

OTDK DOLGOZAT

36. OTDK Biológia Szekció

A kárpát-medencei parlagi sasok kelési diszperziójának vizsgálata az ivar és a territórium függvényében

Készítette: Csonka Veronika

Biológus MSc II.

Állatorvostudományi Egyetem
Biológiai Intézet, Ökológia Tanszék

Témavezető: Dr. Vili Nóra

Társtémavezető: Zsinka Bernadett

Budapest, 2021

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések és idegen szavak jegyzéke.....	3
2. Bevezetés.....	4
2.1. A diszperzió jelensége és jelentősége.....	4
2.2. A diszperziót befolyásoló tényezők.....	4
2.3. A parlagi sas	6
3. Célkitűzések	9
4. Anyag és módszerek.....	10
4.1. Mintavétel.....	10
4.2. A tollak preparálása, DNS-kivonás	11
4.3. Molekuláris ivarhatározás.....	11
4.4. Egyedi azonosítás	12
4.5. Diszperziós távolságok és denzitás számolása, a territórium elhelyezkedésének meghatározása	14
4.6. A diszperziót befolyásoló tényezők vizsgálata.....	15
5. Eredmények.....	17
5.1. Mintaelemszám és a markerkészlet tulajdonságai	17
5.2. A két ivar diszperziós távolsága	17
5.3. A territórium elhelyezkedése.....	18
5.4. A denzitás és a diszperziós távolság kapcsolata	19
5.5. A kelési és költési hely denzitásának viszonya	21
6. Diskusszió.....	23
7. Összefoglalás.....	26
8. Summary	28
9. Köszönetnyilvánítás	30
10. Irodalomjegyzék.....	31

1. Rövidítések és idegen szavak jegyzéke

Amplifikálás: DNS szakasz megsokszorozása

Anelláció: a PCR reakció egy szakasza, mely során a primerek a DNS-hez kötődnek

CHD-1 gén: a Chromodomain-Helicase DNS-kötő 1 fehérjét kódoló gén

DTT: 1,4-ditio-treitol

HWE: Hardy-Weinberg egyensúly

Lókusz: adott gén vagy DNS-szekvencia helye a kromoszómán

Mikroszatellita: egyedi azonosításra alkalmas genetikai marker, néhány (2-6) bázispárnyi DNS-szakasz ismétlődése

Multiplex PCR: több, különböző DNS-szakasz egyszerre történő felszaporítása több primerpár segítségével

NND: Nearest Neighbour Distance, a legközelebbi szomszédtól való távolság

PCR: Polymerase Chain Reaction, polimeráz-láncreakció

PI: Probability of Identity, annak a valószínűsége, hogy a vizsgálati populációból véletlenszerűen kiválasztott két egyed genotípusa megegyezik

PI_{sib}: PI abban az esetben, ha a populációban testvérek is találhatók

Primer: rövid, egyszálú, lánckezdő DNS-szakasz, PCR során használják

Propagulum: terjedésre szolgáló képlet, pl. mag

PVA: Population Viability Analysis, populáció-életképességi analízis

SD: standard deviation, szórás

2. Bevezetés

2.1. A diszperzió jelensége és jelentősége

Az egyedek vagy propagulum olyan mozgását, amely génáramlást eredményezhet, diszperziónak nevezzük (Ronce, 2007). A jelenség evolúciós és ökológiai szempontból is igen fontos, ugyanis hatással van az egyedek fitneszére, a populációk genetikai struktúrájára, dinamikájára és stabilitására (McCaslin et al., 2020, Serrano et al., 2021). A diszperzió vizsgálata az alapvető ökológiai ismeretek gyarapítása mellett hatékony fajmegőrzési programok kialakítását is elősegítheti (Serrano, 2018).

Az állatvilágban széles körben megfigyelhető a diszperzió, annak ellenére, hogy akár jelentős hátránnyal is járhat az energia- és időráfordítás, a lehetőségek hiánya és a különböző veszélyforrások miatt az egyedek számára (Bonte et al., 2011). Fontos azonban megjegyezni, hogy nem csak maga a mozgás és a szaporodásra alkalmas hely keresése költséges. A folyamat során nagy lehet a ragadozóknak való kitettség, és a letelepedést a rezidens fajtársak territóriumvédő viselkedése is akadályozhatja, amennyiben egyáltalán sikerül megfelelő területet találni (Li & Kokko, 2019). A diszperzió azonban növelheti az utódok számát és túlélési esélyét azáltal, hogy hozzájárul a beltenyésztés elkerüléséhez (Allendorf et al., 2013), csökkentheti a rokonok közötti versengést, és lehetőséget nyújt a jobb minőségű élőhelyek megtalálására (Li & Kokko, 2019).

Diszperzió belül megkülönböztetjük a születési diszperziót (natal dispersal), amely a születési hely és az első szaporodás helyszíne közötti mozgást jelenti, valamint az egyes reprodukciós helyszínek között történő szaporodási diszperziót (breeding dispersal) (Ronce, 2007). Madarak esetében a születési diszperzió helyett a kelési diszperzió kifejezést használjuk. Ragadozó madaraknál a folyamat négy szakaszra bontható: a kirepülést követő függetlenedési időszak során a madár távozik kelési helyéről (1), majd hosszabb területkereső vándorlásba kezd (2), ezután több ideiglenes territóriumot is kialakíthat (3), mielőtt végleg letelepedne leendő fészkelőhelyére (4) (Serrano, 2018).

2.2. A diszperziót befolyásoló tényezők

Számos belső és külső tényező hatással lehet a diszperzióra. A belső tényezők közül igen fontos az ivar szerepe – a hím és nőstény egyedek gyakran eltérő távolságra keresnek párt a születési helyüktől, ezáltal csökkentve a beltenyésztés kockázatát (Trochet et al., 2016, Li & Kokko, 2019). Ez összefügg a párzási rendszerrel és az utódgondozással, illetve azzal, hogy melyik szülő felelős a territórium védelméért, ugyanis ennek a szülőnek fontosabb nagyobb

helyismerettel rendelkeznie, azaz érdemes lehet kevésbé eltávolodnia saját születési helyétől. Emlősök esetében, ahol anyai utódgondozás jellemző, inkább hím-eltolt diszperzió figyelhető meg, míg a fiókákat gyakran együtt nevelő, monogám madaraknál általában a tojók tesznek meg nagyobb távolságot, mivel náluk gyakran a hím felelős a territórium védelméért (Forero et al., 2002). A testméret és az étrend hatása szintén kimutatható, a nagyobb testtömegű és a ragadozó fajokra nagyobb diszperziós távolság jellemző (Sutherland et al., 2000). A belső tényezők közé tartozhat továbbá az egyedek kondíciója, hiszen a rosszabb állapotban lévő állatoknak nehezebb lehet nagy távokat megtenni (McCaslin et al., 2020).

A diszperzió mértékét befolyásoló külső tényezők között említendő az élőhely típusa (Kauffmann et al., 2004, McCaslin et al., 2020), valamint madarak esetében a hőmérséklet is, ugyanis a kedvező légáramlatok hozzájárulhatnak nagyobb távolságok megtételéhez (McCaslin et al., 2020). Számos fajnál megfigyelték továbbá a diszperzió pozitív vagy negatív denzitásfüggését (Matthysen, 2005). A madarak körében előbbi, azaz, hogy nagyobb denzitás esetén jellemzően nagyobb mértékű a diszperzió, gyakrabban fordul elő, ugyanis a növekvő denzitás fokozott versengést eredményez a forrásokért (Matthysen, 2005, McCaslin et al., 2020). Bizonyos esetekben azonban fordított trendet figyelhetünk meg (negatív denzitásfüggés), főleg regenerálódó populációknál (Serrano et al., 2021), mivel a fajtársak nagyobb abundanciája a szaporodásra alkalmas területeket is jelezheti (Ferrer et al., 2015).

Nem könnyű általános következtetéseket levonni a diszperzió működésével kapcsolatban, ugyanis vizsgálatakor nemcsak rengeteg potenciális befolyásoló tényezőt kell figyelembe venni, hanem ezek interakcióját is – az egyes fenotípusok másképp reagálhatnak a különböző környezeti hatásokra (Serrano et al., 2021), különösen az ivar tekintetében (Serrano, 2018). A táplálék elérhetősége például más mértékben hatott a gatyáskuvik (*Aegolius funereus*) hímekre és tojókra (Korpimäki, 1987), héjában (*Accipiter gentilis*) csak a hímek (Byholm et al., 2003), vörös vércsében (*Falco tinnunculus*) pedig csak a tojók diszperziójára volt szignifikáns hatással (Vasko et al., 2011). Megfigyelték továbbá, hogy a territórium védelméért nagyobb mértékben felelős ivar, azaz a hímek diszperziós távolságára kisebb hatással lehet a fajtársak jelenléte és az ebből következő versengés a forrásokért, Serrano és munkatársai vizsgálatában magas fajtárs abundancia mellett is a fehérkarmú vércse (*Falco neumannii*) tojók messzebbre diszpergáltak a hímeknél (Serrano et al., 2003). Ugyanezt figyelték meg barna kánya esetében (*Milvus migrans*), azzal kiegészítve, hogy a szaporodási siker nagyobb volt kisebb kelési diszperziójú hímeknél, míg a diszperzió távolsága a tojók szaporodási sikerét közvetlenül nem befolyásolta, azonban a nagyobb távolságot megtevő tojók tapasztaltabb hímekkel tudtak párosodni (Forero

et al., 2002). Serrano és munkatársai egy másik vizsgálatban pedig dögkeselyű (*Neophron percnopterus*) hímek diszperziós távolságában megnyilvánuló, nagyobb érzékenységet mutatták ki a szociális környezetre, azaz a fajtársak jelenlétére (Serrano et al., 2021). Összegezve tehát a két ivar fitnessét a kelési diszperzió eltérő szaporodási stratégiájuk fényében befolyásolhatja (Forero et al., 2002, Cadahía Lorenzo et al., 2009).

2.3. A parlagi sas

Rengeteg kutatás foglalkozik a ragadozó madarak ökológiájával, nemcsak népszerűségük miatt, hanem mert sokan közülük veszélyeztetettek, és zászlóshajó fajokként környezetük működéséről is információval szolgálhatnak (Serrano, 2018), a fajvédelmi programok keretei között pedig lehetőség nyílt a populációk átfogó vizsgálatára. Bár számos kutatás irányult már különböző ragadozó madarak diszperziójára (Miller és Smallwood, 1997, Nemeth és Morrison, 2002, González et al., 2006, Cadahía Lorenzo et al., 2009, Limiñana et al., 2012), a parlagi sas (*Aquila heliaca*) esetében a jelenséggel kapcsolatban még sok a megválaszolatlan kérdés.

