

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskola

A kék vércsék (*Falco vespertinus*) genetikai vizsgálatai – populációstruktúra és alternatív reprodukciós stratégiák

PhD Tézis

Magonyi Nóra Mária

Témavezető:

Dr. Mátics Róbert

PhD, Habilitáció

PÉCS, 2021

Bevezetés

A Természetvédelmi Világszövetség (IUCN) Vörös Listáján jelenleg 226 súlyosan veszélyeztetett fajt tartanak számon, melyek 14%-a kihalással fenyegetett (1). A legkritikusabb helyzetekben ezért ma már nem csupán élőhelyvédelemre, visszatelepítési és tenyésztési programokra támaszkodnak, de genetikai eszközöket is alkalmaznak. Használatuk különösen fontossá vált a populációstruktúra, a viselkedésökológia, a szaporodásbiológia, sőt még a természetvédelmi igazságügy területén is, mivel a molekuláris látásmód segítségével betekintést nyerhetünk egy olyan világba, mely a hagyományos megfigyelési módszerekkel láthatatlan marad. Ennek köszönhetően a konzervációgenetika interdiszciplináris tudományterületté vált (Frankham 2003, Frankham 2005, Selkoe & Toonen 2006). Napjainkban ennek legfontosabb eszközei a mikroszatelliták (SSRs, STRs) és az SNP vizsgálatok. Habár az előbbieket használatával kapcsolatban több bizonytalanság is felmerült mind a populációgenetikai és a szülő-utód vizsgálatok terén, korlátaikat figyelme véve még mindig széleskörűen elterjedtek (Putman & Carbone 2014, De Barba et al. 2017, Flanagan et al. 2019).

Jelen tanulmány célja a kék vércse (*Falco vespertinus*) konzervációgenetikai és reprodukzív stratégiákkal kapcsolatos vizsgálata mikroszatelliták segítségével.

A kék vércse egy kis termetű ragadozó madár, melynek élőhelyeül a nagy kiterjedésű füves puszták szolgálnak. Megtalálható egészen Kelet-Európától Ázsiáig; Magyarország képviseli a faj nyugati elterjedési határát (2, Palatitz et al. 2018, Purger 1998, Krištín et al. 2017). Érdekessége, hogy fakultatív koloniális költő, továbbá – mint a sólyomfélék általában – nem épít saját fészket, helyette rendszerint a varjúfélék családjába tartozó fajok (pl.: *Corvus frugilegus*, *Pica pica*, *Corvus cornix*) fészkeit foglalja el. Jelentős természetvédelmi értékkel rendelkezik, nem csak Magyarországon, de csökkenő egyedszáma miatt globálisan is (Birdlife International 2015, 2). A 20. század során a Kárpát-medencében szintén drámai egyedszám csökkenésen ment keresztül az akkortájt jellemző mezőgazdasági terjeszkedés és varjúirtás következtében. Végül 2006-ra a korábbi 2200-2500 költőpáros hazai populáció 500-600 párra zsugorodott és egyedei a Dunántúlról teljes egészében eltűntek. A helyzetet tovább súlyosbította, hogy a költőpárok többsége is a kevésbé kedvező szoliter költésre kényszerült (Keve & Szijj 1957, Fehérvári et al. 2008, Palatitz et al. 2015). Azóta számos hazai és nemzetközi kezdeményezés látott napvilágot annak érdekében, hogy meggátolják a további egyedszám csökkenést (3). Az első, 2006-2009 között megvalósuló LIFE program (LIFE05

NAT/H/000122) keretein belül mesterséges költőládák kerültek kihelyezésre, hogy ismét biztosítsák a faj számára kedvezőbb koloniális költési lehetőségeket és stabilizálják a populációt. Az intézkedéseknek köszönhetően az egyedszám ismét nőni kezdett és jelenleg 1200-1300 pár költ hazánkban (Palatitz et al. 2018). A műfészek-telepek további előnye, hogy jobb lehetőséget nyújt a madarak mintázhatósága terén, ezáltal populációgenetikai és szaporodásbiológiai kutatásokat téve lehetővé. Annak ellenére, hogy a kék vércse jól kutatott faj, genetikai információk korábban nem álltak rendelkezésre róla.

Célkitűzések:

Jelen tanulmányban a LIFE program (A kék vércse védelme a Kárpát-medencében, LIFE11/NAT/HU/000926) által kezdeményezett populációstruktúra elemzéseket a potenciálisan előforduló alternatív reprodukciós stratégiák feltérképezésével egészítettük ki. Az elemzéseket mikroszatelliták segítségével végeztük, ennek megfelelően az értekezés célkitűzései a következők voltak:

1. Markerfejlesztés

1.1. Létrehozni egy a kék vércsére kifejlesztett fajspecifikus mikroszatellitákból álló markerkészletet.

2. Populációstruktúra

2.1. Összehasonlítani a magyar költőterületek genetikai struktúráját

2.2. Összehasonlítani a Kárpát-medencében található és egy Kárpáton túli költőterület genetikai struktúráját

2.3. Egy romániai gyülekezőterületen befogott egyedek populációhoz rendelése

3. Alternatív szaporodási stratégiák

3.1. Igazolni az extra-pár apaság jelenlétét (extra-pair paternity, EPP)

3.2. Igazolni a fajon belüli fészekparazitizmus jelenlétét (intraspecific brood parasitism, IBP)

3.3. Egyéb alternatív szaporodási stratégiák felderítése

Anyagok és módszerek

Minták

A kék vércse minták gyűjtését az MME/Birdlife Hungary Kék vércse védelmi munkacsoportja végezte 2008 és 2017 között. A szükséges engedélyeket a magyar hatóságok biztosították: OKTF-KP/56-26/2015, PE-KTFO/1867-10/2018, PE-KTFO/1867-11/2018, PE-KTFO/1867-9/2018.

