

SZENT ISTVÁN EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS KÖRNYEZETTUDOMÁNYI KAR

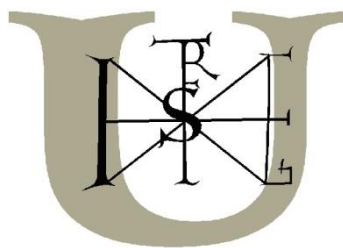
Nem invazív monitoring módszerek fejlesztése
emlős ragadozó fajok esetében

Doktori (PhD) értekezés

Patkó László

Gödöllő

2017



A doktori iskola

megnevezése: Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola

tudományága: Állattenyésztési tudományok

vezetője: Dr. Mézes Miklós
egyetemi tanár, az MTA levelező tagja
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Állattudományi Alapok Intézet, Takarmányozástani Tanszék

Témavezető: Dr. Heltai Miklós
egyetemi docens
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Vadvilág Megőrzési Intézet

a témavezető jóváhagyása

az iskolavezető jóváhagyása

TARTALOM

Jelölések, rövidítések és angol nyelvi terminusok jegyzéke.....	5
1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK.....	6
1.1. A ragadozó emlősök szerepe az ökoszisztémákban.....	6
1.2. A ragadozó emlősök globális és hazai aktuális helyzete.....	7
1.3. Célkitűzések.....	8
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	10
2.1. A ragadozó emlősökre irányuló invazív és nem invazív módszerek összevetése és definiálása.....	10
2.2. A nem invazív vizsgálati módszerek történeti áttekintése, különös tekintettel a szőrgyűjtési módszerekre.....	15
2.3. Gerincesek esetén gyűjthető nem invazív minták.....	16
2.3.1. Emlős fajok jelenlétének kimutatása nem invazív módszerekkel.....	17
2.3.2. Célzott szőrgyűjtési lehetőségek emlős ragadozók jelenlétének kimutatására.....	21
2.3.2.1. Csali vagy attraktáns nélküli (passzív) szőrgyűjtési módszerek.....	21
2.3.2.2. Csallival vagy attraktánssal ellátott (aktív) szőrgyűjtési módszerek.....	23
2.4. A szőr típusai, ontogenezise, ultrastrukturális szerkezete, színe és morfológiája.....	29
2.5. A szőrök alapján történő faj- és egyedszintű azonosításhoz leggyakrabban használt módszerek.....	30
2.5.1. Szőrmorfológián alapuló határozás esetén használt bélyegek.....	30
2.5.2. DNS diagnosztikai eljárások.....	32
3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	36
3.1. A vizsgálati helyszínek.....	36
3.1.1. Fészekgyűjtés különböző élőhelyeken.....	36
3.1.2. Zárttéri helyszínek a szőrscapdák tesztelésére és referenciák gyűjtésére.....	37
3.1.3. A szőrscapdák és opportunisztikus mintavételezések terepi helyszínei.....	37
3.2. Vizsgálati módszerek.....	39
3.2.1. Irodalmi áttekintésre alapozott elemzések.....	39
3.2.1. Városi fészekgyűjtés.....	40
3.2.2. Zárttéri szőrscapda tesztek.....	41
3.2.3. Terepi mintagyűjtés Natura 2000 helyszíneken.....	42
3.3. Laboratóriumi vizsgálati módszerek.....	44
3.3.1. A morfológiai szőrhatározás módszertana.....	44
3.3.2. A genetikai szőrhatározás módszertana.....	46
3.4. Statisztikai módszerek és szoftverek.....	47
4. EREDMÉNYEK.....	49
4.1. Irodalmi áttekintésre alapozott vizsgálatok.....	49
4.2. Az elővizsgálatok eredményei.....	53
4.2.1. A morfológiai és genetikai határozás pontossága.....	53
4.2.2. Vakteszt: referenciaminták fajszintű azonosíthatósága.....	56
4.2.3. Zárt téren tesztelt szőrgyűjtő eszközök és szaganyagok.....	57
4.3. Terepi mintagyűjtés, szőrminták gyűjtése.....	60
4.3.1. Fészkek, odúk: csali nélküli természetes szőrscapdák.....	60
4.3.1.1. Városi maradvány élőhely: gödöllői parkok.....	60
4.3.1.2. Természetszerű élőhely: Merzse-mocsár.....	61
4.3.1.3. Természetes élőhely: Mátra.....	62
4.3.2. Csallianyaggal ellátott szőrscapdák Natura 2000 területeken.....	63
4.3.2.1. Mátra SPA Natura 2000 terület emlősfajának szőrscapdás vizsgálatok alapján.....	63
4.3.2.2. Kiskunsági szikes tavak és örjegi turjánvidék SPA Natura 2000 terület emlősfajának szőrscapdás vizsgálatok alapján.....	65
4.3.2.3. A két vizsgálati terület fajlistájának összehasonlítása szőrscapdás eredmények alapján.....	67

4.3.2.3. A terepre kihelyezett csapdatípusok hatékonysága	68
4.3.3. Opportunistikus mintagyűjtés	70
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	71
Irodalmi áttekintésre alapozott vizsgálatok.....	71
A morfológiai és genetikai határozás pontossága.....	72
Vakteszt: referenciaminták fajszintű azonosíthatósága	73
Zárt téren tesztelt szőrgyűjtő eszközök és szaganyagok.....	75
Fészkek, odúk: csali nélküli természetes szőrscapdák	76
Csalianyaggal ellátott szőrscapdák Natura 2000 területeken	78
A terepre kihelyezett csapdatípusok hatékonysága	80
Opportunistikus mintagyűjtés	84
6. GYAKORLATI JAVASLATOK	85
6.1. Terepi mintagyűjtési protokoll aktív szőrscapdák esetén (A, B és C típus).....	85
6.2. Terepi mintagyűjtési protokoll passzív szőrscapdák esetén (madárfészkek-analízis)	86
6.3. Laboratóriumi protokoll fajszintű szőrhatározáshoz (küllemi bélyegek alapján)	86
6.4. Laboratóriumi protokoll fajszintű szőrhatározáshoz (mitokondriális DNS alapján)	87
7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	89
8. ÖSSZEFOGLALÓ.....	90
9. SUMMARY	92
11. MELLÉKLETEK.....	94
11.1. Irodalomjegyzék.....	94
11.2. A terepi szőrscapdák kihelyezéséhez és elkészítéséhez használt eszközök és anyagok.....	105
11.3. Mesterséges szőrgyűjtőeszközök ellenőrzése során használt jegyzőkönyv (példa).....	106
11.4. Néhány példa a morfológiai referenciamunkákból összeállított gyűjteményből	107
11.5. A mitokondriális DNS alapú vizsgálatok PCR protokolljai, primerei és multiplex reagensai	108
11.6. Különböző attraktánsok használata egyes ragadozó fajok esetén	109
11.7. A morfológiai és genetikai szőrhatározás megbízhatósága.....	111
11.8. Terepi mintagyűjtés a mátrai és kiskunsági mintaterületeken.....	113
12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	115

Jelölések, rövidítések és angol nyelvi terminusok jegyzéke

NGS (non-invasive genetic sample):	nem invazív genetikai minta
NIS (non-invasive sample):	nem invazív minta
Hair snare, hair trap, hair tube, hair catcher:	szőrgyűjtő eszköz, szőrscapda
Rub pad:	dörgölőzőpárna (Patkó 2012), dörgölőző felület
Lure stick:	illatkaró (Gombkötő Péter szóbeli közlése), szagcsapda (Tóth 2015)
Hair collar:	terelő drótháló (Tóth 2015), szőrgyűjtő karám, karám (Patkó 2012)
Cubby, tube:	csőcsapda, dobozcsapda (Tóth 2015, Patkó 2012)
Post hair snare:	oszlopcsapda (Patkó 2012)
STR (short tandem repeat):	mikroszatellit (marker)
CSÉ:	csapdaéjszaka
PCR (polymerase chain reaction):	polimeráz láncreakció
GH (guard hair):	fedőszőr
UH (under hair):	pehelyszőr
mtDNS:	mitokondriális DNS
eDNS:	környezeti (environmental) DNS
darts:	dartsz-fecskendő, dartsz-biopszia

"De mikor nagy erdőkbe mégy vagy a pusztaságokra, vagy a tengeren utazol, s lelked eltelik a fenség és a végtelenség érzésével, ne csald meg magad: tudjad, hogy szíved mélyén téged csak az ember érdekel, semmi más."

Márai Sándor: Fűves könyv

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

1.1. A ragadozó emlősök szerepe az ökoszisztémákban

A ragadozókra ősidők óta versenytársként tekint az ember. E fajok fő táplálékát általában vadfajok és kismamók teszik ki, de gyakran zsákmányolnak a külterjesen tartott háziállatok közül is. Az ebből származó problémákat a történelmi időkben kerítésekkel, őrzéssel, őrkutyákkal, csapdázással, vadászattal vagy éppen mérgezett eleség kihelyezésével igyekeztek orvosolni (Altai 1958). A XX. század jelentős részében általánosan elterjedt nézet volt, hogy a ragadozóknak viszonylag kicsi az ökoszisztémákra gyakorolt ökológiai hatása, különösen a termelő szervezetekkel és az elsődleges fogyasztókkal összehasonlítva (Rosenzweig 1973, Terborgh & Estes 2010, Heltai & Lanszki 2013). A táplálékpíramis trofikus szintjeit megvizsgálva azt látjuk, hogy a ragadozók viszonylag kis számban, a felső szinteken és a csúcson találhatóak meg (Fryxell et al. 2014). Mivel a piramis alsó lépcsőin nagy számban helyezkednek el növények és növényevők, emiatt eredendően hatnak a fölöttük található szintekre, ezért a felsőbb régiók egyes szereplőinek eltávolítása nem okozhat különösebb gondot az ökoszisztéma működése szempontjából. Később azonban világossá vált az, hogy a ragadozóknak fontos ökológiai szerepe van (Estes & Palmisano 1974, Wilmers et al. 2003, Ripple et al. 2014). E fajok bonyolult kaszkád mechanizmusokon keresztül több lépcsőn át hatnak az alattuk elhelyezkedő trofikus szintekre és így az egész ökoszisztémára is (Terborgh & Estes 2010).