A parlagi sas Eurázsia erdős sztyepp zónájában előforduló ragadozó madár (Horváth et al., 2011). Nagytermetű, testhossza 72-84 cm, szárnyfesztávolsága 180-215 cm (Meyburg és Kirwan, 2018). A parlagi sasoknál kismértékű ivari dimorfizmus figyelhető meg. A tojók kissé testesebbek, 3,2-4,5 kg-ot is nyomhatnak, míg a hímek átlagos testtömege 2,5-2,7 kg.

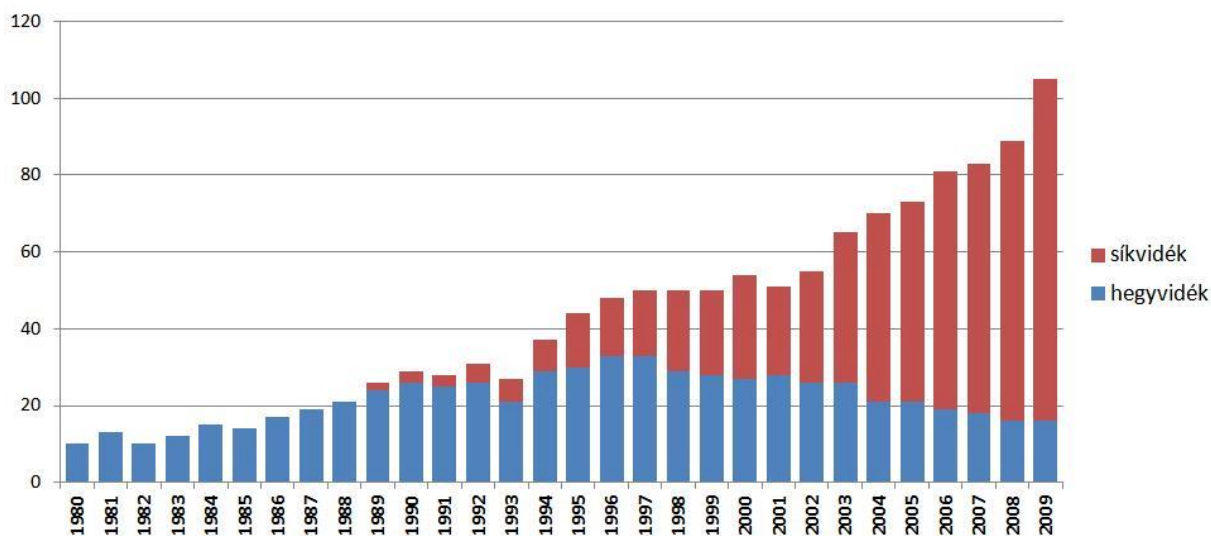
Szociálisan és genetikailag is monogámnak tekinthetők, és párjukon túl territóriumukhoz is nagyfokú hűséget mutatnak (Rudnick et al., 2005). Egy parlagi sas pár egy territóriumot akár több évtizedig is használhat, melyen belül több váltófészket is építhetnek, általában magas fák csúcsára, zavaró tényezőktől minél távolabb (Meyburg és Kirwan, 2018). Márciusban lerakják általában kettő, időnként három tojásukat, melyeket a tojó költ ki. A fiókák kikelése után védelmezésük szintén a tojó feladata, míg párja felel a territórium védelméért és az élelem kereséséért. Később mindkét szülő táplálja az utódokat, elsősorban mezei nyúllal, fácánnal és egyéb madarakkal (Horváth et al., 2018). A fiókák csak ősszel repülnek ki véglegesen, majd 3-5 év kóborlás után raknak először tojást (MME 2021).

A parlagi sasnak Oroszországon és Kazahsztánon kívüli jelentős populációja a Kárpát-medencében és környékén található, költ Magyarországon, Ausztriában, Romániában, Szlovákiában, Bulgáriában és Macedóniában is (Horváth et al., 2011). Az európai parlagi sasok több, mint 60%-a hazánkban fészkel (Vili et al., 2013). Magyarországon fokozottan védett faj, a Természetvédelmi Világszövetség (IUCN) vörös listáján a sebezhető kategóriába tartozik

(BirdLife International, 2019). Jelenlegi felnőtt állománya 2500 – 10 000 egyedre becsült, ez azonban hanyatló trendet mutat.

Vadászat, mérgezések és mezőgazdasági tevékenységek következtében a hazai állomány az 1970-es évek végére – 1980-as évek elejére a faj hazai történelmének minimumára, 10-15 költőpárra csökkent, melyek az Északi-középhegység erdeibe húzódtak vissza (Haraszthy et al., 1996). A populáció mérete ezután növekedésnek indult a Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület monitorozási és védelmi programjának köszönhetően, és az 1990-es években már számos korábbi síkvidéki költőterületet újra benépesítettek a parlagi sasok (Bagyura et al., 2002). A 2021-es saszemle során már 550-578 egyedet sikerült megfigyelni Magyarországon (mme.hu), a hazai állomány jelenleg 330 költőpárra becsülhető. A kedvező populációs trend és a növekvő produktivitás (Horváth et al., 2011) ellenére komoly fenyegetést jelentenek számukra az illegális mérgezések, a távvezetékeknek történő ütközés miatti áramütések (Deák et al., 2020), valamint a vadászat, a gázolások, az élőhelyek elvesztése és az emberi zavarás.

Annak ellenére, hogy a populáció kis egyedszámról indult gyors növekedésnek, az ilyen esetben várható magas beltenyésztettséget ezidáig nem mutattak ki. Ez amellet, hogy a populációba kívülről is érkehetnek egyedek, valamilyen rokonelkerülési mechanizmus, például ivarfüggő kelési diszperzió meglétére engedhet következtetni.



1. ábra. Kárpát-medencei parlagi sas költőpárok száma, illetve fészkeik elhelyezkedése az 1980-2009-es időszakban (Horváth et al. 2011 alapján).

A kárpát-medencei parlagi sasok kelési diszperziójával korábban Papp Rita (2013) foglalkozott a szakdolgozatában, és kis mintás kutatással vizsgálta a territóriumok korának, helyének,

helyzetének, az egyedek rokonsági fokának és ivarának kelési diszperzióra gyakorolt hatását. Ez alapján a kelési és a fészkelőhely közötti távolság a tojók esetében nagyobbnak bizonyult, és a fiókakori territórium helyzetének befolyása is valószínűsíthető, azonban a jelenséget érdemes tovább vizsgálni, lehetőség szerint nagyobb mintaelemszámmal.

3. Célkitűzések

Kutatásunkban azt vizsgáltuk, milyen hatással van a kárpát-medencei parlagi sasok kelési diszperziójára az ivar és a territórium helyzete. Célunk volt a 2011-2016 között kikelt fiókák kelési diszperziós távolságát megállapítani, melyet fióka- és költőkorban gyűjtött tollminták genotípusának meghatározásán alapuló egyedi azonosítással végeztünk, azon fészekkoordináták ismeretében, ahonnan a minták származtak.

A populáció diszperziós mintázatának alaposabb megismerése érdekében vizsgálni terveztük a diszperzió távolságának kapcsolatát az ivarral, a territórium sík- vagy hegyvidéki elhelyezkedésével, valamint a kelési és a költési hely körüli lokális denzitással.

4. Anyag és módszerek

4.1. Mintavétel

A kárpát-medencei parlagi sas populációból származó egyedeket vizsgáltunk, melyek egyedi azonosítását fióka-és felnőttkorban gyűjtött tollakból végeztük el. Ezeket a hazai állomány monitorozását végző Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület Parlagisas-védelmi Munkacsoportja és az érintett nemzeti parkok munkatársai gyűjtötték, 2011 és 2016 között az illegális mérgezések visszaszorítására irányuló HELICON Life (LIFE10NAT/HU/019), illetve 2017 és 2019 között a parlagi sasok ember okozta elhullása ellen küzdő PannonEagle Life (LIFE15 NAT/HU000902) projekt keretei között. Mivel a fiatal parlagi sasok első költése nagyjából három-négy éves korukra tehető, a fiókák közül a 2011 és 2016 között kelt egyedek mintáit hasonlítottuk össze azon költő madarak genotípusával, amelyeket az először 2014-ben vagy az ezt követő években azonosítottunk

A mintavétel fiókák esetében tokos hónalj tollak tépését jelentette, mely a vizsgálati évek júniusában, az éves gyűrűzés során történt. A tollak alkoholos fiolákba kerültek, majd egyedi azonosítót rendeltek hozzájuk, és a mintákat a preparálásig -20 °C-os hűtőben tároltuk. Rögzítésre kerültek továbbá a fiókák fészkeinek földrajzi koordinátái is.

Nagytestű ragadozómadarak röpképes egyedeit igen nehéz befogni, ezért a költő madarak esetében egy nem-invazív mintavételi módszert, vedlett tollak gyűjtését alkalmazták. Ennek során nehézséget jelenthet annak megállapítása, hogy a rezidens vagy a territóriumon kóborló egyedektől származik a minta, ám mivel a költőpárok a fiókák kirepüléséig fokozottan territoriális viselkedést mutatnak, ezen időszakban a fészkek és a kiülőfák alól összeszedett tollak nagy valószínűséggel hozzájuk tartoznak (Jakab, 2017). Kizárható továbbá az is, hogy a minták korábbi évekből maradtak hátra, mivel a vedlési időszakot követő meleg és párás időben a tollak erőteljesen degradálódnak (Vili et al., 2013). Egy territóriumon belül a pár mindkét tagjának azonosítása céljából több toll gyűjtése is történt. Ez amiatt különösen fontos, hogy a hímek kevesebbet tartózkodnak a fészkek közelében, így tollaik megtalálásának valószínűsége kisebb (Margalida et al., 2007, Horváth M. saját megfigyelései). A minták 90%-ban a fészkek 100 méteres körzetéből, 10%-ban pedig a kiülőfák alól származtak, és a begyűjtést követően zárható zacskóba kerültek, majd preparálásukig száraz, sötét helyen tároltuk őket. A fészkek földrajzi koordinátáin kívül a költő madarak tollazat alapján becsült kora is fel lett jegyezve, amennyiben megfigyelték a költő madarakat is. Legtöbb esetben a becsült kor a fészkek rendszeres ellenőrzését végző, helyi természetvédelmi őr jóvoltából állt rendelkezésünkre.

