a szakaszt. Ehhez egy korábbi közleményben publikált 80 darab markert kívántuk első körben tesztelni, mivel ezek már legalább két szarvasfajra működtek, utalva konzervatív jellegükre, valamint mindhez rendelkezünk a szükséges jelölt primerekkel és kiindulási PCR-protokollal [60]. A mitokondriális kontrollrégió vizsgálatára a házi juhban (*Ovis aries*) működő primerpárok tesztelését terveztük.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

### MINTAGYŰJTÉS ÉS DNS-KINYERÉS

A vizsgálatokhoz 10 muflonegyedtől származó izom- vagy szőrösbőr-szövetmintát használtunk fel, amelyek 2019 és 2023 között kerültek kilövésre a Pilisi Parkerdő Zrt. területén. A DNS kinyerése FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kittel (Favorgen Biotech Corp, Ping-Tung, Taiwan) történt a gyártó által megadott protokoll szerint. A DNS tisztítását követően annak minőségét 150 Volton 40 percig futtatva GelSafe (Danagen, Barcelona, Spanyolország) gélfestékkel festett 1%-os agarózgélén elektroforézissel ellenőriztük. Az egyedeket kétfajta markertípussal, nukleáris mikroszatellitákkal és a mitokondriális kontrollrégióval vizsgáltuk.

### MIKROSZATELLITA-VIZSGÁLATOK

A 80 STR marker tesztelését első körben a hozzájuk leírt PCR beállítások alapján kíséreltük meg [60]. Amennyiben a kapott termék minősége (pl.: melléktermék jelenléte) vagy mennyisége nem volt megfelelő, abban az esetben az eredeti protokollt módosítottuk. Ehhez különböző anellációs hőmérsékleteken teszteltük a PCR során sokszorosított fragmenseket, segítve így a hőmérsékleti optimum megállapítását. A további vizsgálatokban alkalmazott két optimalizált protokoll kizárólag az primertapadási hőmérsékletben tér el: 60 (mp) másodperc 94 °C-on, majd 32 ciklus 30 mp denaturáció 94 °C-on, 60 mp primertapadás 58 °C vagy 63 °C-on, 40 mp elongáció 72 °C-on, ezt követően pedig 20 perc végső elongáció 72 °C-on. Az optimalizált PCR-t követően az allélek elválasztása és detektálása kapilláris elektroforézissel ABI Prism3500 GeneticAnalyzer készüléken (AppliedBiosystems, Foster City, USA), GeneScan™-500 LIZ™ méret standard segítségével történt. Ehhez a termékek floureszcens jelölésére volt szükség, amihez az úgynevezett „farkazásos” jelölési módszert alkalmaztuk [61]. Az eredmények kiértékelésére az OSIRIS programot 2.16 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/osiris/>) használtuk.

A leolvasott allélhosszak alapján a GenAIEx v6.5 szoftver segítségével meghatároztuk a genotípusokat, ill. a poliporfizmust mutató lokuszok esetében a megfigyelt és várt heterozigotitást [62, 63].

### MITOKONDRIÁLIS KONTROLLRÉGIÓ VIZSGÁLATA

A kontroll régió sokszorosítására a korábban házi juhokra leírt primereket (MtOA\_F15400 5'-ACACCAAGCTGAAGTTCTAC-3' és MtOA\_R592 5'-AGAAGGGTATAAAG-CACCGCC -3') és a hozzá tartozó PCR-protokollt alkalmaztuk [64, 65].

A sikeres amplifikációt követően a PCR-termékeket GenElute™ PCR Clean-Up Kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) segítségével tisztítottuk, majd mindkét irányban szekvenáltuk a BigDye® Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kittel (AppliedBiosystems, Foster City, USA). A szekvenált termékek kimutatása ABI Prism 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) készüléken történt. A forward és reverz szekvenciákat illesztettük és szükség esetén korrigáltuk a Sequencher™ 5.4.6 szoftver (Genes Codes Corp, Ann Arbor, MI, USA) segítségével. A konszenzus szekvenciákat ezután a GenBankban (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) tárolt más kutatásokból származó szekvenciákkal hasonlítottuk össze.

*Szarvasfélék, ill. juhok  
genetikai vizsgálatára  
kifejlesztett markereket  
teszteltek  
10 muflon mintáján*

## EREDMÉNYEK

**A mikroszatelliták  
tesztelése során a  
80 darab markerből  
20 adott megfelelő  
PCR-terméket**

A mikroszatelliták tesztelése során a 80 darab markerből 20 eredményezett megfelelő minőségű és mennyiségű terméket az optimalizált PCR beállításokat követően (2. táblázat). A kapilláris-elektroforézises detektálással az egyik marker (ApoV43) három termékcsúcsot eredményezett, amelyet a PCR beállítások változtatásával sem tudtunk kiküszöbölni, így ezt a lokuszt kivettük az elemzésekből.