Az emlős ragadozók zsákmányolással közvetlenül csökkenthetik a zsákmányfajok állománysűrűségét, de közvetett hatásukkal megváltoztathatják a prédafajok viselkedését is. A ragadozók prédafajai vagy vetélytársai például más élőhelyet választhatnak (Hernández & Laundré 2005), megváltoztathatják a csoportméretüket (Childress & Lung 2003) vagy az aktivitási periódusukat, de akár a táplálkozásra fordított időt is csökkenthetik (Brown et al. 1999). Az is előfordulhat, hogy az elsődleges zsákmányfajok számára rendelkezésre álló táplálékforrás korlátozott, ez pedig hozzájárulhat az egymással versengő, de gyengébb versengési képességű táplálékfajok állományának növekedéséhez (Crooks & Soulé 1999). E szerepeik miatt a ragadozók a természetes rendszerekben fontos szabályozó szerepet tölthetnek be.

1.2. A ragadozó emlősök globális és hazai aktuális helyzete

A ragadozók (Carnivora) rendje 252 szárazföldi fajt számlál. Az IUCN Vörös Listáján 65 olyan faj található, amely a veszélyeztetett kategóriák valamelyikébe (*súlyosan veszélyeztetett, veszélyeztetett, sebezhető*) tartozik (IUCN Vörös lista). A Földünkön található ragadozófajok 26%-a veszélyeztetett, további 4%-a pedig adathiányos. Ez alapján globális szinten vizsgálva elmondható, hogy a ragadozók rendjébe tartozó fajok közel egyharmada emberi segítségre szorul. A fajok veszélyeztetettsége azonban regionálisan eltérhet. A közvetlen üldözések, az élőhelyvesztés, valamint a környezeti terhelés fokozódása miatt a XX. század nagy részében a ragadozók állománya és elterjedési területe világszerte csökkenő tendenciát mutatott. Az utóbbi néhány évben azonban Európában bizonyos nagytestű ragadozók, mint például a szürke farkas (*Canis lupus*) és a barnamedve (*Ursus arctos*), visszahódítottak olyan területeket, ahol hosszú évek óta nem fordultak elő (Deinet et al. 2013, Toland et al. 2013, Chapron et al. 2014, Vila et al. 2002). Az utóbbi években hazánkban is hallunk Szlovákiából átköborolt példányokról, de az Északi-középhegység bizonyos területein a farkasok (Hausknecht et al. 2010) és hiúzok (Heltai 2010, Darányi szóbeli közlés) állandó jelenlétére is számíthatunk. Rendszeresen érkeznek híradások a medvék megjelenéséről ([http1](#), [http2](#), [http3](#)), illetve terepi minták (pl. szőr- és ürülékminta) gyűjtésével is sikerült bizonyítani a faj megjelenését az országban (Patkó et al., nem publikált).

Ahhoz, hogy megfelelhessünk a visszatelepülő nagyragadozók által támasztott új helyzet adta kihívásoknak, újra meg kell tanulnunk együtt élni ragadozó „versenytársainkkal”. Ehhez pedig tisztán kell látnunk, hogy ragadozóink milyen hatással lehetnek közvetlen környezetünkre. Sajnos a vadon élő állatokról gyakran a legalapvetőbb információkkal sem rendelkezünk (Joppa et al. 2016). A komplexebb hatásvizsgálatok (Terborgh & Estes 2010, Eisenberg 2014) pedig nem kezdődhetnek meg olyan adatok nélkül, mint amilyenek a jelenlét hiány adatok, elterjedési terület mérete, az állományváltozás iránya, esetleg az állomány sűrűsége.

A hazánkban egyre gyakrabban megjelenő, sőt szaporodó nagyragadozók elterjedéséről és állománysűrűségéről csak korlátozott információkkal rendelkezünk. Más fajokkal is hasonló problémák adódnak. Az erdeinkben általánosan elterjedtnek vélt vadmacska (*Felis silvestris*) fajtisza állományainak gócpontjait nem ismerjük (Biró 2004). Kistestű rejtőzködő menyétféléinkről, mint amilyen a közönséges menyét (*Mustela nivalis*), hermelin (*Mustela erminea*), nyuszt (*Martes martes*), házi görény (*Mustela putorius*) és molnárgörény (*Mustela eversmanni*), általában kevés információ áll rendelkezésünkre (Bihari et al. 2007). Betelepülő potenciálisan invazív ragadozóinkról, a mosómedvéről (*Procyon lotor*) és a nyestkutyáról (*Nyctereutes procyonoides*) csak szórvány elejtési és kérdőíves adatokkal rendelkezünk (Csányi et al. 2014, Heltai 2002, Heltai 2010).

Mivel ragadozóink gyakran csak kis egyedsűrűségben találhatóak meg élőhelyeiken és rejtőzködő életmódot folytatnak, ezért sokszor csupán hátrahagyott nyomaikból (pl.: szőr, lábnyom, csapa, prédamaradvány, ürülék) tájékozódhatunk jelenlétükről. A molekuláris biológiai módszerek rohamos fejlődésével a fent említett közvetett vagy nem invazív genetikai minták (NGS) egyre könnyebben juttatnak minket a fajok kezeléséhez és védelméhez szükséges információkhoz. Bár a DNS izolálása rossz minőségű mintákból még mindig kihívásokkal teli feladatnak tekinthető, az utóbbi időben komoly előrelépések történtek a nem invazív minták DNS izolálása során (Johnson et al. 2013). Az extrém esetek közé tartozik például a poszméhek végtermékéből izolált és sokszorosított DNS (Scriven et al. 2013), vagy a laboratóriumi körülmények között tesztelt pókháló minta, amely nem csak a predátor (fekete özvegy, *Latrodectus* spp.), de a prédaként elfogyasztott házi tücsök (*Acheta domesticus*) DNS mintáit is tartalmazta (Xu et al. 2015).

A fentiekből látszik, hogy konzervációbiológiai és gazdálkodási célból egyaránt fontos a ragadozófajok monitorozása. A vizsgálatokhoz pedig egyre kifinomultabb módszerek állnak rendelkezésünkre. A monitorozás azonban többszintű: irányulhat az állományok vagy fajok jelenlétére (i), az állományváltozás irányára (ii) vagy a konkrét létszámra és sűrűségi viszonyokra (iii). Az egyes szinteket és metodikákat a terepi vizsgálatok és laboratóriumi technikák rohamos fejlődése miatt folyamatos ellenőrzés alatt kell tartani. A nem invazív vizsgálatok előtérbe helyezésével, az emberi zavarás kiszűrésével minimális torzítással juthatunk megbízható adatokhoz. A terepi vizsgálatok hatékonyságát azonban ellenőrizni kell, ha költséghatékony és pontos módszereket szeretnénk kapni az egyes szintek monitorozásához.

1.3. Célkitűzések

A fent bemutatott okok miatt értekezésemben a Magyarországon élő emlős ragadozók jelenlétéhez köthető monitoring módszerek fejlesztésével foglalkozom. A szörgyűjtési technikák különböznek és hatékonyságuk feltételezhetően több tényezőtől is függ, így célom volt, hogy elvessem vagy megerősítsem a szörgyűjtési módszerek monitoring célra történő alkalmazását hazai körülmények között. Az alábbi kérdésekre kerestem választ:

1. Milyen szörgyűjtési módszerek alkalmasak leginkább a hazai emlős ragadozók tanulmányozására?
 - a. Vannak-e egy-egy fajcsoport esetén jellemzően használt szőrscsapda típusok és attraktánsok?
 - b. Mennyire gyakran használják ezeket a mintagyűjtési módszereket Európa-szerte?
2. Különbözik-e az egyes testtájokról gyűjtött szőrök fajszintű azonosításának pontossága?
 - a. Van-e különbség az egyes testtájokról gyűjtött szőrök DNS mennyiségében?

3. Van-e különbség az egyes szőrgyűjtő eszközök vagy szőrgyűjtő felületek hatékonysága között?
4. Van-e különbség a morfológiai szőrhatározás pontossága és a mtDNS alapú fajazonosítás között?
 - a. Van-e különbség az egyes fajok határozhatósága között?
5. Elkészíthetők és eredményesen működtethetők-e a szőrgyűjtő eszközök hazánkban zárttéri és szabadterületi körülmények között emlős ragadozóktól történő mintagyűjtésre?
 - a. Rendelkeznek-e elég információval (genetikai és morfológiai) a szőrscsapdákkal gyűjthető szőrök fajszerű azonosítás elvégzéséhez?
6. A természetes szőrgyűjtők egy speciális típusa, a madárfészek alkalmas-e természetes és városi körülmények között is emlős faunisztikai adatokat szolgáltatni?
7. Milyen faunisztikai adatok gyűjthetők védett Natura 2000 területekről különböző szőrgyűjtési módszerekkel?
8. Melyek a terepen legjobban működő szőrscsapdák?

A disszertációmban feltett kérdések különböző szinteken segítenek a hazai ragadozó fajok és nem invazív monitoring módszerek megismerésében. Feltételezéseim szerint a szőrscsapdák költséghatékonyan használhatóak minden terepen dolgozó szakember (például vadbiológus, természetvédelmi őr, vadgazda, erdész) számára. A morfológiai határozáson alapuló vaktesztek és referenciaanyagok összeállításával megtudom, hogy a terepi minták (fedőszőrök) begyűjtése után mely fajok és testtájak határozhatók könnyedén laboratóriumi körülmények között. Végül pedig az egyes terepi (madárfészek-analízis és szőrscsapdázás) és laboratóriumi (morfológiai és mtDNS alapú) eljárásokhoz protokollokat állítok össze a terepen, illetve laboratóriumban dolgozó szakemberek számára. Bízom benne, hogy ezzel hatékonyabbá tehető a ragadozó emlősök hazai jelenlétének és elterjedésének vizsgálata.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A ragadozó emlősökre irányuló invazív és nem invazív módszerek összevetése és definiálása

Az emlősfajok jelenlétének és állományviszonyainak vizsgálata emberré válásunkkal egyidős. A vadászó-gyűjtögető ember számára fontos volt tudni, hogy merre találhatóak a prédafajok csapatai vagy hol nagyobb az esélye egy ragadozóval való találkozásnak. A legkorábbi jelenlétvizsgálatok is nyomokon, csapákon és ürülékek morfológiai vizsgálatán alapultak. Egy elejtett vagy befogott állat vizsgálatával (invazív) általában több információhoz juthatunk, mint egy lábnyom vagy csapa megfigyelésével (nem invazív). Dolgozatomban az invazív kifejezést nem pejoratív értelemben használom, hiszen több invazív vizsgálati módszer is létezik, amely nélkülözhetetlen adatokat szolgáltat a vadbiológia számára (összefoglalta: MacKay et al. 2008).