4.2. A tollak preparálása, DNS-kivonás

A fiókák tollaiból steril szikepengével kipreparáltuk a csévében található véreret és kötőszövetet, majd 20 percig hagytuk száradni, hogy a tároláshoz használt alkohol elpárologhasson. A költő madarak tollaiból azok etanolos fertőtlenítését követően a felső köldök részén található beszáradt vérrögöt vágtuk ki (Horváth et al., 2005), melyben elegendő mennyiségű DNS található a madarak sejtmagot tartalmazó vörösvérsejtjei miatt. A DNS-izolálásig a kivágott darabokat -20 °C-on tároltuk.

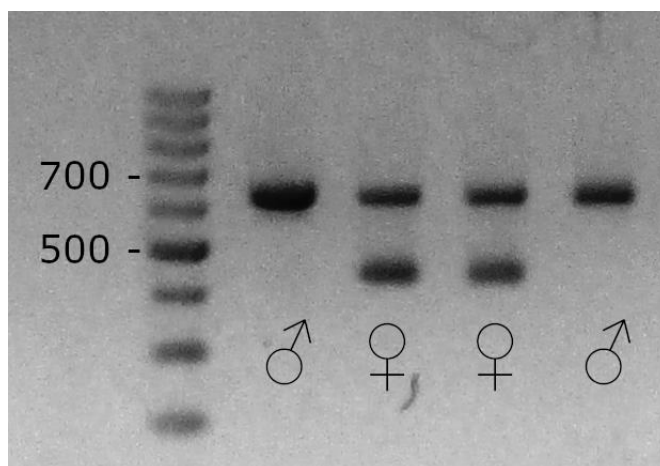
Az izolálást kereskedelmi DNS-kivonó kitek (Genomic Tissue Kit – Geneaid Biotech Ltd. NucleoSpin Tissue – Macherey-Nagel GmbH & Co., E.Z.N.A. Tissue – Omega Bio-tek Inc.) segítségével végeztük, a gyártó protokollját követve. A tollakhoz DTT-t (1,4-ditio-treitol) adtunk a keratin gyorsabb emésztése végett (Weigmann, 1968), az izolátumok tárolása pedig -20 °C-on történt.

4.3. Molekuláris ivarhatározás

A madaraknál a hímek képviselik a homogametikus ivart ZZ kromoszómáikkal, míg a ZW ivari kromoszómákkal rendelkező tojók heterogametikusak. Bizonyos génszakaszok hossza a két kromoszómán eltér, ami lehetővé teszi a molekuláris ivarhatározást. Ilyen polimorfizmust mutat például a CHD-1 gén is. Az általunk használt primerek, az F2250/R2787 (Fridolfsson és Ellergen, 1999) és az i16F/i16R (Suh et al., 2011) ezen génnek a W kromoszómán 450, a Z-n primertől függően 600-700 bázispár hosszú szakaszát amplifikálják a PCR-reakciók során.

A PCR-hez 1 µl forward és 1 µl reverz primerből, 0,065 µl DreamTaq polimerázból (Fermentas), 1,7 µl 10X DreamTaq Green pufferből (Fermentas), 0,65 µl 25 mM MgCl₂-ből (Thermo Scientific), 0,65 µl 2 mM dNTP mixből (Thermo Scientific), 8 µl nukleázmentes vízből és 4 µl nagyjából 50 ng/µl koncentrációjú emésztett DNS-ből álló reakcióelegyet használtunk. Az amplifikálás úgynevezett „Touchdown” PCR-rel történt, mellyel nagy szenzitivitás és specificitás érhető el (Korbie és Mattrick, 2008). A folyamat során az anelláció kezdeti hőmérséklete 60 °C volt, ami magasabb a primer szekvenciájának olvadási hőmérsékleténél, így az aspecifikus termékek képződése elhanyagolható. Ezután ciklusonkénti 1 °C-os csökkenéssel értük el az ideális hőmérsékletet, melyen már sokkal hatékonyabb az amplifikáció. Ez a 2250/2787-es primer esetében 50 °C, az i16-nál 52 °C volt. Ezzel a módszerrel tehát azt tudtuk biztosítani, hogy kezdetben lehetőleg csak a specifikus termékek szaporodjanak fel, és később ezek olyan mértékben sokszorozódnak, hogy az esetleges aspecifikus termékek ne zavarják az eredmények értékelését.

A reakció elvégzése után a felszaporított PCR-termékek agaróz gélelektroforézisével határoztuk meg az ivart. Ennek során 100 V feszültség mellett, 45 percen át futtatuk a termékeket az Eco Safe festékkel (Pacific Image Electronics Co., Ltd) megfestett, 2%-os agaróz gélen, majd a gél UV fénnel világítottuk meg, ezzel láthatóvá téve a DNS-szakaszokat. A megvilágított PCR-termékek közül a homogametikus (ZZ) ivar, azaz a hímek esetében csak hosszú, míg a heterogametikus (ZW) tojóknál kétféle, hosszabb és rövidebb szakaszokat láthattunk (2. ábra).



2. ábra. A molekuláris ivarhatározás eredménye gélen.

4.4. Egyedi azonosítás

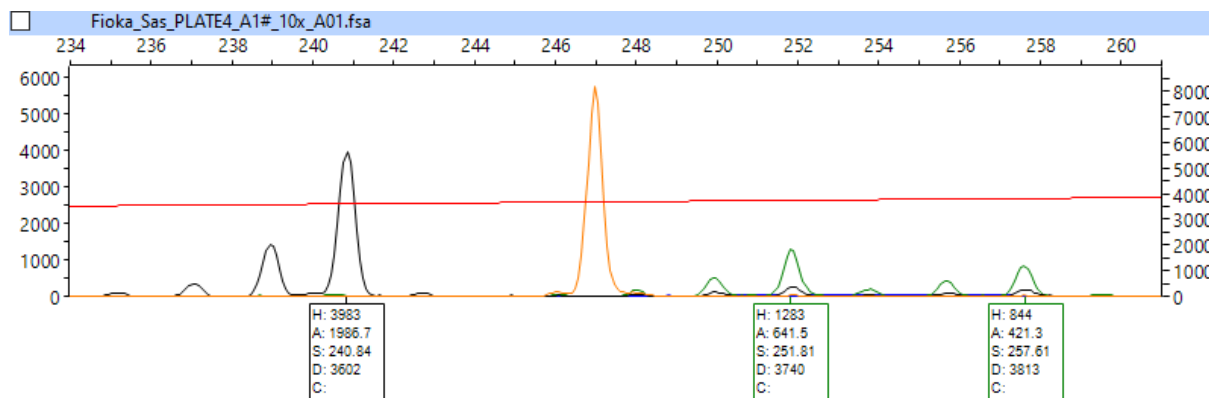
Egyes nem kódoló régiók, így a mikroszatellita lókuszok polimorfizmusa lehetőséget nyújt az egyedek genetikai azonosítására. Ez több különböző ilyen variábilis régiót vizsgálva, az egyes egyedekre jellemző allélkombinációk alapján történik. A vizsgálatunkban kilenc mikroszatellita lókusz alapján végeztük az azonosítást. Ezek közül dinukleotid ismétlődésű az ibériai sasra (*Aquila adalberti*) leírt Aa02, Aa35, Aa36, Aa39 és Aa43 (Martínez-Cruz et al., 2002), valamint a rétisasra (*Haliaeetus albicilla*) leírt Hal04 és Hal10 (Hailer et al., 2005), míg a parlagi sasra leírt IEAAAG09 és IEAAAG11 (Busch et al., 2005) tetranukleotid lókuszok.

Az Aa02-es lókusz kivételével multiplex PCR-eket alkalmaztunk, azaz az Aa35-Aa43, Aa36-Aa39, G09-G11, Hal04-Hal10 lókuszokat páronként amplifikáltuk. Reakcióelegyünk a következőket tartalmazta: 1 µl forward és 1 µl reverz primer, 0,065 µl DreamTaq polimeráz (Fermentas), 1,7 µl 10X DreamTaq Green puffer (Fermentas), 0,65 µl 25 mM MgCl₂ (Thermo Scientific), 0,65 µl 2 mM dNTP mix (Thermo Scientific), 8 µl nukleázmentes víz és 4 µl nagyjából 50 ng/µl koncentrációjú DNS-oldat. A Hal04-Hal10 lókuszpár esetén „Touchdown” szakasz nélkül végeztünk PCR-t, a többi lókusznál a program tartalmazta ezt a szakaszt is. A

„Touchdown” ciklusok során az anelláció kezdeti hőmérséklete 66°C volt, mely az Aa02 lókuszt, az Aa35-Aa43, Aa36-Aa39 párok esetén 50 °C-ig, a G04-G11 lókuszpár esetében 60 °C-ig csökkent, ciklusonként 1 °C-kal.

Az amplifikálás sikerességét agaróz gélelektroforézis segítségével ellenőriztük, mintánként és lókuszonként legalább egy futtatást végezve. Eco Safe festékkel (Pacific Image Electronics Co., Ltd) megfestett, 2%-os agaróz gélen, 30 percen át futtatuk a termékeket 100 V feszültség mellett. A gél UV-fénnyel világítottuk meg, és fényképet készítettünk róla, aminek segítségével meg tudtuk állapítani, ha egy minta nem tartalmazott megfelelő mennyiségű DNS-t, vagy ha egy PCR nagymértékű párolgás vagy egyéb hiba miatt nem sikerült megfelelően. Ezekben az esetekben az UV-fénnyel történő megvilágítás során az adott lókuszra jellemző allélok nem voltak megfigyelhetők, a PCR-t ilyenkor megismételtük.