A megmaradt 19 markerből három bizonyult polimorfnek két-két allállal (2. táblázat). A tíz egyedből ezek alapján két-két genetikai profil egyezett. A várható heterozigotizás 0,18 és 0,49 között, míg a megfigyelt heterozigotizás 0,2 és 0,5 között alakult.

A kontrollrégió esetében mind a tíz egyed ugyanazt a haplotípust mutatta, amelyet PP782052 kódszámmal feltöltöttünk a GenBank adatbázisába. A GenBankban elérhető szekvenciákkal való összehasonlítás során három 100%-os egyezést találtunk, amelyek közül kettő (AY091487 és HM236185) németországi európai muflonokból, míg a harmadik (KF938360) egy kazahsztáni ázsiai muflonból lett kimutatva.

**2. TÁBLÁZAT.** A muflonokban működő 20 keresztspecifikus marker adatai

**TABLE 2.** Data of 20 cross-specific markers operating in mouflons

	Jelölés	Anell. T	Na	Ho	He	Eredeti faj	Ref.
C229	A	63 °C	2	0,20	0,18	<i>Cervus elaphus</i>	[56]
T108	C	63 °C	1	0,00	0,00		
T156	C	63 °C	1	0,00	0,00		
T507	D	63 °C	1	0,00	0,00		
Mgou19	A	58 °C	1	0,00	0,00	<i>Mazama gouazoupira</i>	[81]
Mgou21	C	58 °C	1	0,00	0,00		
OheH	B	58 °C	1	0,00	0,00	<i>Odocoileus hemionus</i>	[53]
OheI	A	58 °C	2	0,50	0,49		
OheK	D	58 °C	1	0,00	0,00		
C105	C	58 °C	1	0,00	0,00	<i>Cervus canadensis</i>	[58]
T115	A	63 °C	1	0,00	0,00		
Capcap15	C	63 °C	1	0,00	0,00	<i>Capreolus capreolus</i>	[57]
SBTD04	A	58 °C	1	0,00	0,00	<i>Odocoileus hemionus sitkensis</i>	[82]
SBTD06	B	58 °C	1	0,00	0,00		
ApoV43	A	58 °C	1	0,00	0,00	<i>Axia porcinus</i>	[83]
ApoV47	B	63 °C	1	0,00	0,00		
ApoV53	D	63 °C	1	0,00	0,00		
ApoV94	D	58 °C	2	0,20	0,42		
ApoV135	B	58 °C	1	0,00	0,00		
ApoV145	D	58 °C	1	0,00	0,00		

\*: a markerek fluoreszcens jelölése a [61] alapján történt, T: anellációs hőmérséklet, Na: allélok száma, Ho és He: megfigyelt és várt heterozigotizás, Ref: a markereket először leíró cikkek referenciái és a származási faj

\*: fluorescent labeling of the markers was done according to [61], T: annealing temperature, Na: number of alleles, Ho and He: observed and expected heterozygosity, Ref: references of the articles describing the markers for the first time and the species of origin

## MEGVITATÁS

A kutatás keretein belül olyan rendelkezésre álló, rokon kérődzőfajokban működő mitokondriális és nukleáris markereket teszteltünk, amelyek potenciálisan alkalmasak lehetnek a muflon populációk diverzitásának felmérésére, monitorozására, ill. az egyedi és anyai leszármazási vonalak azonosítására.

A nukleáris mikroszatellitáknál a 80 vizsgált markerből mindössze 20 adott megfelelő PCR-terméket az optimalizáció után, amely a markerek forrásfaja és a muflon közötti genetikai eltéréseknek tudható be. Ezen mutációk a primerkötő régió szekvenciájának megváltozását és ezáltal a primer DNS-hez való kötődésének optimum változását okozhatják [66, 67]. A tíz egyeden 19 markerből kapott polimorfizmusadatok alapján a vizsgált muflonok csekély genetikai diverzitással rendelkeznek, hasonlóan más, szigetszerűen izolált muflonpopulációk vizsgálatának eredményeihez [34]. Azonban azzal a megfigyeléssel is számolni kell, hogy a hosszabb repetíciós (tetra-, penta-, hexamer) egységekből álló mikroszatelliták kisebb mértékű polimorfizmussal rendelkezhetnek a di-, ill. trimer szerekhez tartó társaiknál [53]. A viszonylag nagyobb távolság a muflonok és a szarvasfélék – amelyekből a tesztelt markerek származtak – között, szintén magyarázhatja, hogy a szarvasokban változatosságot mutató lokuszok muflonban limitált polimorfizmust, ill. monomorf (egy allélos) tulajdonságot mutatnak.