A markerfejlesztés 29 kék vércse, valamint hat rokon faj (*F. peregrinus* (n=10), *F. tinnunculus* (n=8), *F. rusticolus* (n=3), *F. columbarius* (n=1), *F. subbuteo* (n=1) és *F. cherrug* (n=1) egyedeinek vér-, toll- és bőrmintái segítségével történt. A kék vércsék esetében a vérminták 2008 és 2015 között kerültek begyűjtésre a korábbi LIFE program által kijelölt területekről. A rokonfajok toll- és bőrmintáit a Magyar Természettudományi Múzeum, az MME Birdlife Hungary és a Kecskeméti Vadaskert szolgáltatta.

A populáció genetikai vizsgálatok vér- és/vagy tollmintái 120 kék vércse egyedtől ($N_{\text{tojó}}=62$ és $N_{\text{hím}}=58$) származtak, melyeket 2015 és 2017 között gyűjtöttek. Az elemzésekbe összesen 21 felnőttet és 99 fiókát/juvenilis egyedet vontunk be. A földrajzi elhelyezkedésük alapján nyolc magyar és három román csoportba soroltuk őket. Magyarország: Borsodi mezőség (n=10), Csanádi-puszták (n=10), Cserebökény (n=10), Hevesi Füves Puszták (n=10), Hortobágy (n=10), Jászság (n=10), Kiskunság (n=10), Vásárhelyi-puszták (n=10). Románia: nyugati költőterület (n=10) közel a magyar határhoz, délkeleti kolónia (n=10) a Kárpátokon túl és délkeleti gyülekező terület közel a Fekete-tengerhez (n=20).

Az alternatív szaporodási stratégiák analízise során felhasznált vérmintákat 128 fiókától és 82 adult egyedtől (48 család) gyűjtötték 2008-2015 között a Vásárhelyi pusztákról, a Körös-Maros Nemzeti Parkból. A többszörösen mintázott eseteket kizárva végül 97 fióka, 75 felnőtt, azaz 37 család vett részt a vizsgálatokban.

A felnőttek befogására minden esetben hálóval került sor, azonosításuk színes gyűrűk segítségével történt. Szociális szülőnek tekintettük azokat az egyedeket, melyek rendszeresen részt vettek a kotlásban (beleértve a hímeket is), etetésben, szociális párként viselkedtek és legalább kétszer azonosították őket egymástól függetlenül az inkubációs- és fiókanevelési periódus alatt teleszkóp vagy kameracsapda segítségével. Egy-egy szülőpár sikeres befogása esetén a fészekben található összes fióka megmintázásra került.

Minden mintát -20°C -on, illetve kirocsövekben etil-alkoholban (96%) tároltunk, szintén -20°C -on.

DNS kivonás

A DNS kivonása a Genomic DNA Mini Kit-tel (Geneaid®, New Taipei City, Taiwan), a gyártó által csatolt protokoll szerint történt. A toll- és bőrminták emésztésének elősegítése $10\ \mu\text{l}$ DTT (1,4-dithiothreitol, 1M, Weigmann, 1968) hozzáadásával történt, valamint inkubációjuk 60°C -on történt egy éjszaka alatt, a bőrminták esetében 24 órán keresztül. A vérminták inkubációja 1,5 óráig tartott, szintén 60°C -on. A DNS eluálása $100\ \mu\text{l}$ eluáló pufferben történt, tárolásuk -20°C -on valósult meg.

Mikroszatellita markerek

A tanulmányban rokonfajokból származó és fajspecifikus markereket alkalmaztunk különböző kombinációkban. Utóbbi fejlesztése jelen tanulmányban történt az Ecogenics GmbH segítségével. Az intézmény négy kék vércse egyed mintája alapján különítette el a lehetséges markerként alkalmazható mikroszatellitákat. A könyvtár elemzése Illumina MiSeq platformon történt Nano 2x250 v2 format (Balgach Switzerland) segítségével. A jelöltek kiválasztását követően PCR optimalizációt hajtottunk végre a reakció mixben alkalmazott MgCl_2 és DNS mennyiségének, valamint a PCR-ek kondícióinak megváltoztatásával. A kezdeti 44 primer párból végül tíz (FalVes_04, FalVes_05, FalVes_13, FalVes_15, FalVes_26, FalVes_28, FalVes_30, FalVes_31, FalVes_38 és FalVes_43) esetében kerülhetett sor későbbi alkalmazásra, további kettő esetében (FalVes_03 és FalVes_34) csak publikálásra (Magonyi et al. 2019). A hét rokonfajból származó marker a következő volt: Fnd2.3 (Padilla et al. 2009), Fr34 (Nesje & Roed 2000), Fp82-2, Fp89, Fp54, Fp92-1 (Nesje et al. 2000) és Fp347 (Nittinger et al. 2007).