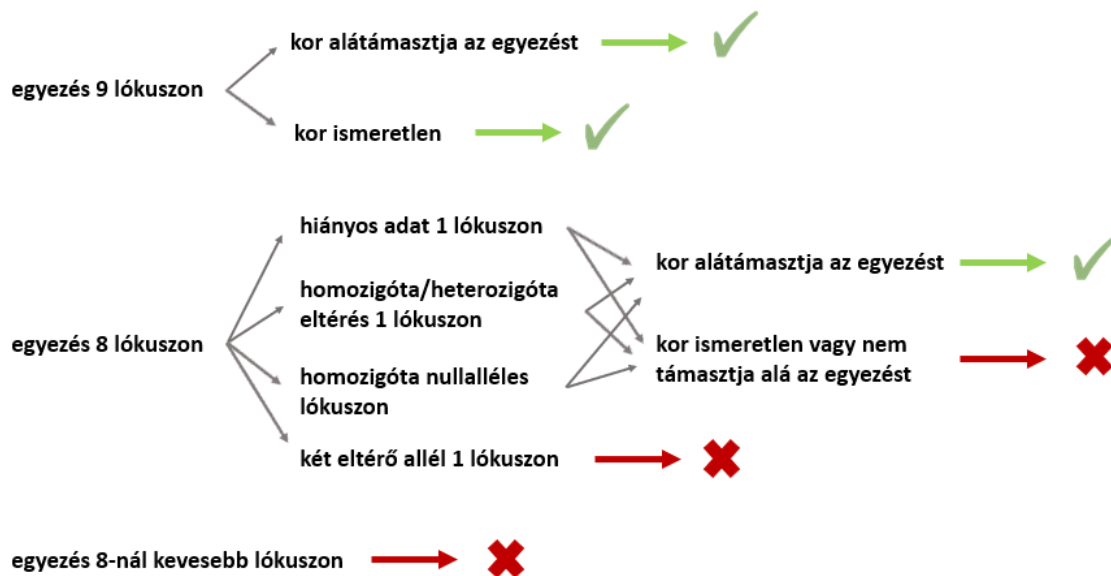
Az allélok méretének meghatározására szolgáló kapilláris-gélelektroforézist ABI 3130 típusú szekvenátor segítségével végezték a Magyar Természettudományi Múzeum Molekuláris Taxonómiai Laboratóriumának, valamint a Biomi Kft. DNS Laboratóriumának munkatársai. Peak Scanner 1.0 (Applied Biosystems) szoftver segítségével olvastuk le az allélok hosszát, melyeket a szoftver adott hosszúságú, jelölt markerekhez (GS500LIZ) viszonyítva számolt ki (3. ábra). A genotipizálási hibák kizárására, illetve az esetleges null-allélok jelenlétének ellenőrzésére a Micro-Checker 2.2.3. (Van Oosterhout et al., 2004) programot használtuk.



3. ábra. Allélhosszak leolvasása Peak Scannerben.

A leolvasásokat Excelben rögzítettük. A fiókák és költő egyedek DNS-profiljának összevetését, valamint a markerkészlet további tulajdonságainak vizsgálatát a GenAlEx 6.502 (Peakall és Smouse, 2012) Excel makró segítségével végeztük. A program a genotípusokat összevetve megállapítja az egyezést a lókuszokon, így az azonos allélkészlettel rendelkező fiókák és költő

madarak beazonosíthatóak. Az egyezést legalább nyolc allélpár azonossága és a terepi adatok alapján fogadtuk el, a 4. ábrán láthatóak szerint.



4. ábra. Az egyezés elfogadásának feltételei.

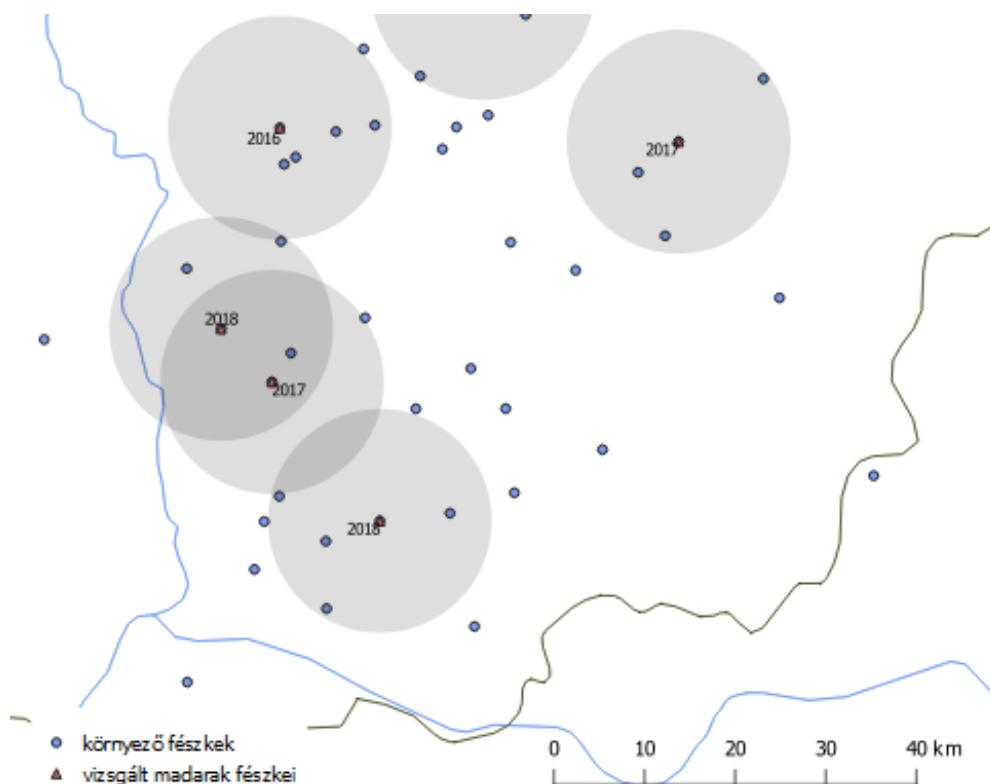
A markerek erejének tesztelése végett GenAlEx-szel kiszámoltuk a Probability of Identity (PI) értékét, azaz annak valószínűségét, hogy a mintából véletlenszerűen kiválasztott két egyed többlókuszos genotípusa megegyezik. Mivel a vizsgálati populációban azonos szülőktől származó egyedek is előfordultak, a testvérek jelenlétét figyelembe vevő változatot használtuk (PI_{sib}). Kiszámoltuk továbbá, fennáll-e a Hardy-Weinberg egyensúly (HWE) az egyes lókuszokra, azaz egyezik-e két allél gyakorisága azzal, ami egyensúlyi populációban lenne megfigyelhető. Az ettől való eltérések segítségével detektálhatóak az allélkiesések.

4.5. Diszperziós távolságok és denzitás számolása, a territórium elhelyezkedésének meghatározása

A kelési és költési hely közötti geodézikus távolságot QGIS 3.20.3 szoftver (QGIS Development Team, 2021) és a Shape Tools 3.4.1 modul (Hamilton 2021) segítségével számoltuk ki. A fészkek koordinátái EOVS (Egységes Országos Vetület) vagy WGS84 (World Geodetic System) szerint álltak rendelkezésünkre.

A lokális denzitást, azaz egy adott költőhely körüli fészeksűrűséget az alábbi módon határoztuk meg. QGIS programmal minden fészkekre kiszámoltuk a legközelebbi szomszédos költőpártól való távolságot (Nearest Neighbour Distance, NND), majd megkerestük az adott évben ismert fészkekhez tartozó NND-k mediánját. A vizsgált fészkek körül ennek az értéknek a

kétszeresével mint sugárral húzott körben megszámoltuk a fészkeket, azt feltételezve, hogy ekkora területen belül elhelyezkedő fészkek már hatással lehet a vizsgált egyedre, ugyanakkor még valószínűleg érvényesül a lokális denzitás hatása.



5. ábra. A lokális denzitás leképezése, a költő madarak fészkei és a szomszédos fészkek ábrázolásával. Piros pontok: a vizsgált költő madarak fészkei. Kék pontok: környező fészkek.

A territórium elhelyezkedését szintén QGIS segítségével vizsgáltuk. Ennek során a fészkekkoordinátákat domborzati térképre helyezve állapítottuk meg, hogy a fészkek sík- vagy hegyvidéki területen található.

4.6. A diszperziót befolyásoló tényezők vizsgálata

A két ivar diszperziós távolságának összehasonlítását Brunner-Munzel próbával végeztük, mely a változók eloszlásának különbözősége esetén is alkalmazható rangpróba. A teszt nullhipotézise a sztochasztikus homogenitás megléte. Ez azt jelenti, hogy az egyik csoportból (X_j) az adatok bármelyikét kiválasztva ez az adat ugyanolyan valószínűséggel lesz egy, a teljes populációból (X) véletlenszerűen kiválasztott adatnál kisebb, mint nagyobb, azaz $P_j = 0,5$ az alábbi képlet alapján:

$$P_j = P(X_j > X) + 0,5 * P(X_j = X)$$

Mivel esetünkben nem teljesült az a feltétel, hogy az összehasonlítandó csoportok elemszáma legyen tíznél nagyobb, a próba permutációs változatát alkalmaztuk. Az adatok függetlensége érdekében testvérpárok esetében az egyik egyedet random kiválasztás alapján elhagytuk.

A diszperziós távolság és a kelési, valamint költési denzitás közötti összefüggést korrelációval (Kendall-féle tau) vizsgáltuk. Annak vizsgálatára, hogy az egyes egyedek a kelési és költési helyén szignifikánsan különbözött-e a denzitás előjelpróbát alkalmaztunk.

Az elemzéseket az R 4.0.2 szoftverrel végeztük (R Core Team, 2020).

5. Eredmények

5.1. Mintaelemszám és a markerkészlet tulajdonságai

A 2011 és 2016 közötti időszakból 537 fióka tollmintáit tudtuk vizsgálni, melyből 266 hím, 271 tojó volt. A 2014 és 2019 közötti időszakból 68 hím, 155 tojó, összesen 223 költő madár mintáit dolgoztuk fel. Fiókák esetében az ivararány 1:1 volt, a költő hímek tojókhoz viszonyított aránya azonban csak 1:2,3.

460 fióka, közöttük 222 hím és 238 tojó esetében tudtuk megállapítani az allélhosszakat legalább nyolc lókuszra, költő madaraknál pedig 209 egyed, 62 hím és 147 tojó esetében. Egyezési feltételeink alapján 30 egyedet, 8 hímét és 22 tojót azonosítottunk be fióka és költő korában is. A statisztikai elemzéseket csak független adatokat, azaz testvérpárokat nem tartalmazó adatsorral végeztük el, melyben így 8 hím és 18 tojó szerepelt.