*A mitokondriális kontrollrégió esetében mind a 10 állat egy haplotípust mutatott*

A mitokondriális kontrollrégió esetében mindösszesen egy haplotípust találtunk mind a tíz vizsgált egyednél. Kis haplotípusdiverzitás-eredményeket kaptak más országokban végzett hasonló jellegű kutatások is [14, 24]. Mivel a kontrollrégió mint mitokondriális marker anyai öröklődésű, így a nőivarú egyedek migrációs képessége jelenti az egyetlen átmozgási lehetőséget a populációk között [30, 38]. A legtöbb kérődzőre jellemzően főként a hímek vándorolnak, így az eltérő anyai vonalak keveredése egymáshoz közeli populációk között sem feltétlenül megy végbe [30, 38]. A változatosságot így főként a beltenyésztés mértéke és az alapító egyedek kezdeti változatossága alakítja ki, amelyek közül egyikről sem állt rendelkezésre információ.

*A megfigyelt csekély genetikai változatosság hátterében több tényező állhat*

Az összességében kimutatott csekély genetikai változatosság mögött azonban több egyéb tényező együttes hatása állhat. Ilyen pl. a faj viszonylag nagy területhűsége [68–71]. Bár a kosok nagyobb migrációs hajlandóságot mutatnak a jerkéknél, ennek mértéke mégis kicsi más fajokhoz viszonyítva [72–74]. A muflon más populációiban több kutatás is azt mutatta ki, hogy a nőivarú egyedek azon a területen maradnak, ahol nevelkedtek, míg a hímek a szaporodási időszak alatt kis mértékben ugyan, de átvándorolhatnak egyik területről a másikra a párási kényszer miatt [14, 30, 38]. Abban azonban eltérés lehet, hogy egyes populációk kosai mekkora távolságot hajlandóak átmozogni két előfordulási terület között. Magyarországon az állomány általában szigetszerű elterjedést mutat [13], amely a különféle betelepítések során alakult ki [9–11, 75]. Bár a számára kedvező élőhelyeken a szabadjára engedett egyedek képesek fennmaradni és gyarapodni, a tapasztalat azt mutatja, hogy az új területek meghódítására kevésbé képesek [9]. A másik ok az alapító egyedek kis száma lehet, ami telepítésenként legtöbbször csak pár tucat egyed jelentett [11], és azok is sokszor hasonlóan kis kezdeti számból felgyarapított forráspopulációkból származtak [76], ezzel tovább csökkentve a génállomány változatosságát. A ma Európában megtalálható muflonok szinte kizárólag Szardíniáról és Korzikáról származnak [77]. A korábbi Habsburg birodalomhoz tartozó legtöbb területre Németországból vitték be a fajt [11], így ennek az alapító populációnak a szűkös készleteiből merített a magyar és a feltételezhetően a többi környékbeli populáció is [9, 11], ráadásul az eredetinek számító szardíniai és korzikai populációk genetikai változatossága is kicsi jelenleg [14, 78]. Ugyanakkor a napjainkban fellelhető változatosság nem feltétlen árulkodik a telepítési hullámok során meglévő génkészletről. Az eredeti élőhelyén védelmet

élvező faj több konzervációt célzó kutatás alanya [14, 40, 43, 78], és ezek alapján mindkét szigeten a túlvadászat és területvesztés következtében egy vagy több genetikai beszűkülésen (ún. palacknyak-hatás) ment át a populáció, amelyek pontos idejét nehéz megállapítani.

A muflon ezen faktorok és kombinációik eredményeképpen a nemzetközi vizsgálatok alapján kisebb genetikai diverzitást mutat más vadászható fajokhoz képest [53, 56, 57]. Ez megnehezíti a megfelelő, polimorf markerek szelekcióját, de nem teszi lehetetlenné, és semmiképp nem indokolatlanná. Éppen a faj beszűkült genetikai változatossága szorgalmazza még inkább a széleskörű vizsgálatára és monitorozására alkalmas markerkészlet kifejlesztését, amely segítségével akár telepítési tervek is kidolgozhatóak a jövőben. Az eddigi 19 működő markert érdemes ezért más populációkban is tovább vizsgálni, mivel a kismértékű átjárás miatt az egyes populációkban monomorf lokuszok polimorfak lehetnek a területenként eltérő allélfixáció miatt. A jövőben szintén fontos lenne további, közelebbi rokon fajokból származó tetramer szerkezetű mikroszatelliták tesztelése.