PCR receptek és kondíciók

A markerfejlesztés lókuszeit $17\ \mu\text{l}$ -es reakciómixben, simplexként amplifikáltuk, kis változtatásokkal a MgCl_2 - és primerkoncentráció tekintetében. Az alkalmazott protokollok és kondíciók megtalálhatók a Magonyi et al. (2019) cikkben.

A rokonsági vizsgálatok során három különböző PCR protokollt alkalmaztunk. A protokollok és kondíciók a rokonfajokból származó markerek esetében (Fp89, Fp82-2, Fnd2.3, Fr34, Fp347

és Fp54) megegyeztek a fajspecifikus markerek első csoportjára alkalmazottakkal, reakciójuk simplexben történt.

A populációgenetikai vizsgálatok során a rokonfajokból származó markerek amplifikációja két mixben történt. *Mix1* tartalmazta Fp89, Fr34 és Fp54 markereket, *Mix2* az Fp92-1, Fp347 és Fnd2.3 markereket, míg az Fp82-2 amplifikálása simplexben történt. A fajspecifikus markerek – FalVes_15 és FalVes_26 – amplifikációja szintén simplexben, a Magonyi et al. (2019) cikkben leírtak szerint történt, míg a FalVes_31 és FalVes_28 amplifikációja ezúttal duplexben. A rokonfajokból származó markerek mindkét mixe esetében megegyeztek a PCR kondíciók, a fajspecifikus markerek esetében ettől eltérőt alkalmaztunk.

Azokban az esetekben, amikor molekuláris ivarhatározásra volt szükség, a CHD1 gén (chromodomain helicase DNA-binding) 16-os intron szakaszát használtuk (Fridolfsson & Ellegren 1999, Suh et al. 2011). A PCR termékeket 2%-os gélen futtattuk elektroforézis segítségével.

Programok és statisztika

A félrevezető komplex motívumokat tartalmazó mikroszatelliták kiszűrése és a szekvenciák ellenőrzése a MEGA 7 segítségével történt (Kumar et al. 2016).

A PCR termékeket kapilláris elektroforézis segítségével analizáltuk a standard GS500LIZ belső méretstandard segítségével (Applied Biosystems, USA). A fragmenthosszok meghatározása a Peak Scanner™ Software v.1.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA) segítségével történt. A leolvasott csúcsok validálása 30 kék vércse egyed külön plate-en történő újra genotipizálásával történt, a leolvasásokat minden esetben két személy végezte, egymástól függetlenül.

A nullallélek jelenlétét Micro Checker v.2.2.3 programmal (van Oosterhout et al. 2004) detektáltuk. Az alapstatisztikákat (N_a , H_e , H_o és PI) GenAlEx v.6 (Peakall & Smouse, 2012) makróval adtuk meg. A Hardy-Weinberg egyensúlytól (HWE) való eltérést és a lókuszek között előforduló lehetséges kapcsoltsági egyensúlytalanságot (linkage disequilibriumot, LD) az Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer 2010) szoftverrel teszteltük.

A költőterületek közötti genetikai differenciálódás becslésére az F_{ST} (Weir & Cockerham, 1984) értékeket szintén Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer 2010) segítségével adtuk meg.

A genetikai struktúrát Structure v.2.3.4 (Stanford University, USA, 2012) szoftverrel ábráztuk. A mintavételi területeket bemutató térképet a QGIS 3.4.15 (<http://qgis.org>) programmal készítettük.

A szülő-utód vizsgálatokban az elemzések manuálisan és a Cervus 3.0 (Kalinowski et al. 2007) szoftver segítségével történtek. A program a LOD (log of overall likelihood ratio) pontok kalkulációján alapszik, melyek segítségével a szoftver statisztikai tesztek készíti a szülő-utód vizsgálatokhoz.

Eredmények és megvitatásuk

Markerfejlesztés

A sikeresen alkalmazott műfészek kolóniák létrehozása előtt a kék vércsék megbízható mintázása problematikusnak bizonyult. Egyedül a monitoring adatok, vagy azok kombinációja a rokonfajokból származó markerekkel nem tudott elegendő információval szolgálni a populációstruktúra elemzéséhez és a rokonsági kapcsolatok vizsgálatához. Következésképpen fajspecifikus markerek fejlesztésére volt szükség.

A PCR optimalizációt követően 44 primer párból 12 bizonyult elég polimorfnek és amplifikálódott megbízhatóan. A későbbi populációgenetikai és alternatív szaporodási stratégia elemzésekben ezek közül tízet használtunk sikeresen, míg további kettőt (FalVes_03 és FalVes_34) kizártunk nehezen értelmezhető eredmények miatt.