A markerkészlet mikroszatellita lókuszainak allélszámait, várt és megfigyelt heterozigócia fokait az 1. táblázat foglalja össze. A PI_{sib} -érték $5,8 \cdot 10^{-4}$ volt. A Hardy-Weinberg egyensúlytól való szignifikáns eltérést az Aa36 lókusz esetében figyeltünk meg ($p < 0,01$), amit a Micro-Checker eredményeivel összevetve valószínűleg a nullallélek jelenléte magyaráz.

1. táblázat. A vizsgált mikroszatellita lókuszok allélszámait (Na), várt (He) és megfigyelt (Ho) heterozigócia fokait.

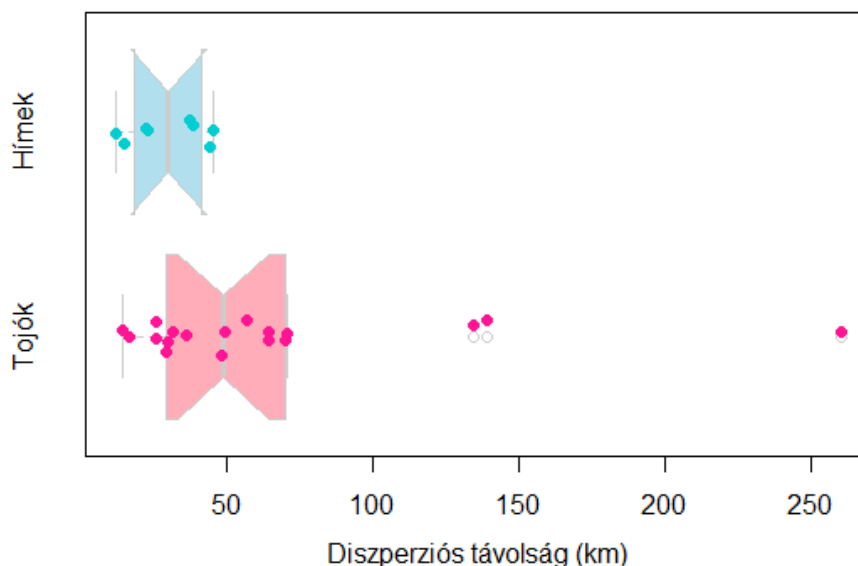
lókus	Aa02	Aa35	Aa36	Aa39	Aa43	G09	G11	Hal04	Hall0
Na	6	9	6	7	8	4	5	5	5
He	0,760	0,818	0,763	0,758	0,517	0,572	0,703	0,720	0,601
Ho	0,823	0,798	0,667	0,805	0,493	0,555	0,708	0,758	0,623

5.2. A két ivar diszperziós távolsága

A diszperziós távolság mediánja hímek esetében 30,36 km-nek (SD 13,27 km), tojóknál 46,50 km-nek (SD 55,90 km) adódott a teljes adatsort nézve ($N = 30$). A testvérpárok egyik tagját nem tartalmazó adatsorból számolva a medián hímeknél változatlanul 30,36 km (SD 13,27 km), tojóknál 49,05 km (SD 60,09 km) volt ($N = 26$) (2. táblázat, 6. ábra). A továbbiakban szintén ebből az adatsorból számolt eredmények szerepelnek a dolgozatban.

2. táblázat. A diszperziós távolságok leíró statisztikái a két ivarban (km).

	Minimum	Alsó kvartilis	Medián	Átlag	Felső kvartilis	Maximum	Szórás
Hímek	12,02	20,72	30,36	29,90	40,33	45,55	13,27
Tojók	14,83	29,73	49,05	65,13	69,04	260,34	60,09



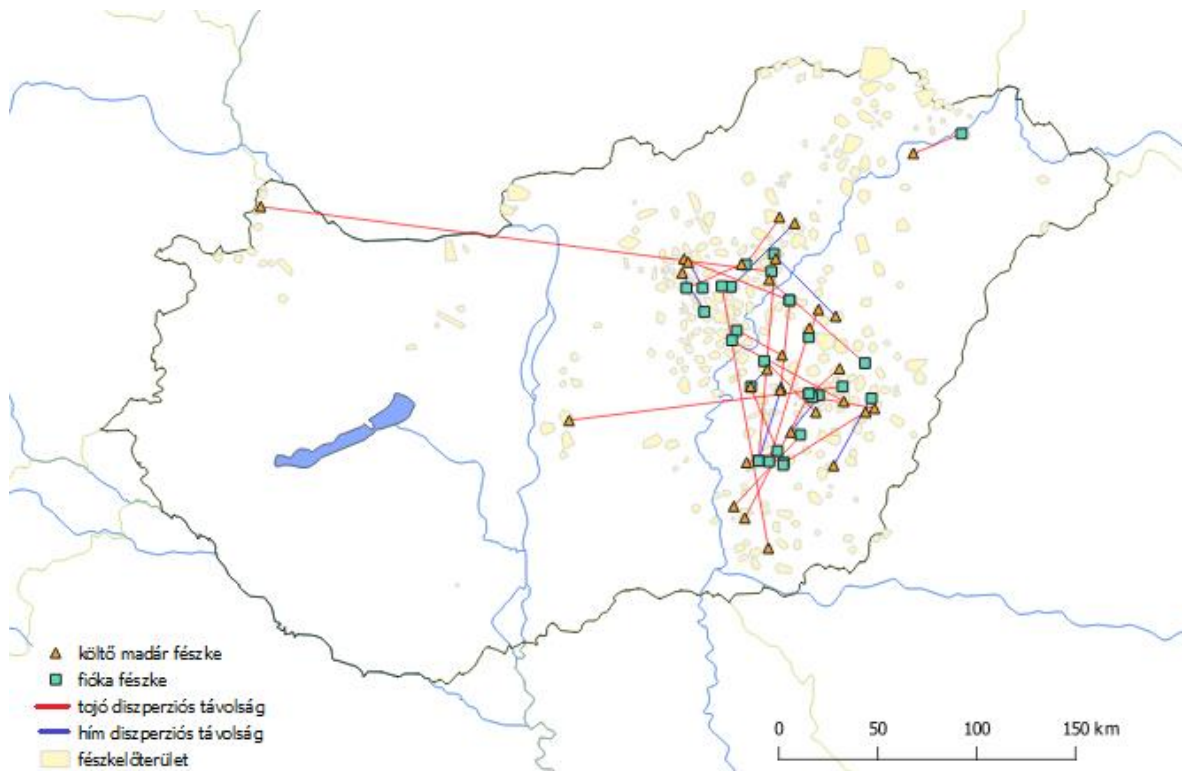
6. ábra. A hímek és a tojók diszperziós távolságának szóródási és boxplot ábrája.

Tojók esetében a diszperziós távolságok nagyobb szórását figyelhetjük meg, és jellemzőbbek a nagyobb értékek. Az adatok normális eloszlása a boxplot ábrák alapján erősen vitatható.

A Brunner-Munzel teszt permutációs változata alapján szignifikáns különbség mutatkozott a két ivar diszperziós távolsága között ($P_j = 0,743$, $p = 0,0409$), az eredményt azonban befolyásolta, hogy a testvérpárok melyik tagja került be véletlenszerű választással az elemzésbe.

5.3. A territórium elhelyezkedése

A territórium elhelyezkedésének befolyásoló hatását nem tudtuk érdemben vizsgálni, ugyanis mind a 30 fióka síkvidéken található fészkekben kelt ki. A költő madarak egy kivétellel szintén mind síkvidéken fészkeltek (7. ábra).



7. ábra. A vizsgált egyedek fészkelőhelyének és diszperziós távolságának ábrázolása. Világoskék négyzet: fióka fészke. Narancssárga háromszög: költő madár fészke. Vonalak: diszperziós távolság (sötétkék: hím, piros: tojó). Sárga foltok: ismert magyarországi parlagi sas fészkelőterületek (Forrás: Dr. Horváth Márton).

5.4. A denzitás és a diszperziós távolság kapcsolata

A lokális denzitás megállapításához használt NND a 3. táblázatban összefoglaltak szerint alakult az évek során. A 2011-2012-es évek adathiány miatt nem kerültek be az elemzésekbe.

3. táblázat. A legközelebbi szomszédok távolságának (NND) mediánja évenként.

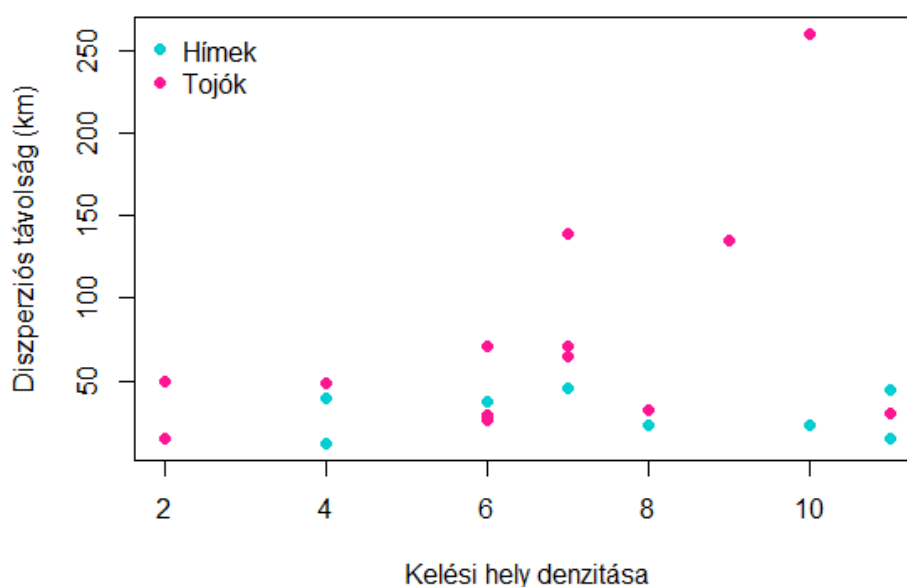
Év	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
NND mediánja (km)	5796,48	6173,54	6132,57	5609,99	5493,27	5353,49	5499,55

A fészek körüli lokális denzitást adathiány miatt 21 fióka esetében tudtuk csak megállapítani, míg költő madarak esetében mind a 26 vizsgált egyednél. A kelési és költési hely denzitásának leíró statisztikáit a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat. A fiókák és a költő madarak fészkei körül megfigyelt lokális denzitás leíró statisztikái.