**A muflon kisebb genetikai diverzitást mutat más vadászható fajokhoz képest**

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A tanulmány az Állatorvostudományi Egyetem Budapest stratégiai kutatási alapja (SRF-001 sz. támogatás) támogatásával készült. Köszönettel tartozunk ANTALNÉ GYŐRI ERIKÁNAK és ANTAL ISTVÁNNAK az illusztrációként felhasznált fényképekért.

## IRODALOM

- Chen Z-H, Xu Y-X, Xie X-L, Wang D-F, Aguilar-Gómez D, Liu G-J, Li X, Esmailizadeh A, Rezaei V, Kantanen J, others (2021) Whole-genome sequence analysis unveils different origins of European and Asiatic mouflon and domestication-related genes in sheep. *Commun Biol* 4:1307. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02817-4>
- Vigne J-D (1992) Zooarchaeology and the biogeographical history of the mammals of Corsica and Sardinia since the last ice age. *Mammal Rev* 22:87-96. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.1992.tb00124.x>
- Chessa B, Pereira F, Arnaud F, Amorim A, Goyache F, Mainland I, Kao RR, Pemberton JM, Beraldi D, Stear MJ, others (2009) Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. *Science* 324:532-536. <https://doi.org/10.1126/science.1170587>
- Vigne J-D, Carrere I, Briois F, Guilaine J (2011) The early process of mammal domestication in the Near East: New evidence from the Pre-Neolithic and Pre-Pottery Neolithic in Cyprus. *Curr Anthropol* 52:S255-S271. <https://doi.org/10.1086/659306>
- Wang D, Salehian-Dehkordi H, Suo L, Lv F (2023) Impacts of Population Size and Domestication Process on Genetic Diversity and Genetic Load in Genus *Ovis*. *Genes* 14:1977. <https://doi.org/10.3390/genes14101977>
- Laca Megyesi Š, Königová A, Babják M, Molnár L, Rajský M, Szeštáková E, Major P, Soroka J, Urda Dolinská M, Komáromyová M, others (2020) Wild ruminants as a potential risk factor for transmission of drug resistance in the abomasal nematode *Haemonchus contortus*. *Eur j wildlife res* 66:1-6. <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1351-x>
- Valenzuela-Moreno LF, Cedillo-Peláez C, Rico-Torres CP, Hernández-Rodríguez MA, del Carmen Carmona-Muciño M, Farfán-Morales JE, Correa D, Caballero-Ortega H (2020) *Toxoplasma gondii* infection in European mouflons (*Ovis musimon*) and captive wild felines from Puebla, México. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 13:1-6. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2020.07.005>
- Nasiadka P, Wajdzik M, Skubis J, others (2021) A comprehensive over 100 years history of mouflon (*Ovis musimon*) in Poland: from the promising beginning in 1902 to questionable future in 2014—a case study of wildlife management history. *Appl Ecol Environ Res* 19:993-1017. <http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1902-9931017>
- Mátrai G (1983) A muflon Magyarországon. *Nimród* 103:494-495
- Juriss J (1940) A muflon megtelepítése. *Nimród* 28:247
- Lénár G (1988) Muflon Zemplénben. *Nimród* 108:589-590
- Csányi S, Márton M, Bóti S, Schally G (2023) Vadgazdálkodási Adattár - 2022/2023. vadászati év
- Kispál L (2023) 140 éve bocsátották szabad területre az első muflonállományt a kontinensen. In: *Nimród Vadászújság*. <https://nimrod.hu/hirek/140>
- Satta V, Mereu P, Barbato M, Pirastru M, Bassu G, Manca L, Naitana S, Leoni GG (2021) Genetic characterization and implications for conservation of the last autochthonous Mouflon population in Europe. *Sci Rep* 11:14729. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94134-3>
- Milivoje U, Milosava M, Radomir M, Panče D (2023) Basic Morphometric Characteristics of Mouflon Trophies (*Ovis orientalis Gmelin*, 1774). *Pak J Zool* 55:2989. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20220711150759>
- Mátrai G (1980) A muflon és vadászata. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Bunch T, Nguyen T (1982) Blood group comparisons between European mouflon sheep and North American desert bighorn sheep. *J Hered* 73:112-114. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a109591>