A lókuszonkénti allélszám 6 és 26 (átl. 13,4) között volt. Az átlagos várható heterozigócia 0,82 (0,59-0,93), míg az átlagos megfigyelt heterozigócia 0,69 (0,31-0,93) volt. Szignifikáns LD fordult elő FalVes_13 és FalVes_26 ($p=0,0064$) között, ám Bonferroni korrekció után a szignifikancia megszűnt (korrigált $\alpha = 0,0011$). A FalVes_04, FalVes_30 és FalVes_43 szignifikánsan eltért a HWE-től és a Micro Checker is nullalléleket detektált ezeken a markereken ($F_{null}= 0,177-0,232$). A probability of identity (PI) $8,2 \times 10^{-15}$ volt, míg ugyanez testvérek esetén (PI_{sibs}) $2,8 \times 10^{-5}$. Mind a tíz új marker, valamint a FalVes_03 sikeresen keresztamplifikált a hat rokonfajban (*F. peregrinus*, *F. tinnunculus*, *F. rusticolus*, *F. columbarius*, *F. subbuteo* és *F. cherrug*), különösen a *F. peregrinus* és a *F. tinnunculus* esetén. A populációstruktúra elemzésekben négy fajspecifikus markert a rokonfajokból származó markerekkel kombinálva használtunk 120 egyed genotipizálására. A FalVes_31 kivételével nem voltak HWE-ban és nullallélek jelenlétét mutatták. A teljes markerkészletre kapott eredmények igazolása érdekében az elemzéseket megismételtük a legproblematikusabb két marker – FalVes_15 és Fp92-1 ($P \geq 0.1$) a rokonfajok markerei közül – kizárásával, ami változatlan eredményt hozott.

Az alternatív szaporodási stratégiák vizsgálataiban mind a tíz markert teszteltük az eredeti 210 egyeden, habár a későbbiekben a FalVes_04-et, FalVes_15-öt és a FalVes_43-at kizártuk nullallélek jelenléte és az elektroferogramon megjelenő bizonytalan csúcsok miatt. A FalVes_26 és a FalVes_28 esetében szintén nullallélekre utaló jelek jelentkeztek, de az allélek sokasága és a megbízható amplifikáció miatt nem kerültek kizárásra. Végül az eredményeket a Cervus szoftver segítségével ellenőriztük. A manuális elemzések során alkalmazott, minimum két lókuszon tapasztalt eltéréssel szemben itt egy lókuszon tapasztalt eltérésre volt szükség, hogy egy páron kívüli fertilizációt validnak tekintsünk.

A fent említett elemzéseken túl markereink használhatók a természetvédelmi igazságügy területén is, mivel a tesztelt rokonfajok között több is széles körben használt a solymászatban. Néhány markert már sikeresen alkalmaztunk a vándorsólyom esetében egy a magyar hatóságok által jelentett, nem publikált ügyben.

Összegezve elmondható, hogy markereink alapul szolgáltak a faj védelmét célzó védelmi tevékenységnek és lehetővé teszik a faj potenciális alkalmazhatóságát, mint a szülői gondoskodás, párválasztás és a koloniális költés modellfaját. Korlátaikat is figyelembe véve a markerek elősegítették a populációstruktúra, a szaporodási rendszer vizsgálatát, valamint minden olyan jövőbeli kutatást, ahol egyedi azonosításra szükség lehet.

Populációstruktúra

A kék vércsék globális elterjedéséhez viszonyítva a magyarországi kolóniák közel helyezkednek el egymáshoz, míg a vizsgált román költőterületet a Kárpátok választja el tőlük. Az elemzésben 120 egyedet tíz mikroszatellitával (hat rokonfajból, négy fajspecifikus) genotipizáltunk annak érdekében, hogy feltérképezzük a Kárpát-medencei területek populációgenetikai struktúráját, valamint összevessük azt a román költőterületével.

Az Arlequin 3.5.2.2. szignifikáns LD-t talált több lókusz között, több területen is, ám konzisztencia nélkül. Az Fp92-1 ($p=0,000428$), FalVes_15 ($p=0,00001199$), FalVes_26 ($p=0,0003471$) és FalVes_28 ($p=0,00227$) szignifikánsan eltért a HWE-től. Az Fp92-1 ($F_{null}=0,2097$), Fp89 ($F_{null}=0,086$), FalVes_15 ($F_{null}=0,142$) FalVes_26 ($F_{null}=0,099$) és a FalVes_28 ($F_{null}=0,065$) esetében a Micro Checker v.2.3.3. null allélekre utaló jelet talált. A markerkészlet PI értéke $2,3 \times 10^{-11}$ és $3,6 \times 10^{-10}$ között volt. A legmagasabb megfigyelt heterozigóciát ($H_o=0,71$) a hortobágyi kolóniákban, míg a legmagasabb allél diverzitást ($A=7,2$) a Csanádi-pusztákon találtuk. A fajspecifikus markerek esetében a talált allélek száma 11-39

(átl. $21,25 \pm 12,23$) volt. Összesen az átlag $13,9 \pm 9,95$ volt, míg a területenként talált átlagos allélszám $6,56 \pm 0,4$ volt.

Az Arlequin 3.5.2.2. AMOVA tesztje szerint a molekuláris variabilitás 15,44%-a egyedek közötti, 84,31%-a egyedeken belüli és csupán 0,24%-a származik populációk közötti variabilitásból. Következésképpen a becsült F_{ST} értéke 0,00247 ($p=1$) volt, míg az $F_{IS}=0,1548$ ($p=0$). A páronkénti F_{ST} értékek közül egy sem volt szignifikáns. A Mantel-teszt eredménye sem mutatott korrelációt a páronkénti F_{ST} értékek és a páronkénti földrajzi távolságok között $r = -0,188313$ ($p=0,795$).