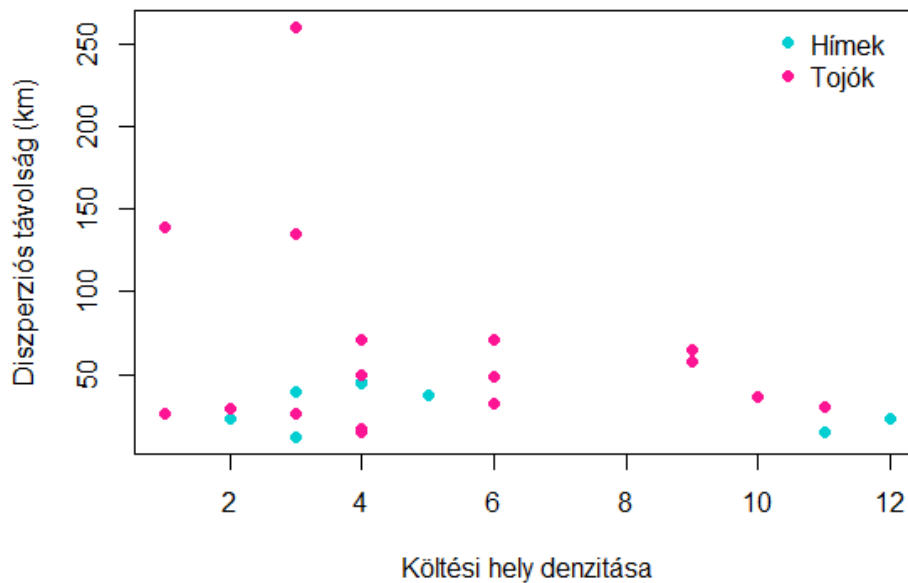
		Minimum	Alsó kvartilis	Medián	Átlag	Felső kvartilis	Maximum	Szórás
Fiókák	Hímek	4,00	5,50	7,50	7,63	10,25	11,00	2,88
	Tojók	2,00	6,00	7,00	6,54	8,00	11,00	2,73
Költő madarak	Hímek	2,00	3,00	4,00	5,50	6,50	1,00	3,82
	Tojók	1,00	3,00	4,00	5,28	8,25	11,00	3,14

A diszperziós távolság értékeit ábrázolva a variancia növekedésére következtethetünk a kelési hely denzitásának növekedésével tojók esetében. A hímek esetén kisebb és nagyobb denzitások mellett is hasonló diszperziós távolságot figyelhetünk meg (8. ábra).



8. ábra. Diszperziós távolság a kelési hely denzitásának függvényében.

A diszperziós távolság és a kelési hely denzitása közötti összefüggés megismeréséhez korrelációt (Kendall-féle tau) számoltunk. A korrelációs koefficiens értéke együttesen a két ivarra 0,045, csak a tojókra 0,336, csak a hímekre pedig -0,074 volt, de egyik összefüggés sem volt szignifikáns.



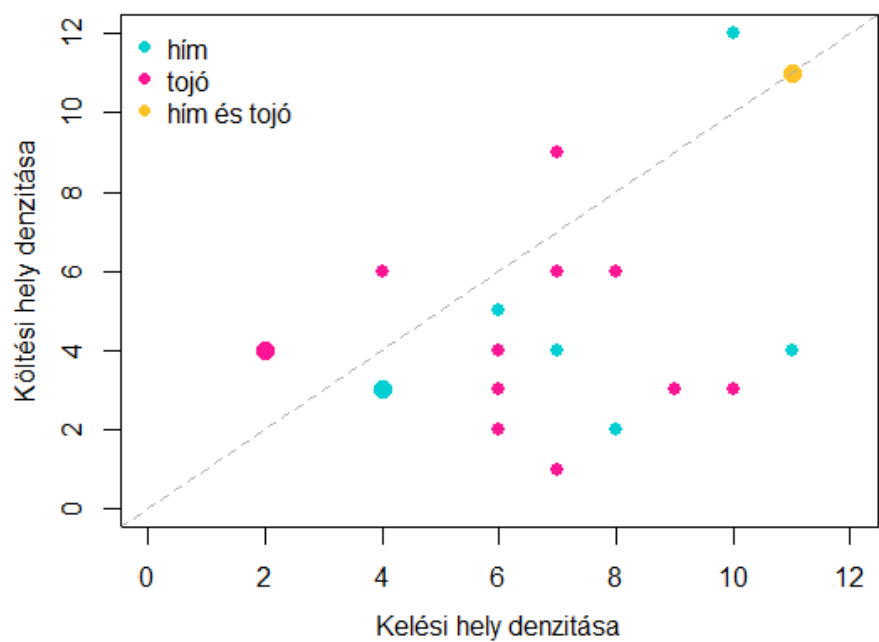
9. ábra. Diszperziós távolság a költési hely denzitásának függvényében.

A költőhely denzitásának hatását vizsgálva megfigyelhető, hogy a tojók diszperziós távolságának nagyobb értékei és varianciája inkább az alacsonyabb denzitásnál jellemzőek, míg a hímek diszperziós távolsága itt sem mutat nagy eltérést a különböző denzitások mellett (9. ábra).

Az összefüggések vizsgálatához itt is korrelációt használtunk. A korrelációs koefficiens értéke együttesen a két ivarra $-0,0487$, csak a tojókra $-0,0759$, csak a hímekre pedig $-0,0741$ volt, de egyik összefüggés sem volt szignifikáns.

5.5. A kelési és költési hely denzitásának viszonya

A legtöbb egyed esetében a kelési hely körüli fészeksűrűség nagyobb volt a költőhely körüli fészeksűrűségnél. 14 esetben a madarak kisebb denzitású élőhelyen költöttek, mint ahol kikeltek, és csak öt esetben volt igaz ennek a fordítottja, de ez a különbség nem volt szignifikáns (előjelpróba, $p = 0,06$). A hímek és a tojók között jelentős különbségek nem figyelhetők meg (10. ábra).



10. ábra. Diszperziós távolság a kelési hely denzitásának függvényében. Két egymásra eső adatpont esetén nagyobb jelölőpontot használtunk. A szaggatott vonalra eső egyedek esetében a kelési és költési hely denzitása megegyezett.

6. Diskusszió

Annak ellenére, hogy kutatásunk során 537 parlagi sas fióka és 223 költő madár mintáit dolgoztuk fel, igen kevés, csak 30 egyed esetében sikerült a megmintázott fiókákat költő korban megtalálni a vizsgált időszak alatt. Ezt részben magyarázhatják szigorú egyezési feltételeink, miszerint az egyedi azonosítás nagyfokú megbízhatósága érdekében a kilenc vizsgált lókuszból legfeljebb egynél engedtünk meg homozigóta/heterozigóta eltérést vagy hiányos adatot (pl. az egyik egyednél nem sikerült megállapítani az allélhosszokat egy lókuszon), amit okozhatott genotipizálási hiba.

Az alacsony beazonosítási vagy visszalátási siker hátterében azonban más jelenségek is állhatnak. Kirepülés után a parlagi sasok több évet is kóborolva töltenek a fészkekrakásig, ez idő alatt mortalitásuk magas lehet (Stoychev et al., 2014). Elképzelhető tehát, hogy az egyedek alacsony visszalátási arányát a fiatal madarak esetleges nagymértékű pusztulása vagy emigrációja okozza.

Mivel a költő hímek kevesebb időt töltenek a fészek és a kiülőfák környékén (Meyburg és Kirwan, 2018), mint a tojók, tollaik megtalálási valószínűsége a fészkek környékén kisebb, ami magyarázhatja azt, hogy az azonosított költő egyedek között is kisebb a hím egyedek aránya. Valószínűleg ez a jelenség állhat annak hátterében, hogy a visszalátott fiókák között is kisebb a hímek aránya, és kevésbé valószínű, hogy a hímek nagyobb arányban hagyják el a populációt a fiatalkori vándorlás időszakában. Utóbbiról azonban egyelőre nem áll rendelkezésre megfelelő információ, így természetesen ez a lehetőség sem zárható ki.

A kis mintaelemszám nehézségeket okozott az elemzések során, ugyanis így a diszperziós távolság eloszlása nehezen volt vizsgálható, valamint számos statisztikai modell alkalmazási feltétele a nagyobb mintaelemszám. Ennek fényében adatainkból egyelőre nem tudtunk egyértelmű következtetéseket levonni.

A két ivar diszperziós mintázata különbözött, de az eltérés szignifikanciája függött attól, hogy a testvérek közül melyiket hagytuk ki véletlenszerűen az elemzésből. Hímek esetében a diszperziós távolság mediánja 30,36 km (SD 13,27 km), a tojóknál 46, 50 km (SD 55,90 km) volt. Míg utóbbiak esetében számos esetben megfigyeltük nagy diszperziós távolság megtételét, a hímekre ez nem volt jellemző. Ennek oka részben a kis mintaelemszám is lehet, azonban nem zárható ki, hogy ahogy az a ragadozómadarakra gyakran jellemző, a két ivar diszperziós stratégiája eltér (Serrano, 2018).

Ezt támogatja az a megfigyelés is, hogy tojóknál a kelési hely nagy fészeksűrűsége gyakran nagyobb mértékű diszperzióval járt, illetve a kelési hely magasabb denzitásánál a diszperziós távolságok varianciája is nagyobb volt. A hím madarak hasonló diszperziós távolságot tettek meg alacsony és magas kelési fészeksűrűség esetén is. A nagy diszperziós távolságot megtevő tojók esetében költőhely körüli lokális denzitás jellemzően alacsony volt, a költési hely kisebb denzitási értékeihez tartozó diszperziós távolság nagy varianciát mutatott. Hímek esetében alacsonyabb és magasabb költési denzitásnál is hasonló volt a diszperzió mértéke.

Ezek alapján feltételezhető, hogy a hímek diszperzióját a fészkelőhely körüli denzitás nem befolyásolja nagy mértékben, amit magyarázhat, hogy a territórium védelméért felelős ivar esetében a helyismeretnek meghatározó szerepe lehet a szaporodási sikerben (Serrano et al., 2003). Míg döggeszélyük esetében a szociális környezet a tojóknál nagyobb mértékben hathat a hímek diszperziójára (Serrano et al., 2021), a parlagi sas hímeknél elképzelhető, hogy nagyobb denzitás, azaz táplálékforrásokért történő nagyfokú versengés esetében is érdekesebb a kelési helyükhöz közeli területeken megtelepedniük. Ez összhangban van Greenwood „resource competition” hipotézisével, miszerint a hímek szaporodási sikere a jobb minőségű territórium megvédésével lesz magasabb, melyben a helyismeretnek jelentős szerepe van (Greenwood, 1980).