Dolgozatomban a lehető legtágabb értelemben használom a nem invazív mintagyűjtés fogalmát, de szükségesnek érzem, hogy a témakörhöz tartozó egyes fogalmakat tisztázzam. Zárójelben dőlt betűvel a szakkifejezések angol szakirodalmi megfelelőit tüntettem fel az egyszerűbb kereshetőség érdekében.

- a) Közvetett mintagyűjtés (*indirect sampling*): klasszikus vizsgálati módszerek, amelyek a vizsgált fajról az állat zavarása nélkül gyűjtenek információkat (pl. lábnyomokra alapozott állománybecslés, Stander 1998).
- b) Közvetlen mintagyűjtés (*direct sampling*): klasszikus vizsgálati módszerek, amelyek a vizsgált faj valamilyen mértékű zavarásával vagy sérülésével juttatnak minket az állathoz kapcsolódó információkhoz (pl. távolsági mintavételezés tengeri emlősökön, Gales et al. 2009).
- c) Invazív vizsgálat (*invasive, intrusive vagy disruptive method*): a modern szakzsargonban a közvetlen (**b**) vizsgálati módszerek helyettesítésére szolgáló kifejezés. Az orvosi szaknyelvből lett átemelve, eredetileg olyan diagnosztikai módszerek tartoznak ide, amelyek a páciens bőr vagy egyéb szövetének penetrálásával járnak (MacKay et al. 2008). Ezek a vizsgálatok emiatt valamilyen stresszhatással vagy az állat sérülésével járnak együtt. A molekuláris biológiai módszerek térnyerése során összefonódott a DNS alapú mintavételezéssel. Általában olyan vizsgálati módszereket értenek alatta, amelyek DNS tartalmú mintákhoz juttatják a vizsgálatot végző személyt, de az állat sérülésével, természetes viselkedésének megzavarásával járhatnak (pl. ujjperc eltávolítások, Phillott et al. 2007).

- d) Destruktív vizsgálat (*destructive, lethal method*): szélsőségesen invazív (c) mintavételezés, amely az állat elejtésével jár (pl. hajtóvadászat utáni petefészek vizsgálatok, Fernandez et al. 2008).
- e) Nem invazív vizsgálat (*NGS [non-invasive genetic sampling], NIS [non-invasive sampling], noninvasive, nonintrusive vagy non-disruptive methods*): a modern szakzsargonban a közvetett (a) vizsgálati módszerek helyettesítésére szolgáló kifejezés. Az orvosi szaknyelvből átemelt kifejezés (ld. c), a durva beavatkozásokat mellőző diagnosztikai eljárásokat sorolhatjuk ide. Az ide sorolható módszerek eredetileg az állat sérülésmentes vizsgálatát feltételezték. A molekuláris biológiai módszerek térnyerése során összefonódott a DNS alapú mintavételezéssel. Általában olyan vizsgálati módszereket értenek alatta, amelyek DNS mintákhoz juttatják a vizsgálatot végző személyt az állat sérülése vagy természetes viselkedésének megzavarása nélkül (pl. madárfészekből szörgyűjtés (Tóth 2008, Patkó et al. 2014); szőrscspadázás (Tóth 2002, Patkó et al. 2016a)).
- f) Mérsékelt invazív (*semi-invasive, less invasive, less disruptive*): olyan vizsgálatok, amelyek valamilyen módon megváltoztatják az állatok természetes viselkedését vagy túlélésük esélyét, de feltételezhetően csak elhanyagolható mértékben (pl. rovarok antenna metszése, Lefort et al. 2016).
- g) Zavarásmentes vizsgálat (*non-disruptive*): minden olyan vizsgálati módszer, amely az állat zavarása nélkül juttatja a kutatót adatokhoz (pl. nagytestű tengeri emlősök dartsz-fecskendővel történő vérvétele, Hoberecht et al. 2006)).
- h) Zavarással járó vizsgálat (*disruptive*): olyan eljárások, amelyek minden esetben megváltoztatják az állatok természetes viselkedését vagy hosszú távú túlélési esélyeiket. Ezek nem feltétlenül invazív (c) módszerek (pl. ürülék eltávolítása territórium határról, Brzeziński & Romanowski 2006).
- i) Környezeti DNS, eDNS (eDNA): eredetileg halak és kétéltűek esetében használták. Az állatokból származó DNS tartalmú minták (pl. ürülék, vedlett bőr, nyálka, vizelet) akkumulálódnak a vizekben és egy egyszerű vízminta gyűjtése után a vízben előforduló fajok jelenléte kimutathatóvá válik. Minden olyan DNS-t is potenciálisan tartalmazó minta eDNS lehet, amely a vizsgált faj testéről vagy testéből származik és a szabad természetben véletlenszerűen is hozzáférhető (pl.: szőr, ürülék, vedlett bőr, tojásbéj, Jones et al. 2008)).
- j) Post-mortem vizsgálat: elpusztult állat vizsgálata (pl. elütött, elpusztult vidrák vizsgálata, Lanszki et al. 2015).

A fenti definíciókból is látszik, hogy a területen előforduló szakkifejezések nincsenek elég alaposan tisztázva, sokszor átfednek egymással vagy lényegi (tartalmi) szinten ellentmondanak. Emiatt vannak kutatók, akik a szakterület kifejezéseinek újra definiálását szorgalmazzák (Lefort et al., nem publikált).

Az emlős ragadozókkal kapcsolatos vizsgálatok általában a nem invazív (e) kifejezést részesítik előnyben. Ez alapján a kiválasztott vizsgálati módszer nem zavarhatja az állatot a természetes viselkedésében és nem okozhat neki sérülést (hiszen ez utóbbi is zavarással járna). A ragadozók esetén azonban több faj is territoriális magatartást mutat. A territóriumuk jelölésére pedig dörgölözést, ürülékkel vagy vizelettel való jelölést is szoktak alkalmazni (Macdonald & Loveridge 2010). Ez alapján a „határkő” eltávolítása egy territóriumról komoly beavatkozás lehet egy egyed életében, hiszen a környéken előforduló fajtársak behatolhatnak az eredetileg „foglaltak” jelzett territóriumba. A terület újbóli megvédése és felüljelölése pedig többlet energia-befektetéssel jár az egyed számára (Brzeziński & Romanowski 2006). Különösen igaz lehet ez a téli, táplálékszűk szaporodási időszakban, amikor a territoriális magatartás is a legerősebb lehet. Egyes kameracsapdás vizsgálatok nem invazív volta is megkérdőjelezhető, miután azt figyelték meg, hogy a vaku hatására az éjszakai életmódot folytató farkasodrók (*Potos flavus*) elkerülték a kamerákat (MacKay et al. 2008 idézi Schipper 2007).

Másfelől pedig az invazív (c) tekinthető, sérüléssel járó beavatkozások korántsem biztos, hogy csökkentik az állatok túlélésének vagy génjeik továbbörökítésének esélyét. Mexikói bögőmajmok (*Alouatta pigra*) esetén ragadós dartsz-fecskendők segítségével jelöltek meg állatokat, akik a lövést követően azonnal észrevették az idegen tárgyat és kifésülték magukból. A ragadós felületen pedig néhány szőrszál is maradt (Améndola-Pimenta et al. 2009). Direkt penetrációval (c) jár az a vizsgálati módszer, amikor dartsz-biopszia segítségével gyűjtenek mintát egyes fajokból. Az ilyen vizsgálatok sokszor nem befolyásolják az állat viselkedését, hiszen az egyed nem egy ellene irányuló fenyegetésnek tulajdonítja a rövid fájdalmat, hanem egy nem várt pillanatnyi zavarásnak. Steller-oroszlánfőka (*Eumetopias jubatus*) (Hoberecht et al. 2006) és palackorrú delfinek (*Tursiops truncatus*) (Krützen et al. 2002) esetén a lövések nem okoztak különösebb zavarást az egyedeknek és nem befolyásolták őket a természetes viselkedésükben. A definiálást tovább nehezítik azok az esetek, amelyek közvetlen (b) adatgyűjtésnek tekinthetőek, de már aligha befolyásolják az állat túlélésének esélyét (pl. post-mortem vizsgálatok, j).

Léteznek tehát olyan, eredetileg invazív tekintett eljárások, amelyek valójából nem befolyásolják az egyed túlélését vagy viselkedését, viszont találhatunk olyan nem invazív módszereket is, amelyek igen (Lefort et al., nem publikált, MacKay et al. 2008).

Értekezésemben tágan értelmezem a nem invazív módszereket és mindössze annyit értek alattunk, hogy a vizsgált faj élő egyedeit nem szükséges közvetlenül megfigyelni vagy befogni ahhoz, hogy a jelenlétükhöz kapcsolódó információkat lehessen gyűjteni (Long et al. 2007, **1. táblázat**). Így például a kérdőíves felméréseket csak közvetett mintavételezésnek (**a**) tekintem, mert sok esetben a jelenlét bizonyítása invazív módszerekkel is történhet (pl. egyedi megfigyelés, elejtés (Heltai 2010)).