Hasonlóképpen az F_{ST} értékeket alapul vevő Structure v.2.3.4 (Stanford University, USA, 2012) szoftverrel végzett analízis sem tudta elkülöníteni a költőterületeket. A lehetséges populációk számát (K) 1 és 10 közé állítottuk be és a legmagasabb valószínűségi értéket $K=1$ esetén kaptuk. Mivel a magasabb mintaszám fényt derített a nullallélek gyakoribb jelenlétére mind a rokonfajok, mint a fajspecifikus markerek esetében, a limitációkat figyelembe véve megismételtük a vizsgálatokat a legproblematikusabb markerek (Fp92-1 and FalVes_15, $P \geq 0,1$) nélkül. Ezúttal az AMOVA halvány különbséget mutatott (2,7% - 3,5%) három magyarországi kolónia között, míg a Mantel-teszt most sem jelezte a földrajzi távolság szerepét ($r=-0,199337$, $p=0,759$). A Structure szoftver továbbra sem mutatott elkülönülést, valamint a legmagasabb valószínűségi értékeket ezúttal is $K=1$ esetén kaptuk.

Mivel a faj hosszú távú vonuló, több ezer kilométert képes repülni és eközben számos földrajzi akadályt leküzdeni, úgymint a Földközi-tenger vagy a Szahara (Palatitz et al. 2018). A korábbiakban kb. 3500 egyedre becsületék az egyedek számát a legnagyobb magyarországi gyülekezőterületen (Borbáth & Zalai 2005), míg 2014-ben 11 600 egyedet számoltak a Kárpát-medencében az őszi gyülekezési időszakban (Palatitz et al. 2015). Figyelembe véve a faj jelenlegi, hazai egyedszámát (1200-1300 pár) és az alig több román költőpárt (1300-1600), feltételezhető, hogy Magyarország az őszi vonulási útvonalnak is része lehet (Palatitz et al. 2018). Továbbá figyelembe véve azt a tényt, hogy tavasszal Nyugat-Afrikán keresztül térnek vissza, valószínűsíthető, hogy a Kárpát-medence mind az őszi, mind a tavaszi útvonalnak része (Palatitz et al. 2018). Ezen eredmények hangsúlyozzák a térség konzervációbiológiai jelentőségét, hasonlóan a prérisólyom esetéhez (Doyle et al. 2018).

Összegezve az AMOVA eredményei szerint a populációk közötti variabilitás csupán 0,24%-a a teljes a variabilitásnak, azt jelezve, hogy a talált allélgyakoriságok hasonlóak a mintázott területeken és nem találtunk genetikai strukturáltságot. A Mantel-teszt során nem találtunk szignifikáns összefüggést, így feltételezhető, hogy sem a Kárpátok, mint potenciális barrier,

sem a mintázott területek közötti földrajzi távolság nem akadályozza a génáramlást. Az eredmények azt jelzik, hogy a kék vércsék egyetlen szaporodási közösséget alkotnak a mintázott területen belül, így a nemzetközi fajvédelemi programoknak a populációt, mint egységes egészt kell kezelniük. Eredményeink ugyanakkor megerősíthetők volnának további genetikai markerek bevonásával, illetve keletebbi költőterületek mintázásával egy esetleges későbbi tanulmányban.

A populációhoz rendelést nem lehetett végrehajtani a kárpát-medencei és a romániai költőterület közötti genetikai különbségek hiányában.

Alternatív szaporodási stratégiák

Bár a ragadozó madarak jellemzően monogámok, sokuk alternatív szaporodási stratégiákat alkalmaz, megfigyelések szerint a kék vércsék is (Negro et al. 1996, Rosenfield et al. 2015). Mivel az életmenet-stratégiák és a szaporodási rendszer kulcsfontosságú tényezők a fajvédelemben, ismeretüknek elsődleges szerepe van a hatékony védelmi intézkedések megtervezésében (Sutherland 1998, Caro 2007, Pryke et al. 2012, Garnier et al. 2012).

Eredményeink 171 egyed (74 felnőtt, 97 fióka, 37 család) hét fajspecifikus és öt rokonfajból származó markerrel végzett genotipizálásán alapulnak.

A PI értéke a teljes, 12 lókuszos markerkészletre vetítve $PI=9,8 \times 10^{-15}$ és testvérekre $PI_{SIBS}=1,4 \times 10^{-5}$. A kizárási valószínűségek: ismeretlen szülők esetében $EP1=9.3 \times 10^{-4}$, amikor az egyik szülő biztosan ismert $EP2=9 \times 10^{-6}$, és $EP3=9 \times 10^{-9}$ szülőpárokra (GenAlEx 6.4, Peakall & Smouse 2012). A megfigyelt heterozigócia (H_o) 0,738 (0,415-0,915) volt, míg a várt heterozigócia (H_e) 0,745 (0,445-0,922). A homozigóták túlsúlya miatt a Micro Checker egy lókuszt talált ($F_{alVes_26} - F_{null}=0,1058$) nullallél gyanúsak. A Cervus 3.0 (Kalinowski et al. 2007) szoftver megerősítette, hogy a szociális szülőként kezelt párok minden esetben egyeztek a genetikai szülőkkel is, kivéve azokat az eseteket, melyeket manuálisan is EPP-ként, kvázi-parazitizmusként (QP), vagy IBP-ként azonosítottunk.