A tojók esetében a diszperziós távolságokban és azok denzitástól való függésében jelentős variabilitás volt megfigyelhető, ami arra enged következtetni, hogy bizonyos esetekben, például az erőforrásokért és jobb minőségű partnerekért történő versengés esetén a tojóknak jobban megérheti nagyobb távolságot megtéve fészket rakniuk. Ez a beltenyésztettség elkerülésének érdekében abban az esetben különösen fontos lehet, ha a hímek diszperziós mintázatát elsősorban a jobb minőségű territóriumokért való versengés befolyásolja, nem pedig az, hogy nagyobb diszperziós távolság megtétele esetén nagyobb eséllyel találhatnak nem-rokon partnert (Greenwood, 1980). Elképzelhető azonban az is, hogy a tojók szaporodási sikerére általánosságban jellemző, hogy nagyobb diszperziós távolság kedvez neki, mivel a diszperzió pozitív denzitásfüggése madarak körében igen gyakori (Matthysen, 2005), azonban az utazás költsége miatt nem minden egyed vállalkozik erre.

A két ivart együtt vizsgálva megfigyelhettük, hogy jellemző rájuk a kelési hely fészeksűrűségénél valamilyen mértékben kisebb lokális denzitású területen költeni. Ez a jelenség mutathatja a populáció expanzióját, valószínű, hogy a kirepült madaraknak új, például a populáció szélén elhelyezkedő territóriumokat kell meghódítaniuk, mivel a többi már foglalt (Serrano et al., 2003). Lehetséges azonban az is, hogy a madarak egy, a kelési helyük

denzitásánál alacsonyabb, ideális fészeksűrűségű territóriumon igyekeznek fészket rakni. Emiatt a jövőben mindenképp szeretnénk a fészkek helyzetének (perifériás vagy központi elhelyezedés) diszperzióra gyakorolt hatását is vizsgálni.

Az eredményeink nagyrészt összhangban vannak Papp Rita korábbi eredményeivel, aki a faj kelési diszperzióját kis mintán vizsgálva eltérő mintázatot figyelt meg hímek és tojók között, valamint arra a következtetésre jutott, hogy a territóriumok egymáshoz viszonyított helyzete is hatással lehet a diszperzió mértékére. Az általunk levont következtetések az ő eredményeihez képest bizonytalanabbnak tűnhetnek, de ez következhet a korábban említett szigorúbb egyezési feltételekből, statisztikai elemzésekhez használt más típusú módszereinkből, illetve abból is, hogy az általunk vizsgált időszakban már nagyobb volt a populáció, így az elérhető szabad territóriumok mennyisége is feltehetően korlátozottabb volt.

A populáció diszperziós stratégiájának megértéséhez azonban még számos tényezőt fontos lenne megismerni. Érdekes lenne vizsgálni a fiókák alacsony felnőttkori megtalálásának okait, azaz a mortalitást és migrációt a kirepülést követő években, valamint a territóriumok egyéb, diszperziós távolságra potenciálisan ható jellemzőit, például a táplálékmenyiséget és a többi territóriumhoz viszonyított helyzetét nagyobb mintán. A szaporodási siker, valamint ezen keresztül az egyedek fitnesze és a kelési diszperzió közötti esetleges összefüggés vizsgálata is hozzájárulhat a diszperziós stratégiák megismeréséhez, értékes információkat szolgáltatva a populáció életképességének vizsgálatához (Population Viability Analysis, PVA) és a fajvédelmi kezelési tervek hatásainak modellezéséhez.

7. Összefoglalás

A kelési diszperzió, azaz a kikelési helyről az első szaporodási helyre történő átmozgás lehetőséget ad a beltenyésztettség elkerülésére, a rokonok közötti versengés csökkentésére és a kedvezőbb területek megtalálására. A fajok és populációk kelési diszperziós mintázatára számos környezeti és egyedi tényező lehet hatással. Az egyedek kelési és a szaporodási helye közötti nyomon követésének nehézsége és a jelenséget befolyásoló sokféle tényező bonyolulttá teszi a diszperzió vizsgálatát, azonban az így nyert információk nagyon hasznosak a fajvédelmi programok számára.

Magyarországon az 1980-as évek végén 15-25 parlagi sas (*Aquila heliaca*) pár költött, az állomány azóta megtöbbszöröződött. A populáció kis egyedszámról történő gyors növekedése miatt várható magas beltenyésztettség azonban nem volt kimutatható, ami valamilyen rokonelkerülési mechanizmus, például ivarfüggő kelési diszperzió meglétére enged következtetni. Kutatásunkban a diszperziós távolság ilyen jellegű ivarfüggését, valamint a territórium helyzetének esetleges befolyásoló hatását vizsgáltuk.

537 parlagi sas fióka és 223 költő madár kilenc mikroszatellita lókuszon alapuló egyedi azonosítását és molekuláris ivarhatározását végeztük el 2011-2016 között gyűrűzött fiókáktól származó és 2014-2019 között költő egyedektől gyűjtött tollakból, majd megkerestük a két korcsoportban egyező genotípusú egyedeket. A fészekkoordináták alapján kiszámoltuk a diszperziós távolságokat, és megállapítottuk az egyes fészkek körüli lokális denzitást az adott fészkek körüli azévi legközelebbi szomszéd távolságok (NND) mediánjának kétszeresével húzott körben található fészkek száma alapján.

Az egyedi azonosítás során 460 fiókát (222 hím, 238 tojó) és 209 költő egyedet (62 hím, 147 tojó) azonosítottunk legalább nyolc mikroszatellita lókuszon, fióka és költő egyed között teljes egyezést 30 esetben (8 hím, 22 tojó) találtunk. A kelési diszperzió mediánja hímek esetében 30,36 km (SD = 13,27 km), tojóknál 46,50 km (SD = 55,90 km) volt. A költő egyedek fészkei körüli denzitás csökkenést mutatott a kelési helyükhöz képest. A fióka-, illetve felnőttkori denzitás, valamint az ivar diszperzióra gyakorolt hatása sem bizonyult szignifikánsnak.

A fiókáknál megfigyelt 1:1 ivararány költő madaraknál erősen eltolódott a tojók irányába (1:2,3), amit magyaráz a fészkek közelében kevesebbet tartózkodó hímek tollainak kisebb megtalálási valószínűsége. A hímek és tojók diszperziós távolságának eloszlása különbözött, ami a két ivar eltérő diszperziós stratégiájára, a kelési és költési hely denzitása között megfigyelhető csökkenő tendencia pedig negatív denzitásfüggésre utalhat. A statisztikai

elemzést nehezítette a kevés fióka-költő egyezés, amit a szigorú azonossági feltételeken kívül a fiókák elvándorlása, vagy párba állásának esetleges alacsony sikere magyarázhat. Emiatt a továbbiakban fontos lenne bővebb markerkészlettel, valamint a kirepült fiókák mortalitását és költési sikerét figyelembe véve folytatni a vizsgálatot.

8. Summary

Natal dispersal, i.e. the movement from the hatching site to the first breeding site, can reduce the risk of inbreeding and kin competition, while promoting the detection of favorable habitats. Several internal and external factors might influence natal dispersal patterns of species and populations. Beyond that, the difficulty of tracing individuals between hatching and breeding sites also make it challenging to study dispersal. Nonetheless, information obtained from such studies can be valuable in species conservation.

At the end of the 1980s only 15 to 25 pairs of eastern imperial eagle (*Aquila heliaca*) were nesting in Hungary, but the population has multiplied notably since then. Despite the fast growth from a small population size, high levels of inbreeding have not been detected, implying some kind of kin avoiding mechanism, such as sex-biased natal dispersal. In our study the effect of sex and the position of territory on dispersal distance were examined.

Identification of individuals based on nine microsatellite loci and molecular sex determination of 537 eastern imperial eagle nestlings and 223 breeding birds were performed using feathers of chicks banded between 2011 and 2016, and shed feathers of nesting birds collected between 2014 and 2019. Subsequently, we searched for matching genotypes between the two age groups. Dispersal distances were calculated using nest coordinates, and local density was determined by counting breeding pairs around each nest in a radius twice the median of nearest neighbour distances (NND) in that year.

Altogether 460 nestlings (222 males, 238 females) and 209 breeding birds (62 males, 147 females) were genotyped on at least eight microsatellite loci. Full match of alleles was found in 30 pairs (8 males, 22 females). The median of natal dispersal was 30.36 km (SD = 13.27 km) in males and 46.50 km (SD = 55.90 km) in females. Local density at the breeding site compared to the hatching site was lower for most individuals. Neither sex, nor density had significant effect on dispersal distance.

The observed 1:1 sex ratio of nestlings shifted towards a heavily female-biased ratio (1:2.3) in breeding birds, which can be explained by the lower sampling probability of males due to behavioural differences, i. e. males spend notably less time on and around the nest from where most feathers are collected.

Differences in distribution of male and female dispersal distances suggest different strategies, furthermore, the decreasing tendency of density between hatching and breeding sites might

indicate negative density dependence. Statistical analyses were complicated by the small number of matches which, besides our strict identity criteria, could also be explained by possible emigration of fledglings or low probability of successful settling down. Therefore, it would be important to continue the research with a larger marker set whilst considering the mortality and breeding success of fledglings.

9. Köszönetnyilvánítás

Hálásan köszönöm témavezetőimnek, Dr. Vili Nórának és Zsinka Bernadettnek a rengeteg segítséget a mintafeldolgozás, elemzések és dolgozat megírásának minden területén, valamint a sok türelmet és támogatást is.

A mintákért és a terepi adatok rendelkezésünkre bocsátásáért kiemelt köszönet illeti Dr. Horváth Mártont és Fatér Imrét, valamint az MME Parlagisas-védelmi Munkacsoportjának tagjait és a nemzeti parkok munkatársait.

Köszönettel tartozom a kutatás anyagi és intézményi háttérének biztosításáért az ÁTE Ökológiai Tanszékének és a jelenleg futó PannonEagle LIFE projektnek.