18. Stratil A, Glasnák V, Tomášek V, Williams J, R Clamp J (1984) Haemopexin in sheep, mouflon and goat: genetic polymorphism, heterogeneity and partial characterization. *Anim Blood Groups Biochem Genet* 15:285–297. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1984.tb01128.x>
19. Stratil A n, Bobák P (1988) Comparison of biochemical polymorphisms in mouflon and sheep: isoelectric differences in haemoglobins and quantitative variation of mouflon haemopexin. *Comp Biochem Phys B, Comp Biochem* 90:159–162. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(88\)90054-5](https://doi.org/10.1016/0305-0491(88)90054-5)
20. Masala B, Manca L, Cocco E, Ledda S, Naitana S (1991) Kinetics of the ontogenic and reversible hemoglobin switching in the mouflon (*Ovis musimon*) and sheep x mouflon hybrid. *Comp Biochem Phys A, Comp Phys* 100:675–680. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(91\)90388-s](https://doi.org/10.1016/0300-9629(91)90388-s)
21. Naitana S, Ledda S, Cocco E, Manca L, Masala B (1991) Haemoglobin phenotypes of the wild European mouflon sheep living on the island of Sardinia. *Anim Genet* 22:67–75. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1991.tb00647.x>
22. Petit E, Aulagnier S, Vaiman D, Bouissou C, Crouau-Roy B (1997) Microsatellite variation in an introduced mouflon population. *J Hered* 88:517–520. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a023147>
23. Fajardo V, González I, López-Calleja I, Martín I, Rojas M, García T, Hernandez P, Martín R (2007) PCR identification of meats from chamois (*Rupicapra rupicapra*), pyrenean ibex (*Capra pyrenaica*), and mouflon (*Ovis ammon*) targeting specific sequences from the mitochondrial D-loop region. *Meat sci* 76:644–652. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.02.002>
24. Meadows J, Kijas J (2009) Re-sequencing regions of the ovine Y chromosome in domestic and wild sheep reveals novel paternal haplotypes. *Anim Genet* 40:119–123. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2008.01799.x>
25. Calvo JH, Alvarez-Rodríguez J, Marcos-Carcavilla A, Serrano M, Sanz A (2011) Genetic diversity in the Churra tensina and Churra lebrijana endangered Spanish sheep breeds and relationship with other Churra group breeds and Spanish mouflon. *Small Ruminant Res* 95:34–39. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.09.003>
26. Schröder O, Lieckfeldt D, Lutz W, Rudloff C, Frölich K, Ludwig A (2016) Limited hybridization between domestic sheep and the European mouflon in Western Germany. *European J Wildlife Res* 62:307–314. <https://doi.org/10.1007/s10344-016-1003-3>
27. Glazko V, Kosovsky GY, Erkenov T, Glazko T, Amerkhanov KA (2020) Population Genetic Relationships between Mouflon and Domesticated Sheep Breeds in Highly Polymorphic Genomic Elements. *Russ Agric Sci* 46:509–513. <http://dx.doi.org/10.31857/S2500262720040122>
28. Luigi-Sierra MG, Mármol-Sánchez E, Amills M (2020) Comparing the diversity of the casein genes in the Asian mouflon and domestic sheep. *Anim Genet* 51:470–475. <https://doi.org/10.1111/age.12937>
29. Su R, Qiao X, Gao Y, Li X, Jiang W, Chen W, Fan Y, Zheng B, Zhang Y, Liu Z, others (2020) Draft genome of the European mouflon (*Ovis orientalis musimon*). *Front Genet* 11:533611. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.533611>
30. Martins AG, Netto NT, Aulagnier S, Borges A, Dubois M, Vicente L, Gerard J-F, Maublanc M-L (2002) Population subdivision among mouflon sheep (*Ovis gmelini*) ewes and ranging behaviour of rams during the rut. *J Zool* 258:27–37. <http://dx.doi.org/10.1017/S0952836902001176>
31. Maudet C, Luikart G, Dubray D, Von Hardenberg A, Taberlet P (2004) Low genotyping error rates in wild ungulate faeces sampled in winter. *Mol Ecol Notes* 4:772–775. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00787.x>