Eredmények tekintetében alacsony EPP-rátát találtunk (a fészkek 2,7%-át a fiókáknak 2,06%-át érintette), ami illik a sólyomfélék esetében eddig tapasztaltakhoz (Swatschek et al. 1993, Warkentin et al. 1996, Korpimäki et al. 1996, Negro et al. 1996, Villarroel et al. 1998, Alcaide et al. 2005), valamint szintén alacsony IBP értéket (a fészkek 3,7%-a, a fiókák 1.03%-a). Emellett megtaláltuk a kvázi-parazitizmus első esetét sólyomféléknél és az első poligámiát a kék vércsékénél.

Tekintettel arra, hogy minden alternatív stratégia esetén csupán egy-egy érintett fészket találtunk, ezen jelenségeket csupán bemutatni tudjuk, néhány gondolattal kiegészítve a szaporodási rendszert vizsgáló később tanulmányokra tekintettel.

Figyelembe véve a tényt, hogy csupán a sikeres IBP-eket tudtuk detektálni, de a fajra jellemző a tojások fészekanyagba történő eltemetése, illetve a fészekből való kigörgetése is (Palatitz et al. 2018), feltételezhetjük, hogy a sikertelen próbálkozások száma ennél nagyobb lehet, azaz az IBP valóban lehetséges stratégia, nem csupán a véletlen műve. Ezt támogathatja a megfigyelt fixált fészkalj is, mely tulajdonság egyébként nem jellemző a sólyomfélékre, de szerepe lehet az extra-pár fiókák nevelésének elkerülésében.

Ugyanakkor figyelembe kell vennünk az emberi beavatkozás hatását is, mivel a kihelyezett műfészkek konstrukciójukban lényegesen eltérnek a természetes fészkektől. Bragin et al. (2017) tanulmányában már megfigyelték, hogy korábbra tolódik a tojásrakás, és az erdőszélekre kihelyezett költőládák esetében magasabb a fiókaveszteség is.

A korábban bemutatott poligámia esete szintén jelezheti a zárt költőláda hatását a szaporodási rendszerre, ugyanis a megfigyelt hím két olyan fészekben etetett párhuzamosan, melyek egyazon fán helyezkedtek el, ám nyílásuk az ellenkező irányba nézett.

Mindent figyelembe véve, további kutatásokra van szükség a természetes költőtelepekről, mivel jelenleg csak kimutattuk az EPP, QP és IBP jelenlétét, de az nem tudtuk megerősíteni, hogy rejtett stratégiáról van-e szó, vagy az amúgy sikeres, költőládákból kialakított mesterséges kolóniák mellékhatásáról. Utóbbi esetben a fajra jellemző párválasztási és utódgondozási rendszer megváltozhat az emberi beavatkozások eredményeképpen, hosszú távú következményeket okozva. Egy lehetséges forgatókönyv szerint a tojók egyre magasabb arányban előforduló dezertálása is bekövetkezhet, míg a lecsökkent fészkaljméret alacsony szaporodási sikert okozva a populáció dinamikáját is megváltoztathatja.

A háttérben meghúzódó mechanizmustól eltekintve, jelen értekezés először számol be IBP-ről, QP-ről és poligámiáról a kék vércsénél, növelve ezzel azon fajok listáját, ahol ezeket a jelenségeket megfigyelték. További kutatások alapjaként szolgálva eredményeink segíthetik a szaporodási rendszer, az életmenet-stratégiák és a fajvédelem között fennálló kapcsolat jobb megértését.

Irodalomjegyzék

(1) <https://www.iucnredlist.org/search?query=Birds&searchType=species>

(Letöltve: 2020.08.10)

(2) <https://www.iucnredlist.org/species/22696432/131939286> (Letöltve: 2020.08.01)

(3) <http://www.falcoproject.eu/hu/splash> (Letöltve: 2021.05.03)

BirdLife International (2015) European Red List of Birds. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.

Borbáth P. & Zalai T. (2005). Kék vércsék (*Falco vespertinus*) őszi gyülekezése a Hevesi-síkon. *Aquila*, 112, 39–44.

Bragin, A. E. & Katzner T. E. (2017). Demographic consequences of nestbox use for Red-footed Falcons *Falco vespertinus* in Central Asia. *Ibis*, 159, 841–853. [https://doi:10.1111/ibi.12503](https://doi.org/10.1111/ibi.12503)

Caro, T. (2007). Behavior and conservation: a bridge too far? *Trends in Ecology and Evolution*, 22(8), 394–400. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.06.003>

De Barbara, M., Miquel, C., Lobréaux, S., Quenette, P. Y., Swenson, J. E. & Taberlet, P. (2017) High-throughput microsatellite genotyping in ecology: improved accuracy, efficiency, standardization and success with low-quantity and degraded DNA. *Molecular Ecology Resources*, 17, 492–507. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12594>

Doyle, J. M., Bell, D. A., Bloom, P. H., Emmons, G., Fesnock, A., Katzner, T. E., LaPré, L., Leonard, K., SanMiguel, P., Westerman, R. & J. DeWoody, A. (2018). New insights into the phylogenetics and population structure of the prairie falcon (*Falco mexicanus*). *BMC Genomics*, 19(233), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4615-z>

Excoffier, L., & Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>

Fehérvári, P., Harnos, A., Neidert, D., Solt, S. Z., & Palatitz, P. (2008). Modeling habitat selection of the red-footed falcon (*Falco vespertinus*): A possible explanation of recent changes in breeding range within Hungary. *Applied Ecology and Environmental Research*, 7(1), 59–69.