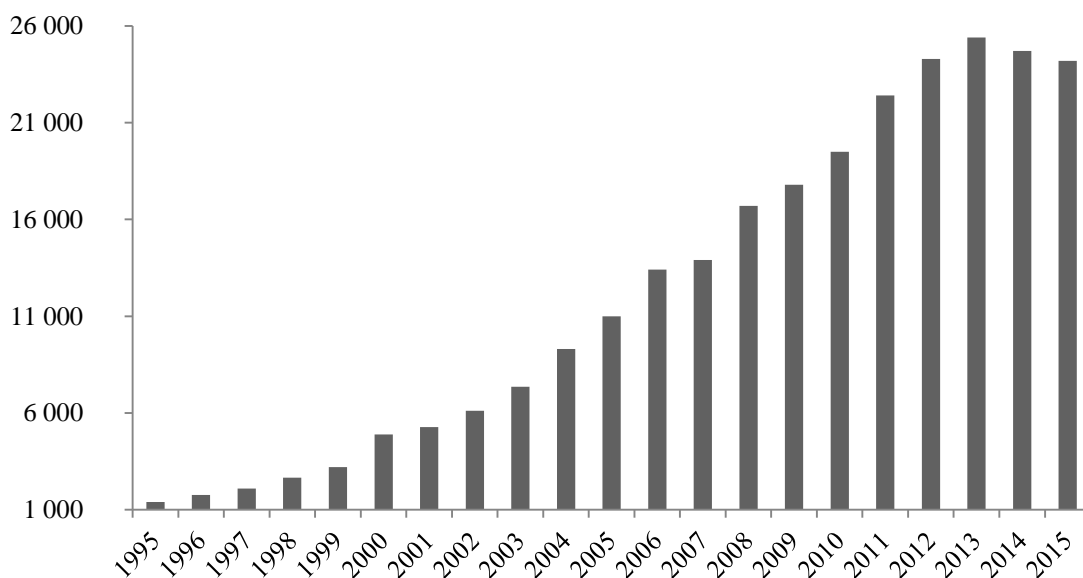
1. táblázat. Néhány példa az invazív (I) és nem invazív (N, szürke) minták felhasználására és a dolgozatban történő értelmezésére.

Minta	Információ	Módszer	Taxon	I/N	Példa
Élő állat	Állomány nagyság	Vizuális megfigyelés	<i>Ursus arctos</i>	I	Solberg et al. (2006)
Élő állat (hang)	Jelenlét, falka jelenlét	Akuszti felmérés	<i>Canis lupus</i>	N	Llaneza et al. (2005)
Elhullott állat	Táplálékanalízis, biometriai adatok	Begyűjtés (post-mortem)	<i>Lutra lutra</i>	N	Lanszki et al. (2015)
Belső szerv (vese)	Kondícióbecslés	Elejtés	<i>Antidorcas marsupialis</i>	I	Oosthuizen (2004)
Belső szerv (petefészek)	Reprodukciós paraméterek	Elejtés (és elütés)	<i>Lepus granatensis</i>	I	Fernandez et al. (2008)
Ürülék	Táplálékanalízis	Ürülékgyűjtés	<i>Canis aureus</i>	N	Markov & Lanszki (2012)
Szőr	Minimális állomány nagyság	Szögesdrót a kotorék bejáratánál	<i>Meles meles</i>	N	Balestrieri et al. (2010)
Víz	Jelenlét	Szivattyús mintavétel	<i>Hemichromis letourneuxi</i>	N	Díaz-Ferguson (2014)
Szövet	Állomány nagyság	Dartsz-biopszia	<i>Tursiops sp.</i>	I	Krützen et al. (2002)
Vér (tüzelés)	Nem- és fajhatározás	Nyomkövetés (hóban)	<i>Canis lupus</i>	N	Scandura (2005)
Vizelet	Faj- és egyedhatározás	Nyomkövetés (hóban)	<i>Canis lupus</i>	N	Rigg et al. (2014)
Orrnyílásból származó levegő	Baktériumflóra határozás	Idomítással (zárttér)	<i>Delphinidae</i>	I	Lima et al. (2012)
Lábnyom, csapa	Jelenlét	Illat-állomással	<i>Vulpes vulpes, Mephitis mephitis</i>	N	Sargeant et al. (2003)
Fénykép	Egyedazonosítás	Automata kamerák kihelyezése	<i>Panthera tigris</i>	N	Azlan & Sharma (2003)
Prédamaradvány	Dögfogyasztás vizsgálata	Prédák felkeresése	<i>Canis lupus</i>	N	Wilmers et al. (2003)
Vedlett bőr	Egyedazonosítás	Lékek mellől gyűjtve	<i>Phocidae</i>	N	Swanson et al. (2006)
Tojáshéj	Fajazonosítás	Fészek mellől gyűjtve (szabad területi)	<i>Alligator sinensis</i>	N	Hu & Wu (2008)
Műtojás	Ragadozók azonosítása	Harapásnyomok a műtojáson és line transect állománybecslés	<i>Charadrius ruficapillus</i>	N	Ekanayake et al. (2015)
Madárfészek	Jelenlét	Fészek, odúk célzott gyűjtése	<i>Mammalia</i>	N	Tóth (2008), Ondursova & Adamik (2014), Patkó et al. (2014)
Nyál	Egyedazonosítás	Ízesített fagolyók kijuttatása (zárttér)	<i>Canis familiaris</i>	N	Lobo et al. (2015)
Gyomor	Táplálékanalízis	Post-mortem vizsgálat	<i>Lutra lutra</i>	N	Lanszki et al. (2015)
Madártoll	DNS mennyiség, tisztaság	Frissen tépett és vedlett tollak gyűjtése (teszt)	<i>Tetrao urogallus</i>	N (vedlett), I (elejtett)	Segelbacher (2002)

2.2. A nem invazív vizsgálati módszerek történeti áttekintése, különös tekintettel a szőrgyűjtési módszerekre

A nem invazív módszerek közé sorolhatjuk a nyomokon, csapákon, ürülékeken, tollakon és szőrökön alapuló információk gyűjtését is. A vad- és konzervációbiológia fejlődésével azonban egyre több lehetőség nyílik a terepi minták feldolgozására és a minták egyre több kérdésre tudnak választ adni (MacKay et al. 2008).

A vadbiológiai vagy vadászati célú nyomolvasással kapcsolatos tudás összegyűjtésének és rendszerezésének felvirágzása a 20. század közepére tehető. Észak-amerikai természetbúvárok és kutatók tudományos alapossággal állították össze az első nyomhatározó-könyveket (Muire 1954, Brown 1983 idézi MacKay et al. 2008). A 90-es években egyre többen használták a közvetett módszereket kifinomult kutatási problémák megválaszolására. Fontos összegző írások jelentek meg a módszerek használhatóságáról (menyétfélék esetén: Raphael 1994 idézi MacKay 2008). Ekkortájt hívják fel a figyelmet először a drága és nehezen elérhető DNS technikákon alapuló vizsgálatok jelentőségére, illetve arra, hogy minden ritka faj terepen fellelhető mintáját fontos összegyűjteni, mert a technikák gyors fejlődése várható, így a tartósított minták később még értékes információforrások lehetnek (Zielinski & Kucera 1995, Taberlet et al. 1999). Ezt követően jelentősen növekedett a különböző nem invazív módszereket bemutató forrásmunkák száma (**1. ábra**).



1. ábra. Internetes keresési eredmények a „non invasive” + „conservation” keresőszavakra az elmúlt 10 év publikációi alapján (Google Scholar).

Elsők között szerepeltek a keresőkutyák segítségével nagy számban gyűjthető friss ürülminták (Smith et al. 2001, Wasser et al. 2004) és a célzott szőrscapdás vizsgálatok (Foran et al. 1997). Napjainkban a gyűjthető minták skálája meglehetősen szélessé vált (**1. táblázat**, korábban), de a szőr- és ürülminták a mai napig rendszeresen előkerülnek a vadon élő emlősállatok jelenlétének tanulmányozása során (Rovang et al. 2015, Cristescu et al. 2015).

Az első emlős szőrtani (trichomorfológiai) leírások Brewster (1837) és Quekett (1844) nevéhez fűződnek és denevérfajokkal foglalkoztak. Az alaktani tulajdonságok első precíz leírása viszont Hausman (1920) nevéhez fűződik. Az első mű, amely taxonómiai jelentőséget is párosított a szőrmorfológiához, denevérek rendszertanával foglalkozott (Cole 1924 idézi Tóth 2015). Később Day (1966) és Debrot (1982) prédamaradványok gyomorból és ürülekből történő azonosítására készítették el határozóikat, amelyek módszertani leírásai és nevezéktana meghatározó jelentőségűvé váltak. A legjobban ismert és használt határozók közé tartozik Teerink (1991) atlasza, amely 73 európai emlős faj részletes szőrmorfológiai leírását tartalmazza.

Napjainkban már sokszor molekuláris biológiai markerek (mtDNS, STR vagy SNP alapú) segítségével történnek a faj- és egyedszintű határozások, valamint terepi konzervációbiológiai vizsgálatok. Ezek a vizsgálatok azonban sokszor idő- és pénzigényesek, a tárolás és tartósítás feltételei speciálisak és a mintákban található genetikai örökítőanyag terepi körülmények között is könnyen degradálódhat (Long et al. 2008, Tóth 2015). Az előbbieket, és a genetikai vizsgálatokhoz történő előválogatás miatt a morfológiai bélyegeken alapuló szőrhatározásnak még sokáig hasznát lehet venni a tudományos munkákban.

2.3. Gerincesek esetén gyűjthető nem invazív minták

Kételtűek esetén egy egyszerű vízminta gyűjtése is bizonyíthatja a fajok jelenlétét. Pilliod et al. (2013) azt találta, hogy a tradicionális terepi bejárásokkal és megfigyelésekkel szemben az eDNS-en alapuló technikák az alacsony sűrűségben jelenlévő békák és szalamandrák esetén jobb eredményeket mutatnak. Pozitív összefüggést találtak az eDNS mennyiség és a terepen becsült állomány nagyság, az állatok biomasszája, valamint az állatok által elfoglalt transectek száma között. Mivel a vízben található DNS tartalmú anyagok (pl.: bőr, ürülék, vizelet) a populációsűrűséggel is összefüggenek, így a nagyobb számban megtalálható fajok nagyobb eséllyel lesznek kimutathatóak eDNS minták segítségével is. Hasonló módszert használtak a sporthorgászat szempontjából jelentős amerikai tavipisztráng (*Salvelinus namaycush*) vizsgálatoknál is Kanadában. Lacoursière-Roussel et al. (2015) pozitív összefüggést állapított meg a kopoltyúhálós állománybecslés nagysága és a vízben található pisztrángok eDNS mennyisége között. A szerzők úgy gondolják, hogy az eDNS-sel kapcsolatos kezdeti jelenlét-hiány adatok kalibrálás után akár sűrűségbecslésre is alkalmasak lehetnek a jövőben.