32. Garel M, Cugnasse J-M, Gaillard J-M, Loison A, Gibert P, Douvre P, Dubray D (2005) Reproductive output of female mouflon (*Ovis gmelini musimon*) (*times Ovis sp.*): a comparative analysis. *J Zool* 266:65–71. <http://dx.doi.org/10.1017/S0952836905006667>
33. Garel M, Cugnasse J-M, Maillard D, Gaillard J-M, Hewison AM, Dubray D (2007) Selective harvesting and habitat loss produce long-term life history changes in a mouflon population. *Ecol Appl* 17:1607–1618. <https://doi.org/10.1890/06-0898.1>
34. Santucci F, Ibrahim K, Bruzzone A, Hewit G (2007) Selection on MHC-linked microsatellite loci in sheep populations. *Heredity* 99:340–348. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6801006>
35. Sanna D, Barbato M, Hadjisterkotis E, Cossu P, Decandia L, Trova S, Pirastru M, Leoni GG, Naitana S, Francalacci P, others (2015) The first mitogenome of the Cyprus mouflon (*Ovis gmelini ophion*): new insights into the phylogeny of the genus *Ovis*. *PLoS ONE* 10:e0144257. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144257>
36. Barbato M (2016) Unravelling the evolutionary history and adaptation of European mouflon and some domestic sheep populations with special emphasis on the ovines of Sardinia. PhD Thesis, Cardiff University
37. Portanier E, Garel M, Devillard S, Marchand P, Andru J, Maillard D, Bourgoïn G (2017) Introduction history overrides social factors in explaining genetic structure of females in Mediterranean mouflon. *Ecol Evol* 7:9580–9591. <https://doi.org/10.1002/ece3.3433>
38. Portanier E, Larroque J, Garel M, Marchand P, Maillard D, Bourgoïn G, Devillard S (2018) Landscape genetics matches with behavioral ecology and brings new insight on the functional connectivity in Mediterranean mouflon. *Landscape Ecol* 33:1069–1085. <https://doi.org/10.1007/s10980-018-0650-z>
39. Portanier E, Garel M, Devillard S, Maillard D, Poissant J, Galan M, Benabed S, Poirel M-T, Duhayer J, Itty C, others (2019) Both candidate gene and neutral genetic diversity correlate with parasite resistance in female Mediterranean mouflon. *BMC ecol* 19:1–14. <https://doi.org/10.1186/s12898-019-0228-x>
40. Portanier E, Chevret P, Gélín P, Benedetti P, Sanchis F, Barbanera F, Kaerle C, Queney G, Bourgoïn G, Devillard S, others (2022) New insights into the past and recent evolutionary history of the Corsican mouflon (*Ovis gmelini musimon*) to inform its conservation. *Conserv Genet* 1–17. <https://doi.org/10.1007/s10592-021-01399-2>
41. Barbato M, Masseti M, Pirastru M, Columbano N, Scali M, Vignani R, Mereu P (2022) Islands as time capsules for genetic diversity conservation: The case of the Giglio Island mouflon. *Diversity* 14:609. <http://dx.doi.org/10.3390/d14080609>
42. Carcangiu V, Mura MC, Vacca GM, Dettori ML, Pazzola M, Daga C, Luridiana S (2010) Characterization of the melatonin receptor gene MT1 in mouflon (*Ovis Gmelini Musimon*) and its relationship with reproductive activity. *Mol reprod dev* 77:196. <https://doi.org/10.1002/mrd.21125>
43. Lorenzini R, Cabras P, Fanelli R, Carboni GL (2011) Wildlife molecular forensics: identification of the Sardinian mouflon using STR profiling and the Bayesian assignment test. *Forensic Sci Int Genet* 5:345–349. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.01.012>
44. Guerrini M, Forcina G, Panayides P, Lorenzini R, Garel M, Anayiotos P, Kassinis N, Barbanera F (2015) Molecular DNA identity of the mouflon of Cyprus (*Ovis orientalis ophion*, *Bovidae*): Near Eastern origin and divergence from Western Mediterranean conspecific populations. *Syst Biodivers* 13:472–483. <https://doi.org/10.1080/1472000.2015.1046409>