Flanagan, S. P. & Jones A. G. (2018) The future of parentage analysis: From microsatellites to SNPs and beyond. *Molecular Ecology*, 28(3) 544–567. <https://doi.org/10.1111/mec.14988>

Frankham R. (2003). Genetics and conservation biology. *C. R. Biologies*, 326, S22–S29. [https://doi.org/doi:10.1016/S1631-0691\(03\)00023-4](https://doi.org/doi:10.1016/S1631-0691(03)00023-4)

Frankham, R. (2005). Genetics and extinction. *Biological Conservation*, 126, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.05.002>

Fridolfsson, A. & Ellegren, H. (1999). A Simple and Universal Method for Molecular Sexing of Non-Ratite Birds. *Journal of Avian Biology*, 30(1), 116–121. <https://doi.org/10.2307/3677252>

Garnier, R., Ramos, R., Staszewski, V., Militão, T., Lobato, E., González-Solís J., & Boulinier,

- T. (2012). Maternal antibody persistence: a neglected life-history trait with implications from albatross conservation to comparative immunology. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1735), 2033–2041. doi:10.1098/rspb.2011.2277
- Kalinowski, S. T., Taper, M. L., & Marshall, T. C. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16(5), 1099–1106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03089.x>
- Keve, A. & Szijj, J. (1957). Distribution, biologie et alimentation du Facon kobez Falco vespertinus L. en Hongrie. *Alauda*, 25, 1–23.
- Korpimäki, E., Lahti, K., May, C. A., Parkin, D. T., Powell, G. B., Tolonen, P., & Wetton, J. H. (1996). Copulatory behaviour and paternity determined by DNA fingerprinting in kestrels: Effects of cyclic food abundance. *Animal Behaviour*, 51(4), 945–955. <https://doi.org/10.1006/anbe.1996.0098>
- Krištín, A., Tulis, F., Klimant, P., Bacsa, K., & Ambros, M. (2017). Food supply (Orthoptera, Mantodea, Rodentia and Eulipotyphla) and food preferences of the red-footed falcon (*Falco vespertinus*) in Slovakia. *Slovak Raptor Journal*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1515/srj-2017-0005>
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Magonyi, N. M., Mátics, R., Szabó, K., Fehérvári, P., Solt, S., Palatitz, P., & Vili, N. (2019). Characterization of novel microsatellite markers for the red-footed falcon (*Falco vespertinus*) and cross-species amplification in other Falco species. *European Journal of Wildlife Research*, 65(4). <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1300-8>
- Magonyi, N. M., Szabó, K., Bertók, P., Fehérvári, P., Solt, S., Palatitz, P., Vili, N., & Mátics, R. (2021). Extra-pair paternity, intraspecific brood parasitism, quasi-parasitism and polygamy in the Red-footed Falcon (*Falco vespertinus*). *Ibis: international journal of avian science*. Article DOI: 10.1111/ibi.12932
- Negro, J. J., Villarroel, M., Tella, J. L., Kuhnlein, U., Hiraldo, F., Donazar, J. A., & Bird, D. M. (1996). DNA fingerprinting reveals a low incidence of extra-pair fertilizations in the lesser kestrel. *Animal Behaviour*, 51(4), 935–943. <https://doi.org/10.1006/anbe.1996.0097>
- Nesje, Marit, & Røed, K. H. (2000). Microsatellite DNA markers from the gyrfalcon (*Falco rusticolus*) and their use in other raptor species. *Molecular Ecology*, 9(9), 1438–1440. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2000.00999-4.x>
- Nesje, M., Røed, K. H., Lifjeld, J. T., Lindberg, P., & Steen, O. F. (2000). Genetic relationships in the peregrine falcon (*Falco peregrinus*) analysed by microsatellite DNA markers. *Molecular Ecology*, 9(1), 53–60. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2000.00834.x>
- Nittinger, F., Gamauf, A., Pinsker, W., Wink, M., & Haring, E. (2007). Phylogeography and population structure of the saker falcon (*Falco cherrug*) and the influence of hybridization: Mitochondrial and microsatellite data. *Molecular Ecology*, 16(7), 1497–1517. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03245.x>
- Palatitz, P., Fehérvári, P., Solt, S., & Horváth, É. (2015). Breeding population trends and pre-migration roost site survey of the red-footed falcon in Hungary. *Ornis Hungarica*, 23(1),