Hüllők esetén nem invazív módon gyűjthető minta lehet a vedlett bőr, ürülék vagy a tojásbély is (Taberlet et al. 1999). Kínai aligátorok (*Alligator sinensis*) kikelt tojásait összegyűjtve alacsony mintaszámú (n=4 fészekalj) mitokondriális és nukleáris DNS alapú vizsgálatokat végeztek. A minták alkalmasak voltak mtDNS alapú fajhatározásra, viszont genotipizálásra mindössze két dinukleotid markert használtak. Hasonló kis mintaszámú vizsgálat segítségével bizonyították, hogy sikeresen izolálható mitokondriális DNS (citokróm-b) különböző európai kígyófajok vedlett bőréből, tojásából és ürülékéből (Jones et al. 2008).

Madarak esetén, a tollmorfológia alapján fajsztintú azonosítást végezhetünk (Brown et al. 2003, Cieslak & Dul 2006), de molekuláris markerek segítségével egyedeket is azonosíthatunk. Segelbacher (2002) ilyen markerek segítségével 949 sikefajd (*Tetrao urogallus*) tollat vizsgált meg, amelyből 804 db nem invazív módon gyűjtött vedlett toll volt, 145 db pedig legálisan elejtett állatok teteméből származott. A DNS izoláláshoz a toll alsó részén található köldököt (*umbilicus inferior*) használta. Összesen 10 tetranukleotid mikroszatellit markerből a minták 23%-án sikerült amplifikálni a markereket az összes vizsgált lókuszon. A tetemekből tépett tollakból eredményesebben lehetett amplifikálni a markereket (57%), mint a vedlett tollakból (17%). A nagyobb tollak pedig jobb mintának bizonyultak (35%), mint a kisebbek (20%). Ilyen módszertani vizsgálatok hazánkban is születtek parlagi sas (*Aquila heliaca*) és házi lúd (*Anser anser domesticus*) tollain található felső köldök (*umbilicus superior*) felhasználásával. Sasok esetén ivari kromoszómák, míg a ludak esetén három különböző nagyságú mikroszatellit marker lett kiválasztva a PCR vizsgálatokhoz. A szerzők javaslata, hogy DNS izolálásra az elsőrendű evezőtollakat és farktollakat használjuk, illetve kerüljük a sok bázispárból (900 bp) álló fragmenteket, valamint tárolás során a meleg és nedves környezetet (Vili et al. 2013). Más kutatók nem értenek egyet azzal, hogy a madaraktól történő tolltépés egy kevésbé invazív módja lenne a genetikai minták gyűjtésének. A vedlett toll joggal tekinthető közvetett vagy nem invazív mintának, de a tépés fizikai penetrációt okoz, csökkentheti az állat túlélési esélyeit, valamint nem juttat jobb minőségű mintákhoz, mint a vérvétel, ezek miatt kerülendő eljárás (McDonald & Griffith 2011).

2.3.1. Emlős fajok jelenlétének kimutatása nem invazív módszerekkel

A klasszikus közvetett mintavételezési módszerek közül a nyomolvasás és ürülékminták gyűjtése tekinthető talán a legrégebbinek (Liebenberg 1990, MacKay et al. 2008). Néha azonban ezeket a módszereket inkább „művészetként”, mint tudományként aposztrofálják, hiszen az egyes természetes életnyomok (pl.: lábnyom, csapa, ürülék, kotorék, dörgölöző felületek) azonosítása nagy szakmai tapasztalatot igényel és sok szubjektivitással terhelt. Az állatok lábnyomait például könnyebb hóban megtalálni, de itt is előfordulhat, hogy a lazább hóban a

nyom körvonala roncsolódik vagy megolvad és emiatt nagyobbak hat (Bang & Dahlström 2006). Ezek a tradicionális módszerek viszont olcsók, széles körben használtak és könnyen hozzáférhetőek (Heinemeyer et al. 2008). E módszerek által akár önkéntesek bevonásával (*citizen science*) is gyűjthetőek az adatok (ld. KeepTracking, 2015). Képzések és pontos terepi protokollok segítségével azonban e módszerek is szolgáltathatnak megbízható tudományos eredményeket egyes fajok jelenlétével vagy elterjedésével kapcsolatban (Zielinski & Kucera 1995). A légi csapakeresések során lekövethetőek a nyomok és a megtalált állatok alapján állománybecslésre is használható az eljárás (Becker et al. 1998), bár a direkt megfigyelés miatt ez a módosított nyomolvasás már nem tekinthető nem invazív módszernek és a költségei is elég magasak lehetnek.

A nyomokon haladva vagy a vizsgálati területet előre meghatározott útvonalon bejárva ürülminták is gyűjthetőek (Kleven et al. 2012), amelyek nem csak a fajszintű határozást tehetik lehetővé (Bleier & Márkus 2015), de táplálékanalízisre (Lanszki et al. 2015) vagy populációgenetikai vizsgálatra (Godinho et al. 2011) is alkalmasak lehetnek. Terepi körülmények között az ürülék deformálódhat, amely megnehezíti a határozást (Monterosso et al. 2013), de a fajra jellemző alak is változhat az állat egészségi állapotától függően. Az ürüléken található epitél sejtekben általában valamilyen mértékben már degradált DNS található, amely a terepen eltöltött idő előrehaladásával a nedvesség és hőmérséklet növelésével tovább degradálódhat (Murphy et al. 2007, Heinemeyer et al. 2008). Emellett speciális laborfeltételek szükségesek (nem invazív labor) a minták feldolgozásához, ahol különösen ügyelni kell a kereszt kontamináció elkerülésére (Godinho, szóbeli közlés). Mindemellett az ürülminták napjainkban elsődleges fontosságú nem invazív mintáknak minősülnek ragadozó emlősök populációgenetikai vizsgálataihoz (Heinemeyer et al. 2008). Még a régmúltra visszatekintő mtDNS alapú fajhatározások is rejtenek magukban új lehetőségeket az olyan ritka és veszélyeztetett fajok vizsgálatánál, mint amilyenek egyes afrikai kórözdők (Silva et al. 2015).

Mivel a ragadozók nagy része rejtett életmódot folytat, ezért általában nehezen megközelíthető helyen készítik el búvóhelyüket vagy kotorékukat. Ezeket az adott fajra jellemző kotorékokat azonban, sokszor más ragadozók is elfoglalják, sőt több faj egyedei is élhetnek közösen egy kotorékban (Kowalczyk et al. 2008). További gondot jelenthet, hogy egyes fajok, csak szaporodási időszakban használják kotorékaikat (Tóth & Heltai 2010). A kotorék előtt található lábnyomok, a föld kihordásának módszere (legyező alakban kiterített, vagy felhalmozott földkupacok), az üreg mérete és formája mind arról árulkodnak, hogy milyen kotoréklakó faj készítette a búvóhelyet (Bang & Dahlström 2006, Bleier & Márkus 2015).

Egyes ragadozófajok monitorozásához akusztikus monitoring is használható. Tengeri emlősök esetén passzív akusztikus monitoring vizsgálatokat használnak jelenlét kimutatásra. E

módszer segítségével a hangadás nincs kiváltva valamilyen speciális eszközzel, csupán rögzítésre kerül a hang, amely később bizonyos szoftverek segítségével fajszerint azonosítható (McDonald & Fox 1999). Ragadozóknál azonban az üvöltés kiváltásával lehet jelenlét adatokhoz jutni. A fajra jellemző üvöltés, mint a kommunikáció egyik formája kiválthat viszontválaszt, amely spektrogramon vizsgálva egyedszintű azonosításra is alkalmas lehet. A spektrogramos vizsgálatokból viszont nem lehet pontosan megmondani, hogy hány tagból áll a válaszoló falka, a hang intenzitása változhat, amely nehezíti az egyedszintű azonosítást, illetve az azonos frekvencián egy időben megszólaló egyedek átfedést mutathatnak (Comazzi et al. 2016). Emiatt ez a módszer minimális állomány nagyság megállapítására vagy jelenlét kimutatására alkalmas lehet, de pontos populációméret egyelőre csak ritkán becsülhető vele (Szabó, szóbeli közlés). A bioakusztikus vizsgálatokból származó minták azonban könnyen tárolhatók (WAVE formátum), nem degradálódnak az idő előrehaladtával és akárhányszor felhasználhatók (Passilongo et al. 2015).

A kameracsapdás, vadkamerás vagy automata kamerás monitoring vizsgálatok sok faj esetében jól működő eljárásnak bizonyulnak (ld. Meek et al. 2014). A módszer nagy múltra tekint vissza, kezdetekben madarak fészekpredátorainak kimutatására használták (Lanszki 2007), majd nagyobb testű teresztris fajok jelenlétének kimutatására alkalmazták (Yasuda 2004), napjainkra pedig általánosan elterjedté vált (Meek et al. 2014). A jelenlét-hiány alapú modellezések (*occupancy modelling*) fontos eszközei az automata kamerák (MacKenzie et al. 2006). Az ilyen vizsgálatok viszont olyan célfajokra alkalmazhatók, amelyek a bundamintázat alapján egyed szinten is megkülönböztethetőek egymástól, továbbá speciális kamerabeállításokra is szükség lehet (Wegge et al. 2004). A kameracsapdás felmérések az állománybecslésen kívül korösszetétel vizsgálatokra (Pebsworth et al. 2011), viselkedési sajátosságok megfigyelésére (Anile et al. 2012, Pebsworth et al. 2011) és faunisztikai adatok (Tobler et al. 2008) gyűjtésére is szolgálhatnak. Napjainkban a kameracsapdák emlőstani vizsgálatokban betöltött szerepe erősödik (Meek et al. 2014), hiszen egyre könnyebben hozzáférhetőek az eszközök és az általuk gyűjtött adatok könnyen kommunikálhatóak (http4). A kameracsapdák beszerzési és karbantartási költségei azonban egyes, nagy eszközfelhasználású és robosztus vizsgálatoknál igen magasak lehetnek (Kays & Slauson 2008) és az eszközök speciális rögzítése szükséges a megrogálás vagy eltulajdonítás elkerülése végett (Azlan & Lading 2006). Továbbá egyes esetekben előfordulhatnak csapdafélő egyedek is, amelyek viselkedése torzíthatja az állománybecslés eredményét (Wegge et al. 2004).