45. Barbanera F, Guerrini M, Beccani C, Forcina G, Anayiotos P, Panayides P (2012) Conservation of endemic and threatened wildlife: molecular forensic DNA against poaching of the Cypriot mouflon (*Ovis orientalis ophion*, *Bovidae*). *Forensic Sci Int Genet* 6:671–675. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.12.001>
46. Guerrini M, Panayides P, Mofrad NN, Kassinis N, Ioannou I, Forcina G, Hadjigerou P, Barbanera F (2021) Spatial genetic structure and *Ovis* haplogroup as a tool for an adaptive conservation management of the endangered Cyprus mouflon. *Zoology* 148:125959. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2021.125959>
47. Kaeuffer R, Coltman DW, CHAPUIS J-L, Reale D, Pontier D (2007) The effects of cyclic dynamics and mating system on the effective size of an island mouflon population. *Mol Ecol* 16:4482–4492. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2007.03501.x>
48. Kaeuffer R, Réale D, Pontier D, Chapuis J-L, Coltman DW (2008) Local effects of inbreeding on embryo number and consequences for genetic diversity in Kerguelen mouflon. *Biol Lett* 4:504–507. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2008.0222>
49. Stahlberger-Saitbekova N, Schläpfer J, Dolf G, Gaillard C (2001) Genetic relationships in Swiss sheep breeds based on microsatellite analysis. *J Anim Breed Genet* 118:379–387. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1439-0388.2001.00312.x>
50. Sadeghi B (2018) Genetic Diversity of Tendürek Mouflon Population. *Acta Vet Eurasia* 44:20–25
51. Ciani E, Mastrangelo S, Da Silva A, Marroni F, Ferenčaković M, Ajmone-Marsan P, Baird H, Barbato M, Colli L, Delvento C, others (2020) On the origin of European sheep as revealed by the diversity of the Balkan breeds and by optimizing population-genetic analysis tools. *Genet Sel Evol* 52:1–14. <https://doi.org/10.1186/s12711-020-00545-7>
52. Eydivandi S, Sahana G, Momen M, Moradi M, Schönherz A (2020) Genetic diversity in Iranian indigenous sheep vis-à-vis selected exogenous sheep breeds and wild mouflon. *Anim Genet* 51:772–787. <https://doi.org/10.1111/age.12985>
53. Jones K, Levine K, Banks J, others (2000) DNA-based genetic markers in black-tailed and mule deer for forensic applications. *Calif Fish Game* 86:115–126
54. Jones KC, Levine KF, Banks JD (2002) Characterization of 11 polymorphic tetranucleotide microsatellites for forensic applications in California elk (*Cervus elaphus canadensis*). *Mol Ecol Notes* 2:425–427. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1471-8286.2002.00264.x>
55. Butler JM (2011) Advanced topics in forensic DNA typing: methodology. Academic press
56. 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. *J Forensic Sci* 59:1090–1099
57. Morf NV, Kopps AM, Nater A, Lendvay B, Vasiljevic N, Webster LM, Fautley RG, Ogden R, Kratzer A (2021) STRoe deer: A validated forensic STR profiling system for the European roe deer (*Capreolus capreolus*). *Forensic Sci Int Animals and Environments* 1:100023. <https://doi.org/10.1016/j.fsiae.2021.100023>
58. Meredith E, Rodzen J, Levine K, Banks J (2005) Characterization of an additional 14 microsatellite loci in California Elk (*Cervus elaphus*) for use in forensic and population applications. *Conserv Genet* 6:151–153. <http://dx.doi.org/10.1007/s10592-004-7735-8>
59. Turi O, Wagenhoffer Z, Battay M, Lehotzky P, Zorkóczy O (2023) Mikroszatellita-markerek tesztelése dámszarkasok egyedi azonosítása céljából. *Magy Állatorvosok Lapja* 145:67–76. <https://doi.org/10.56385/magyallorv.2023.03.183-19..>
60. Zorkóczy OK, Turi O, Wagenhoffer Z, Ózsvári L, Lehotzky P, Pádár Z, Zenke P (2023) A Selection of 14 Tetrameric Microsatellite Markers for Genetic Investigations in Fallow Deer (*Dama dama*). *Animals* 13:2083. <http://dx.doi.org/10.3390/ani13132083>
61. Blacket M, Robin C, Good R, Lee S, Miller A (2012) Universal primers for fluorescent labelling of PCR fragments—an efficient and cost-effective approach to genotyping by fluorescence. *Mol Ecol Resour* 12:456–463. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03104.x>
62. Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes* 6:288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
63. Smouse RPP, Peakall R (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28:2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bt2460>
64. Gáspárdy A, Zenke P, Kovács E, Annus K, Posta J, Sáfár L, Maróti-Agóts Á (2022) Evaluation of maternal genetic background of two Hungarian autochthonous sheep breeds coming from different geographical directions. *Animals* 12:218. <https://doi.org/10.3390/ani12030218>
65. Hiendleder S, Lewalski H, Wassmuth R, Janke A (1998) The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major ovine haplotype. *J Mol Evol* 47:441–448. <https://doi.org/10.1007/pl00006401>
66. Leibelt C, Budowle B, Collins P, Daoudi Y, Moretti T, Nunn G, Reeder D, Roby R (2003) Identification of a D8S1179 primer binding site mutation and the validation of a primer designed to recover null alleles. *Forensic sci int* 133:220–227. [https://doi.org/10.1016/s0379-0738\(03\)00035-5](https://doi.org/10.1016/s0379-0738(03)00035-5)
67. Takayama T, Takada N, Suzuki R, Nagaoka S, Watanabe Y (2007) Identification of a rare mutation in a TH01 primer binding site. *Legal med* 9:289–292. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2007.04.003>
68. Geist V, others (1971) Mountain sheep. A study in behavior and evolution. University of Chicago Press.
69. Dubois M, Bon R, Cransac N, Maublanc M-L (1994) Dispersal patterns of Corsican mouflon ewes: importance of age and proximate influences. *Appl Anim Behav Sci* 42:29–40. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(94\)90004-3](https://doi.org/10.1016/0168-1591(94)90004-3)
70. Gross JE, Singer FJ, Moses ME (2000) Effects of disease, dispersal, and area on bighorn sheep restoration. *Restor Ecol* 8:25–37. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1526-100x.2000.80063.x>
71. Worley K, Strobeck C, Arthur S, Carey J, Schwantje H, Veitch A, Coltman D (2004) Population genetic structure of North American thinhorn sheep (*Ovis dalli*). *Mol Ecol* 13:2545–2556. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2004.02248.x>
72. Dubois M, Quenette P-Y, Bideau E, Magnac M-P (1993) Seasonal range use by European mouflon rams in medium altitude mountains. *Acta Theriol* 38:185–198
73. Dubois M, Khazraïe K, Guilhem C, Maublanc M-L, Le Pendu Y (1995) Philopatry in mouflon rams during the rutting season: psycho-ethological determinism and functional consequences. *Behav Process* 35:93–100. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(95\)00044-5](https://doi.org/10.1016/0376-6357(95)00044-5)
74. King R, Brooks SP (2003) Survival and spatial fidelity of mouflons: The effect of location, age, and sex. *Journal of agricultural, biological, and environmental statistics* 8:486–513. <http://dx.doi.org/10.1198/1085711032570>
75. Bikfalvi G, Fluck D (1988) A muflon elterjedése Európában. *Nimród* 108:163