77–93. <https://doi.org/10.1515/orhu-2015-0007>

- Palatitz, P., Solt, Sz. & Fehérvári, P. (2018). *The Blue Vesper - Ecology and Conservation of the Red-footed Falcon*. (MME 2018). MME BirdLife Hungary.
- Peakall, R. & Smouse, P. E. (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/bts460>
- Pryke, S. R., Astheimer, L. B., Griffith, S. C., & Buttemer, W. A. (2012). Covariation in life-history traits: Differential effects of diet on condition, hormones, behavior, and reproduction in genetic finch morphs. *American Naturalist*, 179(3), 375–390. <https://doi.org/10.1086/664078>
- Purger, J. J. (1998). Diet of Red-footed Falcon *Falco vespertinus* nestlings from hatching to fledging. *Ornis Fennica*, 75(4), 185–191. ISSN 0030-5685
- Putman, A. I. & Carbone I. (2014) Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. *Ecology and Evolution*, 4(22), 4399–4428. <https://doi.org/10.1002/ece3.1305>.
- Rosenfield, R. N., Sonsthagen, S. A., Stout, W. E., & Talbot, S. L. (2015). High frequency of extra-pair paternity in an urban population of Cooper’s Hawks. *Journal of Field Ornithology*, 86(2), 144–152. <https://doi.org/10.1111/jfo.12097>
- Selkoe, K. A., & Toonen, R. J. (2006). Microsatellites for ecologists: A practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9(5), 615–629. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00889.x>
- Suh, A., Kriegs, J. O., Brosius, J., & Schmitz, J. (2011). Retroposon insertions and the chronology of avian sex chromosome evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 28(11), 2993–2997. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr147>
- Sutherland, W. J. (1998). The importance of behavioral studies in conservation biology. *Animal Behaviour*, 56(4), 801–809. <https://doi.org/10.1006/anbe.1998.0896>
- Swatschek, I., Ristow, D., Scharlau, W., W. C. and W. M. (1993). Populationsgenetik beim Eleonorenfalken (*Falco eleonora*). *Journal of O*, 134, 137–143. <https://doi.org/DOI:10.1007/BF01640082>
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., & Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535–538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
- Warkentin, I. G., D.-Curzon, A., Carter, R. E., Wetton, J. H., James, P. C., Oliphant, L. W., & Parkin, D. T. (1994). No evidence for extrapair fertilizations in the merlin revealed by DNA fingerprinting. *Molecular Ecology*, 3(3), 229–234. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1994.tb00056.x>
- Weigmann, H. (1968). Reduction of disulfide bonds in keratin with 1,4-dithiothreitol. I. Kinetic investigation. *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry*, 6(8), 2237–2253. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/pol.1968.150060819>
- Weir, B.S. & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-Statistics for the Analysis of Population-Structure. *Evolution*, 38, 1358–1370.

Publikációs lista

Publikációk

- Magonyi, N. M., Mátics, R., Szabó, K., Fehérvári, P., Solt, S., Palatitz, P., & Vili, N. (2019). Characterization of novel microsatellite markers for the red-footed falcon (*Falco vespertinus*) and cross-species amplification in other Falco species. *European Journal of Wildlife Research*, 65(4). <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1300-8>
- Piross, I. S., Siliwal, M., Kumar, R. S., Palatitz, P., Solt, S., Borbáth, P., Vili, N., Magonyi, N., Vas, Z., Rózsa, L., Harnos, A., & Fehérvári, P. (2020). Sex interacts with age-dependent change in the abundance of lice-infesting Amur Falcons (*Falco amurensis*). In *Parasitology Research*, 119(8), 2579–2585. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06753-w>
- Magonyi, N. M., Szabó, K., Bertók, P., Fehérvári, P., Solt, S., Palatitz, P., Vili, N., & Mátics, R. (2021). Extra-pair paternity, intraspecific brood parasitism, quasi-parasitism and polygamy in the Red-footed Falcon (*Falco vespertinus*). *Ibis: international journal of avian science*. <https://doi.org/10.1111/ibi.12932>

Konferenciák

1. Magonyi, N. M., Vili, V., Szabó, K., Fehérvári, P., Kumar, S. R. & Mátics, R. (2018) **New microsatellite markers for a protected raptor species, *Falco vespertinus***. Student Conference on Conservation Science (SCCS), Ökológiai Kutatóközpont – (Pozsteres előadás)
2. Magonyi, N. M. (2019) **Fifty Shades of Blue**. Student Conference on Conservation Science: SCCS 2019, Ökológiai Kutatóközpont – (Előadás)
3. Magonyi, N. M. (2019) **Extra-pair paternity and intraspecific brood parasitism in the Red-footed Falcon (*Falco vespertinus*) using species-specific and cross-species microsatellite markers**. International Symposium on Reproductive strategies - Reproductive strategies from genes to societies 2019 – (Előadás)
4. Magonyi, N. M. (2015) **Egyedi azonosítás – egyedi módszer: A DNS barcoding felhasználási lehetőségei, XX**. Bolyai Konferencia, Eötvös Loránd Tudományegyetem– (Előadás)
5. Magonyi, N. M. (2015) **Észak-Vietnámból származó denevérminták filogenetikai vizsgálata - Két új faj felfedezése**, Students' Scientific Conference of Biology, Eötvös Loránd Tudományegyetem

Tudományometriai adatok:

Tudományos közlemények összesített impaktja:

Disszertáció témakörében megjelent publikációk: 3,457

Összes publikáció: 5,098

Idézők összesen: 0