Zárttéri tesztek esetén bizonyították, hogy a nyál is alkalmas lehet nem invazív genetikai minták gyűjtésére. Parafadugóra, fára és hungarocellre gyúrt húsfalatok képezték a nyálfogó felületet. A falatokat kutyáknak (*Canis familiaris*) adva a minták 78%-a esetén sikerült 10

mikroszatellit marker alapján egyedeket azonosítani (Lobo et al. 2015). A jelenleg folyó szabadtéri vizsgálatok azonban kihívásokkal telinek bizonyulnak (Godinho, szóbeli közlés). A nyálgyűjtésen alapuló módszereknek előnye lehet, hogy aktívan kiválthatja az állatokból a nyalogató reakciót (csalizás), ezért nem csak véletlenszerű mintagyűjtésre alkalmas, mint az ürülékkeresés (Lobo et al. 2015). Nichols et al. (2012) is ígéretes eredményt kapott, amikor zárt téren tesztelte a kérődzők által a leharapott hajtásvégek nyálmintáit. Három hónap elteltével a minták 50%-ából sikeresen izoláltak DNS-t, de 12,5%-a a mintáknak fél év elteltével is szolgáltatott DNS-t. A fajszintű azonosítások terepi hatékonyságáról azonban nem szólnak a szerzők. Több kutatás is foglalkozik emlősök nem invazív nyálmintáinak gyűjtésével, de az egyes fajok ökológiája és viselkedése miatt az eljárások eltérnek, valamint a módszerben rejlő lehetőségeket csak napjainkban kezdték alaposabban kiaknázni (Simons et al. 2012, Lobo et al. 2015). A nyál mindenestre ígéretes nem invazív mintának tűnik, mert a DNS mennyisége és tisztasága (A260/A280) ember esetében megegyezhet a vérével (Looi et al. 2012).

A vérminták jó minőségű DNS-t tudnak szolgáltatni a laboratóriumi vizsgálatokhoz, de a befogott állatokból származó vér (Sawaya et al. 2011) aligha tekinthető nem invazív mintának. A ragadozók menstruációs vérzései kivételt képeznek és néha könnyen észrevehetők a hóban. E módszernek elsősorban elméleti lehetőségei vannak, mert egyelőre csak kevesen tanulmányozták a mintagyűjtés hatékonyságát (Schwartz & Monfort 2008, Sawaya szóbeli közlés ([http5](http://5))). Scandura (2005) vérfoltokat gyűjtött össze hóban (n=37), a gyűjtött minták 70%-a kutyától, farkastól vagy azok hibridjeitől származott. A vér megszerzésére gyakrabban használt módszer más élőlények segítségül hívása. Hematofág rovarok (pl.: szúnyogok, böglyök) segítségével gyűjthető a táplálékfajként szolgált állat vére. Konzervációbiológiai jelentősége egyelőre csak kevés van a módszernek, de bögölyfélék (Tabanidae) segítségével már sikerült friss vért gyűjteni zárttéri körülmények között szumátrai orrszarvútól (*Dicerorhinus sumatrensis*) (Rovie-Ryan et al. 2013). Szintén zárttéri tartásban vizsgálták egy poloska (*Dipetalogaster maximus*) mintagyűjtésre való alkalmasságát három különböző majomfajon. Egy órán belül a poloskák akár 2 ml vérhez is tudták juttatni a kutatókat (Thomsen & Voigt 2006).

Egy másik keveset vizsgált nem invazív minta a vizelet. Hedmark (2004) tíz rozsomák (*Gulo gulo*) mikroszatellit markert amplifikált sikeresen az általa gyűjtött ürülékminták 65%-ában, illetve vizeletminták 40%-ában. A vérhez hasonlóan a vizeletminták is könnyebben gyűjthetőek hó borítással rendelkező időszakokban, de a módszer még inkább működik elméleti, mint gyakorlati szinten (Schwartz & Monfort 2008).

A tengeri emlősök estén speciális technikák is rendelkezésre állnak. A gyűrűsfókák (*Phoca hispanida*) például, amikor kimásznak a vízből, a lécek szélén és környékén vedlett bőrdarabokat hagyhatnak el. Ezeket a bőroket összegyűjtve mindössze 15,6%-ban nem sikerült

semmilyen markert amplifikálni (Swanson et al. 2006). Egy másik speciális technikát használtak zárttéri körülmények között delfineken. Baktériumflóra tanulmányozása szempontjából az állatok (*Tursiops truncatus*, *T. aduncus*) orrnyílása fölé tartott Falcon-csőbe a betanított delfinek „belefűjtak”. A kilégzésből származó levegő az orrnyílásban található nyálkát is tartalmazta, amely alapján 16S rRNS vizsgálattal baktérium törzsek azonosítására adott lehetőséget (Lima et al. 2012).

Az emlős ragadozók esetében gyakran használt szőrminták (Kendall & McKelvey 2008) gyűjtésével és felhasználásával a következő fejezetben foglalkozom.

2.3.2. Célzott szőrgyűjtési lehetőségek emlős ragadozók jelenlétének kimutatására

Kendall & McKelvey (2008) a szőrgyűjtési technikákat két nagy csoportba sorolja, a csali nélküli (passzív) és a csalizott (aktív) módszerekre. Az első csoportba tartoznak azok az eljárások, ahol sem csali falat, sem vizuális- vagy illat attraktáns nincs felhasználva a szőrgyűjtő eszköz élesítése során. Ide tartozik a természetes úton felhalmozódó minták gyűjtése, mint például a dörgölözőfákról összegyűjtött szőrök, madárfészkekből kiszedett minták, vagy fekvőhely, búvóhely (kotorék), csapa, prédamaradvány, kerítés, illetve bokor közeléből gyűjtött szőrszálak. A természetes módszerek hatékonyságát is lehet javítani, például dörgölözőfákat szögesdróttal körbetekerve több szőrmintát lehet gyűjteni medvéktől (Stetz et al 2010). A mesterséges és csali nélküli módszerek közé tartozik például a módosított lábfogó vasak vagy ölcscsapdák használata (DePue & Ben-David 2007). A csalival ellátott csapdák is többfélék lehetnek az adott faj ökológiai és viselkedési sajátosságait figyelembe véve. Macskafélék (Felidae) mintázására jól működhetnek a dörgölözőpárnák vagy illatkarók (Davoli et al. 2013), medvefélékre (Ursidae) a szögesdróttal elkerített „karámok” (Sawaya et al. 2012), rozsomák esetén az oszlopcsapdák használatosak (Fisher & Vegreville 2004), menyétfélék (Mustelidae) tanulmányozása során pedig doboz-, láda-, vagy csöccsapdákat szoktak használni (Mullins et al. 2010).

2.3.2.1. Csali vagy attraktáns nélküli (passzív) szőrgyűjtési módszerek

Faunisztikai vizsgálatokhoz a madárfészkek-analízis módszere egy egyszerű és olcsó eljárás. A módszert először Tóth (2008) ismertette négy hazai élőhelyen. A több mint 3600 fészkek- vagy odúmintából több mint 1100 tartalmazott nagy mennyiségben szőröket, amelyekből összesen 27 különböző taxon került elő. A határozások a szőrök makroszkopikus és mikroszkopikus morfológiai bélyegei alapján történtek. A leggyakoribb fajok az őz (*Capreolus capreolus*), vaddisznó (*Sus scrofa*), és a muflon (*Ovis aries*) voltak, de a fészkekből előkerült az akkor még a vizsgálati területről nem ismert aranysakál (*Canis aureus*) szőrmintája is. Két ritka

nagyragadozónk, a szürke farkas (*Canis lupus*) és az eurázsiai hiúz (*Lynx lynx*) szőrmintái is kimutathatók voltak a fészkekből. Ondrušová & Adamík (2013) csehországi kék cinege (*Cyanistes caeruleus*) fészkekből gyűjtött szőröket, majd határozta meg azokat fénymikroszkóp alatt. A Tóth (2008) által ismertetett módszert követve 21 fajt tudtak leírni 5317 szőrszálból. Patkó et al. (2014) városi élőhelyeken tesztelte a módszert, ahol sokkal kevesebb szőr került elő a fészkekből (n=75). A fészkekből összesen 13 taxont sikerült leírni (az emberrel együtt), amelyből 8 fajszinten is azonosítható volt. A módszer segítségével sikerült kimutatni a vidra (*Lutra lutra*) előfordulását egy budapesti vizes élőhelyről, a Merzse-mocsárból.

Balestrieri et al. (2010) 12 borzkotorék elé helyezett ki kifeszített szögesdrótot egy kis állománysűrűségű olasz élőhelyen. Mivel a vizsgálatban azt szerették volna megtudni, hogy mennyi állat él a területen, ezért egyedszinten is szükséges volt azonosítani az állatokat. Kilenc lókuszon vizsgálták a szőrmintákat mikroszatellit markerek segítségével. Összesen 2358 csapdaéjszakát (CSÉ) voltak aktívak a szögesdrótok, majd beszedésre kerültek. A fogási hatékonyság 1 minta/39,6 CSÉ volt. Az összesen 40 mintából 28 (70%) rejtett magában elegendő amplifikálható DNS-t, így kilenc egyedet tudtak azonosítani. Összehasonlításként: az azonos vizsgálati területen Remonti et al. (2006) egy egyedet 337,5 CSÉ alatt tudott befogni élvefogó csapdák segítségével (Balestrieri et al. 2010).

A ragadozók útvonalaira kihelyezett szörgyűjtő eszközök speciális alkalmazási területe, amikor a szögesdrótok autópálya fölötti vagy alatti vadátjárókon futnak keresztül. Ilyenkor monitorozható a vadátjárók hatékonysága, faunisztikai adatok gyűjthetőek és populációgenetikai szempontból könnyen összehasonlíthatóvá válnak az autópálya által elválasztott állományok is. A Banff Nemzeti Park (Kanada) vadátjáróin azt találták, hogy a grizzly medvék főleg a nyílt (autópálya fölötti) átjárókat kedvelik. A korábbi állománybecslési vizsgálattal összevetve azt az eredményt kapták, hogy a barna és fekete medve populáció 11-19,8%-a használja az autópálya fölötti vadátjárókat körülbelül 1:1-es ivararányban. A három év során évente körülbelül 300-500 szőrmintát gyűjtöttek a nemzeti park területén, de ezek jelentős része nem a célfajtól származott (ld. <http6>) vagy túl rossz minőségű volt az egyedszintű azonosításhoz (Sawaya et al. 2013).