Köszönöm Dr. Kövér Szilviának és Dr. Kis Jánosnak az ötleteiket, a Konzerváció-genetikai Kutatócsoport tagjainak, különösen Dr. Pásztory-Kovács Szilviának és Dr. Szabó Krisztiánnak a korábbi minták feldolgozását, illetve Kalina Csengének az új minták feldolgozásában nyújtott segítségét, valamint családomnak és barátaimnak a támogatást.

10. Irodalomjegyzék

- Allendorf, F. W., & Luikart, G. 2009. Conservation and the genetics of populations. John Wiley & Sons. 114.
- Bagyura, J., Szitta, T., Haraszthy, L., Firmánszky, G., Viszló, L., Kovács, A., Demeter, I., Horváth, M. 2002. Population increase of Imperial Eagle (*Aquila heliaca*) in Hungary between 1980 and 2000. *Aquila* 107 108, 133-144.
- Bonte, D., Van Dyck, H., Bullock, J. M., Coulon, A., Delgado, M., Gibbs, M., Lehouck, V., Matthysen, E., Mustin, K., Saastamoinen, M., Schtickzelle, N., Stevens, V. M., Vandewoestijne, S., Baguette, M., Barton, K., Benton, T. G., Chaput-Bardy, A., Clobert, J., Dytham, C., Hovestadt, T., Meier, C.M., Palmer, S. F. C., Turlure, C. & Travis, J. M. 2012. Costs of dispersal. *Biological reviews*, 87(2), 290-312.
- Byholm, P., Saurola, P., Linden, H., & Wikman, M. 2003. Causes of dispersal in Northern Goshawks (*Accipiter gentilis*) in Finland. *The Auk*, 120(3), 706-716.
- Cadahía Lorenzo, L., López-López, P., Urios, V., Soutullo, A., & Negro Balmaseda, J. J. 2009. Natal dispersal and recruitment of two Bonelli's Eagles *Aquila fasciata*: a four-year satellite tracking study. *Acta Ornithologica*, 44(2), 193-198.
- Deák, G., Fatér, I., Juhász, T. & Horváth, M. 2020. Parlagi sasok (*Aquila heliaca*) pusztulási és kézre kerülési okainak alakulása Magyarországon 2010 és 2019 között. *Heliaca* 16, 114-117.
- Ferrer, M. 1993. Juvenile dispersal behaviour and natal philopatry of a long-lived raptor, the Spanish Imperial Eagle *Aquila adalberti*. *Ibis*, 135(2), 132-138.
- Ferrer, M., Morandini, V., & Newton, I. 2015. Floater interference reflects territory quality in the Spanish Imperial Eagle *Aquila adalberti*: a test of a density-dependent mechanism. *Ibis*, 157(4), 849-859.
- Ferrer, M., & Morandini, V. 2017. Better nutritional condition changes the distribution of juvenile dispersal distances: an experiment with Spanish imperial eagles. *Journal of Avian Biology*, 48(10), 1342-1347.
- Forero, M. G., Donázar, J. A., & Hiraldo, F. 2002. Causes and fitness consequences of natal dispersal in a population of black kites. *Ecology*, 83(3), 858-872.
- González, L. M., Oria, J., Margalida, A., Sánchez, R., Prada, L., Caldera, J., Aranda, A. & Molina, J. I. 2006. Effective natal dispersal and age of maturity in the threatened Spanish Imperial Eagle *Aquila adalberti*: conservation implications. *Bird Study*, 53(3), 285-293.
- Greenwood, P. J. 1980. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal behaviour*, 28(4), 1140-1162.
- Hamilton, C., 2021. National Security Agency, qgis-shapetools-plugin, 3.4.1. <https://github.com/NationalSecurityAgency/qgis-shapetools-plugin>
- Horváth, M., Demeter, I., Fatér, I., Firmánszky, G., Kleszó, A., Kovács, A., Szitta, T., Tóth, I., Zalai, T. & Bagyura, J. 2011. Population dynamics of the Eastern Imperial Eagle (*Aquila heliaca*) in Hungary between 2001 and 2009. *Acta Zoologica Bulgarica* (Suppl. 3), 61-70.

- Horváth, M., Solti, B., Fatér, I., Juhász, T., Haraszthy, L., Szitta, T., Ballók, Zs. & Pásztor-Kovács, S. 2018. Temporal changes in the diet composition of the Eastern Imperial Eagle (*Aquila heliaca*) in Hungary. *Ornis Hungarica*, 26(1), 1-26.
- Kauffman, M. J., Pollock, J. F., & Walton, B. 2004. Spatial structure, dispersal, and management of a recovering raptor population. *The American Naturalist*, 164(5), 582-597.
- Korpimäki, E. 1987. Selection for nest-hole shift and tactics of breeding dispersal in Tengmalm's owl *Aegolius funerus*. *The Journal of Animal Ecology*, 185-196.
- Li, X. Y., & Kokko, H. 2019. Sex-biased dispersal: A review of the theory. *Biological Reviews*, 94(2), 721-736.
- Limñana, R., García, J. T., González, J. M., Guerrero, Á., Lavedán, J., Moreno, J. D., Román-Muñoz, A., Palomares, L. E., Pinilla, A., Ros, G., Serrano, C., Surroca, M., Tena, J. & Arroyo, B. 2012. Philopatry and natal dispersal of Montagu's harriers (*Circus pygargus*) breeding in Spain: a review of existing data. *European journal of wildlife research*, 58(3), 549-555.
- Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület. 2021. Magyarország madarai: Parlagi sas. <https://www.mme.hu/magyarorszagmadarai/madaradatbazis-aquhel> Letöltés dátuma: 2021. 10. 05.
- Matthysen, E. 2005. Density-dependent dispersal in birds and mammals. *Ecography*, 28(3), 403-416.
- Margalida A., González L. M., Sánchez R., Oria J., Prada L. 2007. Parental behaviour of Spanish Imperial Eagles *Aquila adalberti*: sexual differences in a moderately dimorphic raptor. *Bird Study*, 54: 112-119.
- McCaslin, H. M., Caughlin, T. T., & Heath, J. A. 2020. Long-distance natal dispersal is relatively frequent and correlated with environmental factors in a widespread raptor. *Journal of Animal Ecology*, 89(9), 2077-2088.
- Meyburg, B. U., & Kirwan, G. M. 2018. Eastern Imperial Eagle (*Aquila heliaca*). *Handbook of the Birds of the World Alive* (J. del Hoyo, A. Elliott, J. Sargatal, DA Christie, and E. de Juana, Editors). Lynx Edicions, Barcelona, Spain. <https://www.hbw.com/node/53159> Letöltés dátuma: 2021. 10. 16.
- Miller, K. E., & Smallwood, J. A. 1997. Natal dispersal and philopatry of southeastern American Kestrels in Florida. *The Wilson Bulletin*, 226-232.
- Millsap, B. A., Harmata, A. R., Stahlecker, D. W., & Mikesic, D. G. 2014. Natal dispersal distance of Bald and Golden eagles originating in the coterminous United States as inferred from band encounters. *Journal of Raptor Research*, 48(1), 13-23.
- Nemeth, N. M., & Morrison, J. L. 2002. Natal dispersal of the Crested Caracara in Florida. *Journal of Raptor Research*, 36(3), 203-206.
- QGIS Development Team 2021. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

- Ronce, O. 2007. How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 38, 231-253.
- Rudnick, J. A., Katzner, T. E., Bragin, E. A., Rhodes Jr, O. E., & DeWoody, J. A. 2005. Using naturally shed feathers for individual identification, genetic parentage analyses, and population monitoring in an endangered Eastern imperial eagle (*Aquila heliaca*) population from Kazakhstan. *Molecular Ecology*, 14(10), 2959-2967.
- Serrano, D. 2018. Dispersal in raptors. p. 95–121. In: Sarasola, J. H., Grande, J. M., Negro, J. J. 2021. *Birds of Prey: biology and conservation in the XXI century*. Springer International Publishing, Seville, Spain.
- Serrano, D., Cortés-Avizanda, A., Zuberogoitia, I., Blanco, G., Benítez, J. R., Ponchon, C., Grande, J. M., Ceballos, O., Morant, J., Arrondo, E., Zabala, J., Montelío, E., Ávila, E., González, J. L., Arroyo, B., Frías, Ó., Kobierzycki, E., Arenas, R., Tella, J. L. & Donázar, J. A. 2021. Phenotypic and environmental correlates of natal dispersal in a long-lived territorial vulture. *Scientific reports*, 11(1), 1-13.
- Serrano, D., Tella, J. L., Donázar, J. A., & Pomarol, M. 2003. Social and individual features affecting natal dispersal in the colonial lesser kestrel. *Ecology*, 84(11), 3044-3054.
- Stoychev, S., Demerdzhiev, D., Spasov, S., Dobrev, D., & Meyburg, B. U. 2014. Survival rate and mortality of juvenile and immature eastern imperial eagles (*Aquila heliaca*) from Bulgaria studied by satellite telemetry. *Slovak Raptor Journal*, 8(2014), 53-60.
- Sutherland, G. D., Harestad, A. S., Price, K., & Lertzman, K. P. 2000. Scaling of natal dispersal distances in terrestrial birds and mammals. *Conservation ecology*, 4(1). 16-52.
- Trochet, A., Courtois, E. A., Stevens, V. M., Baguette, M., Chaine, A., Schmeller, D. S., Clobert, J., Irschick, D. J. & Wiens, J. J. 2016. Evolution of sex-biased dispersal. *The Quarterly Review of Biology*, 91(3), 297-320.
- Vasko, V., Laaksonen, T., Valkama, J., & Korpimäki, E. 2011. Breeding dispersal of Eurasian kestrels *Falco tinnunculus* under temporally fluctuating food abundance. *Journal of avian biology*, 42(6), 552-563.
- Vili, N., Szabó, K., Kovács, S., Kabai, P., Kalmár, L., & Horváth, M. 2013. High turnover rate revealed by non-invasive genetic analyses in an expanding eastern imperial eagle population. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 59(3), 279-295.
- Whitfield, D. P., Douse, A., Evans, R. J., Grant, J., Love, J., McLeod, D. R., Reid, R. & Wilson, J. D. 2009. Natal and breeding dispersal in a reintroduced population of White-tailed Eagles *Haliaeetus albicilla*. *Bird Study*, 56(2), 177-186.