76. Homonnay Z (1986) VADELEPÍTÉS - VÉRFRISSÍTÉS. Nimród 106:246–248
77. Uloth W (1972) To the history of the distribution, introduction and cross-breeding of the Tyrrhenis mouflon in Europe and oversea. Acta Theriol 17:412–413. <https://doi.org/10.4098/AT.arch.72-32>
78. Barbato M, Hailer F, Orozco-terWengel P, Kijas J, Mereu P, Cabras P, others (2017) Genomic signatures of adaptive introgression from European mouflon into domestic sheep. Sci Rep 7:7623. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07382-7>
79. Kim BJ, Lee Y-S, An J, Park H-C, Okumura H, Lee H, Min M-S (2008) Species and sex identification of the Korean Goral (*Nemorhaedus caudatus*) by molecular analysis of non-invasive samples. Mol cells 26:314–8
80. Yang J, Li X, Cao Y-H, Pokharel K, Hu X-J, Chen Z-H, Xu S-S, Peippo J, Honkatukia M, Kantanen J, others (2019) Comparative mRNA and miRNA expression in European mouflon (*Ovis musimon*) and sheep (*Ovis aries*) provides novel insights into the genetic mechanisms for female reproductive success. Heredity 122:172–186. <https://doi.org/10.1038/s41437-018-0090-1>
81. Caparroz R, Mantellatto A, Bertoli DJ, Figueiredo MG, Duarte JMB (2015) Characterization of the complete mitochondrial genome and a set of polymorphic microsatellite markers through next-generation sequencing for the brown brocket deer *Mazama gouazoubira*. Genet Mol Biol 38:338–345. <https://doi.org/10.1590/s1415-475738320140344>
82. Brinkman TJ, Person DK, Schwartz MK, Pilgrim KL, Colson KE, Hundertmark KJ (2010) Individual identification of Sitka black-tailed deer (*Odocoileus hemionus sitkensis*) using DNA from fecal pellets. Conserv Genet Resour 2:115–118. <http://dx.doi.org/10.1007/s12686-010-9176-7>
83. Hill E, Murphy N, Toop S, Linacre A, Strugnell JM (2022) Genetic analysis of hog deer (*Axis porcinus*) in Victoria, Australia, and its applications to invasive species and game management. Eur J Wildlife Res 68:45. <http://dx.doi.org/10.1007/s10344-022-01592-9>

Közlésre érke.: 2024. máj. 24.