Csapán véletlenszerűen gyűjthető szőr macskaféléktől is. Pumák (*Puma concolor*) esetében a hóban történő nyomolvasás során több nem invazív mintát is lehetett gyűjteni. A GPS nyakörvvel ellátott, ismert egyedek után haladva friss ürülék- és szőrmintákat (fekvőhelyről, csapák mellett bokrokról) lehetett gyűjteni a Yellowstone Nemzeti Parkban (USA). A szerzők szerint pumák esetén a nyomolvasás során történő mintagyűjtés költséghatékonyabb, mint a dörgölőzópárnákra alapozott vizsgálatok. A szőrminták alapján 22 egyedet tudtak azonosítani a vizsgálati területen (Sawaya et al. 2011). A szerző szóbeli közlése során felhívja a figyelmet egy potenciális túlbecslési problémára is. Előfordulhat, hogy a környezeti feltételek által megfelelően

tartósított eDNS minták jóval az állat pusztulása után is gyűjthetőek (pl. fekvőhelyről szőr, ürülék), ezzel az egyed jelenléte bizonyított lesz a vizsgálati területen, holott az adott egyed már rég elpusztult (Sawaya szóbeli közlés (<http5>)).

Észak-Amerikában a grizzly medvék (*Ursus arctos horribilis*) monitorozásához gyakran használnak dörgölözőfán alapuló vizsgálatokat. Az ismert fáktól eltekintve a medvék gyakran hagynak hátra szőrmintákat bokrokon, kerítéseken vagy akár villanypóznákon is. Ilyen felületekről, valamint aktív szörgyűjtő „karámokból” több mint 55 000 mintát sikerült gyűjteni és mikroszatellit marker segítségével 711 egyedet lehetett azonosítani. A dörgölözőfákról 12564 szőrminta került elő, 0,697 minta alkalmanként (Stetz et al. 2010). A grizzlyn kívül fekete medve (*Ursus americanus*) állományviszonyainak a vizsgálatára is használták már a terelő dróthálókat. Egy három éven át tartó gyűjtés a Banff Nemzeti Parkban 321 dörgölözőfát rögzített, amelyek rendszeres látogatása 2910 mintát eredményezett. A szerzők szerint a csali nélküli és csalival ellátott szőrscapdák használata együttesen erősen javasolt, mert egymást jól kiegészítik. A bekerített „karámok” például sikeresen gyűjtöttek mintákat a hím és nőstény fekete medvéktől és nőstény grizzly medvéktől, de nagyon rossz arányban gyűjtöttek szőrt a hím grizzlyktől. Másrészt a dörgölözőfák kevés fekete medvét mintáztak meg, de sok olyan grizzly egyedet, amelyet a csalizott módszerrel nem sikerült megfigyelni (Sawaya et al. 2012). A dörgölöző felületek egy sajátos típusát képezik a villanypóznák. Görögországban 191 szőrmintát lehetett begyűjteni medvéktől és 47 egyedet azonosítottak hat mikroszatellit lókus alapján 841 villanypóznát átvizsgálva (Karamanlidis et al. 2010).

A kevert minták elkerülése miatt lehetséges csali nélküli módosított lábfogó vasakat és hurkokat is használni (DePue & Ben-David 2007, ld. még: <http7>). Az ilyen eszközök használata során a fogást követően az eszköz összezár, összehúzódik vagy elszakad, így egyszeri mintagyűjtést tesz lehetővé. Ilyen eszközöket észak-amerikai vidrák (*Lontra canadensis*) szőrmintáinak gyűjtésére fejlesztettek ki és a 82 terepre kihelyezett csapdából 77 (94%) gyűjtött is 3-20 fedőszőrt. A vidraszőrök esetén a fogási gyakoriság mintánként 3,6 és 156,6 CSÉ között változott. A szőröket morfológiailag azonosították, amelyből kiderült, hogy a vidrán kívül további öt faj használta az eszközöket (DePue & Ben-David 2007). Későbbi vizsgálatok azonban nem jelentek meg a nemzetközi szakirodalomban erről az ígéretesnek tűnő módszerről.

2.3.2.2. Csalival vagy attraktánssal ellátott (aktív) szörgyűjtési módszerek

A leggyakrabban használt csalival ellátott eszközök közé tartoznak a különböző mesterséges dörgölöző felületek. Ezeket leginkább a macskafélék kedvelik. A dörgölözőpárnák inkább nagytestű ragadozók esetén, míg az illatkarók kistestű macskafélék esetén használható eszközök (Patkó et al. 2016b).

Az első dörgölözőpárnák (McDaniel et al. 2000) 10x10 cm-es szőnyegdarabok voltak szögbelövővel átütve, amely segítségével sikeresebbé vált a szőrminták gyűjtése. Az eszközöket fákra rögzítették és az öt különböző szagattraktáns mellé, amelyeket a szőnyegre csöpögtettek, még egy vizuális csalit (csillogó fémlemez) is használtak. A macskamenta és hódkasztórium keverékéből összeállított attraktánst a kanadai hiúzok (*Lynx canadensis*) szignifikánsan többször keresték fel, mint a négy másik szaganyagot. A bejárt útvonalak 45%-áról sikeresnek bizonyult a mintagyűjtés. A szőröket morfológiai bélyegeik alapján határoztak meg. Hiúzon kívül farkas, rozsomák, medvefélék és prérifarkas (*Canis latrans*) szőrmintáit is összegyűjtötték az eszközök (McDaniel et al. 2000). Európában először a Białowieża-i őserdőben (Lengyelország) vizsgálták a dörgölözők hatékonyságát hiúzon 2003 és 2004 nyarán és telén (Schmidt & Kowalczyk 2006). A macskamenta és kasztórium keverékével ellátott 153 szőrscsapdát hat héten keresztül kint hagyták a területen 8 útvonalon egymástól 2-6 km távolságra. Ez alatt az időszak alatt nem sikerült szőrmintát gyűjteni a módszerrel. Folyamatos változtatás mellett végül ismert territóriumhatároknál (jellegzetes vizeletszag alapján) helyezték el a csapdákat és egy-egy intenzív vizsgálati alkalommal 46-94 napig frissítették a szaganyagokat. A hiúzok a csapdák 50%-án mutattak dörgölöző viselkedést, ezen belül télen általában hatékonyabbnak bizonyult a mintagyűjtés. Az ismert jelölőhelyek 4,4%-án volt szőrminta a dörgölözők kihelyezése előtt, de a mintagyűjtés hatékonyságát jelentősen növelték a McDaniel et al. (2000) munkája alapján összeállított csapdák (22-46%) (Schmidt & Kowalczyk 2006). A białowiezai erdőben később is folytatták a vizsgálatokat és 5 éven keresztül az ismert jelölőhelyekre kihelyezett csapdák segítségével növelték a szőrgyűjtés hatékonyságát. A 170 szőrminta közül 96 darabból (67%) sikerült PCR reakció során DNS-t sokszorozítani, amelyből 85 darabból tudtak 12 autoszomális STR marker alapján egyedeket azonosítani (n=29) (Davoli et al. 2013). Ruell & Crooks (2007) azonos hatékonysággal tudta meghatározni az egyes ragadozófajokat az ürülékből és a szőrökből izolált DNS alapján (~80%). Összesen 161 csapdát helyeztek ki a talajra, de szőrgyűjtő felületnek csak egy szőnyegdarabot (10x10 cm) rögzítettek az alapul szolgáló deszkákra. Az ellenőrzések körülbelül 49%-ában sikeresen gyűjtöttek szőrt az eszközök, de az egyedszintű azonosítás négy mikroszatellit lókuszon mindössze 10%-ban volt kivitelezhető. Fekete medvétől sikeresen lehetett szőrt gyűjteni az Egyesült Államokban, ahol a szőrscsapdázás bizonyult a legolcsóbb módszernek egy kameracsapdákra és ürülékkereső kutyákra alapozott módszertani vizsgálatban (Long et al. 2007).

Hasonló, földre elhelyezett és kerítésekre felakasztott eszközök segítségével próbáltak prérifarkasoktól és farkasoktól mintát gyűjteni Texas és Montana államokban. A földre helyezett csapdák több szőrmintát gyűjtöttek, de aközött, hogy szögekkel vagy szőnyegrögzítő szöges szalagokkal lettek-e felszerelve a csapdák, nem találtak különbséget a gyűjtött minták

mennyiségében. Attraktánsként kereskedelmi forgalomban kapható, kutyafélék számára kifejlesztett szaganyagok bizonyultak jónak (Mega Musk, Montana Special). Néhány csapdára természetes szörgyűjtőket helyeztek el (ágak, tobozok), ezeken a farkasok gyakrabban mutattak dörgölözési reakciót. A szerzők azt is megjegyzik, hogy a minták jelentős részét nem magán a gyűjtőfelületen találták, hanem annak környékén, esetleg a talajon (Ausband et al. 2011).

A kistestű macskafélékre alkalmazott illatkarókat először Svájcban tesztelték és sikeresen gyűjtöttek szórt vadmacskától (*Felis silvestris*) ezzel a módszerrel. A macskagyökérrel átitatott és kéthetente ellenőrzött karókon (n=132) összesen 220 darab macskaféléktől származó szőrmintát sikerült gyűjteni, amelyből 47 vadmacska (vagy hibrid) egyedét lehetett 14 STR marker alapján genotipizálni (Kéry et al. 2010). Hasonló módszerrel Steyer et al. (2013) is sikereket ért el Németországban. A módosított protokoll szerint 7-10 naponta ellenőrizték a csapdákat. A négy éven keresztül tartó vizsgálatban összesen 35300 CSÉ alatt 25 alkalommal gyűjtöttek vadmacskától származó szőrmintákat (0,07/100 CSÉ). Egy kisléptékű vizsgálatban az Etna (Szicília) lábánál 18 csapdával 60 nap alatt egyetlen mintát sem sikerült gyűjteni vadmacskáktól a fent ismertetett módon, bár az állatok jelenlétét a csapdák környékén kameracsapda rögzítette (Anile et al. 2012). Más esetben is előfordult már, hogy az illatkarók nem gyűjtöttek mintákat. Egy vörös hiúz (*Lynx rufus*) célzó vizsgálatban egyetlen szőrmintát sikerült gyűjteni 1680 CSÉ alatt, bár ez esetben rendkívül kis mennyiségben használtak szaganyagot (2 csepp macskamenta) (Comer et al. 2011). Egy másik zárttéri tesztben a vanília bizonyult a legjobb attraktánsnak, de terepi körülmények között már nem sikerült szórt gyűjteni macskaféléktől ezzel a szaganyaggal. Rákevő mosómedvétől (*Procyon cancrivorus*), közönséges pamparókatól (*Cerdocyon thous*), csuklyásmajomtól (*Sapajus nigritus*) és hosszúfarkú vidrától (*Lontra longicaudis*) azonban igen, de jellemzően csak egy-egy alkalommal. A fajhatározások a szőrök mikroszkopikus karakterei alapján történtek (Portella et al. 2013).

Az ígéretes, de ellentmondásokkal terhelt illatkarós módszert zárt területen is vizsgálták Németországban. Öt különböző szörgyűjtőfelülettel (drótkefe, szőnyeg, beföttes gumi, lábtörlő és nyersfa „beirdalva”) ellátott illatkarót helyeztek hiúzok ketrecébe. Attraktánsnak hódkasztórium és macskamenta keverékét használták. A karókat a mintagyűjtést követően két hétre a szabadba helyezték és megvizsgálták, hogy mennyi szórt voltak képesek megtartani a terepi körülmények között. Mivel a kihelyezés előtt nem tudták megszámolni a karón található szőröket, ezért hat kategóriába sorolták a körülbelüli darabszám alapján. A vizsgálat végeztével leszámolt minták alapján a legtöbb szórt (n=7514) és a legnagyobb összesített pontszámot (4 pont, több tényezőt is figyelembe véve, pl.: szőrhagyma szám, „szőrmegtartóképesség” terepen, praktikusság) a drótkefe kapta, amelyet a gumis karó követett (2 pont). Legrosszabbul (-2 pont) a

klasszikus nyersfa karó (ld. Anile et al. 2012, Steyer et al. 2013, Kéry et al. 2010) teljesített (Heurich et al. 2012). Ennek ellenére ilyen karókkal sikeresen gyűjtöttek mintákat Németországtól (Steyer et al. 2013) a Kalahári-sivatagon keresztül egészen Ausztráliáig (Hanke & Dickman 2013).

Több más ragadozót is sikerült kimutatni a macskaféléken kívül a karók segítségével Afrikában és Ausztráliában, azonban a macskagyökér és macskamenta szignifikánsan rosszabb attraktánsnak bizonyultak (az ellenőrzések 33%-ában produkáltak szőrmintát), mint a házi macska (*Felis catus*) vizelete (72%-ban produkált mintát) (Hanke & Dickman 2013). Kisebb volumenű módszertani vizsgálatoknál a macskagyökér és macskamenta alkalmazását emelték ki potenciálisan hatékonyabb attraktánsként, szemben a kereskedelmi forgalomban kapható egyéb szaganyagokkal (Hagopur rókacsali, halolaj) (Patkó et al. 2015).

Ritka esetekben menyétfélék érdeklődését is felkelthetik az illatkarós módszerek (Patkó et al. 2015, Burki et al. 2010). Svájcban az eredetileg vadmacskára kihelyezett illatkarók nyuszt (*Martes martes*) jelenlétét is detektálták. A faj kimutatásának az esélye szignifikánsan megnövekedett, amikor a macskagyökér helyett egy kereskedelmi forgalomban lévő attraktánst (Hawbaker's marten lure) kezdtek használni (Burki et al. 2010).

Woods et al. (1999) fejlesztette ki azt a csalival ellátott módszert, amelyet azóta is többen használnak medvefélék szőrmintáinak gyűjtésére. Brit columbiai mintaterületeken kétféle csapdát teszteltek helyszínenként. Az egyik típus egy fára erősített, két oszlopból álló „varsára” emlékeztető, amelyen kutyafésűt és szögesdrótot helyeztek el, mint szörgyűjtő felületet. A fára szaganyagot (folyékony haltrágya) öntöttek. A másik típus egy szögesdróttal körbekerített 8 méter átmérőjű „karám” volt, amelynek közepére a szaganyag el lett helyezve. A medvék a szögesdrót alatt átbújva vagy azon átlépve mintákat hagytak hátra. A módszer nagy előnye, hogy nem tartalmaz megerősítést (csak szaga van a csalinak, élelem nincs), így nem habituálódnak az egyedek. Kisebb eséllyel alakulhat ki „csapdabolondság” és emiatt nem lesz alulbecslés a vizsgálatokban. Ez a módszer egyébként a használható szőrminták 74%-át eredményezte a kutatás során. Ugyanígy Brit Columbiában 332 helyszínen alakítottak ki hasonló terelő szögesdrótokat, hogy grizzlyk jelenlétét kimutassák. Összesen 2062 mintát gyűjtöttek a medvéktől 113 helyszínen és közel 100 egyedet tudtak megkülönböztetni (Poole et al. 2001). Megfigyeltek már nemek közötti különbséget is a bekerített szörgyűjtők használatában. Ezek az eszközök többször gyűjtöttek mintákat a hím és nőstény fekete medvéktől és nőstény grizzly medvéktől, de nagyon rossz arányban gyűjtöttek szőrt a hím grizzlyktől (Sawaya et al. 2012). Bár ennél az eljárásnál kevés az esély arra, hogy keresztkontamináció történjen terepi körülmények között, mégsem zárható ki teljesen a minták keveredése, hiszen több állat is átbújhat a szögesdróton ugyanazon a helyen. Ennek elkerülésére kifejlesztettek egy olyan fára

vagy oszlopra szerelhető meghajlított lemezt, amely alatt csali falatot lehet elhelyezni. A lemez belső oldalára durva szőnyeget erősítettek, amely szörgyűjtő felületként szolgált. A medvék könnyedén másznak fára, ahol a csali megragadásával és feszegetésével hátukat a lemeznek nyomhatták. A csali elfogyasztása miatt jelentősen csökken az esélye annak, hogy egy másik egyed felmásszon és „bepréselje” magát a lemez alá. A kétéves vizsgálat során közel 500 ilyen csapdát helyeztek el a vizsgálati területen. Az összesen összegyűjtött 981 mintából 775 szolgáltatott sokszorosítható DNS-t, amely alapján 32 medvét lehetett azonosítani a területen, az átlagos szőrszám mintánként öt és hét között változott (Immel & Anthony 2006).

A menyétfélék esetén használt dobozcsapdák gyakori alapanyaga a PVC, amely lehet fára szerelt (Mullins et al. 2010) vagy talajra kihelyezett két oldalról nyitott (Patkó et al. 2016b), illetve ajtóval ellátott (Pauli et al. 2008) is. Mivel a menyétfélék jól másznak, ezért a fára szerelt csapdák bizonyos fokú szelektivitást is biztosítanak más fajokkal (pl. kutyafélék) szemben. Mullins et al. (2010) Írországból gyűjtött nyuszt (*Martes martes*) mintákat csőcsapdával (n=18), amely belső oldalára egérragasztót helyeztek szörgyűjtőfelületnek. A csapdák 3-8 naponta lettek előcsalizva négy héten keresztül, majd naponta vagy 2-3 naponta ellenőrizték az élesített, ragasztóval ellátott eszközöket. Ürülékminták is begyűjtésre kerültek az egyes csapdahelyszínek között haladva. A helyszínek 50%-án sikerült mintát gyűjteni a csőcsapdákkal. Összesen 114 szőrmintát gyűjtöttek, de ennek csak egy részét használták (n=53) mtDNS alapú fajazonosításhoz. A minták 97%-ából sikerült fajt határozni, a későbbi genotipizálások céljára pedig a szőrminták alkalmasabbnak bizonyultak, mint az ürülék minták. A vizsgálat kiegészítéseként (és referenciaminta-gyűjtésként) élvefogó csapdázatok is a területen. A befogott egyedektől gyűjtött referencia szőrminták és szőrscapda minták ugyanazokat az egyedeket azonosították (hím=2, nőtény=3). Halásznüst (*Pekania pennanti*) állománymonitorozása is kivitelezhető csőcsapdák (Zielinski et al. 2006) és nyomcsapdák együttes használatával. A vizsgált amerikai állomány kevesebb, mint 250 egyedből áll és a számok az elmúlt években stagnálást mutattak (Zielinski et al. 2013). A ragasztós felületek általában jók vagy jobbnak bizonyulnak, mint a szögesdrót vagy egyéb szörgyűjtő felületek (Zielinski et al. 2006, Mullins et al. 2010). Egy másik hasonló szőrscapda menyétfélék befogására a háromszög alapú gúlára emlékeztető „háztető” forma, amelyet fák törzsére lehet erősíteni. A „tető” belső oldalán található a ragasztó, illetve a csalifalat (Foran et al. 1997, Williams et al. 2009). Egy Montana és Idaho államokon átnyúló nagyléptékű vizsgálatban 4846 szőrscapdát használtak a halásznüst teljes potenciális elterjedési területén, amelyből 288 helyszínen mtDNS alapján sikeresen kimutatták a faj jelenlétét. Az elterjedési adatokra, domborzati viszonyokra, klimatikus tényezőkre és egyéb környezeti tényezőkre alapozva prediktálták az állatok potenciális elterjedési területét három időpontra (2030, 2060 és 2090) egy klímaváltozás szempontjából

pozitív és negatív scenáriót figyelembe véve, amely alapján megjósolták, hogy a faj elterjedési területe akár 26%-kal is csökkenhet (Olson et al. 2014). Kínában négyféle csapdatípust teszteltek két kistestű ragadozón, az álcás pálmásodron (*Paguma larvata*) és a szibériai görényen (*Mustela sibirica*). A dobozcsapdák két bejáratos és egy bejáratos kivitelben készültek, amelyek belsejébe fegyvercső tisztítására alkalmas rézkefét rögzítettek. Az illatkarókra egérragasztót, illetve szögesdrótot helyeztek. Csaliként csirkeszárnyat és szaganyagot használtak (Carman's Magna-Glan Lure). A vizsgált március és június közötti időszakban 713 CSÉ alatt 424 szőrmintát lehetett azonosítani 16S rRNS alapján (minták 81%-át). A minták 88%-a pálmásodrontól származott, míg 11%-a görénytől, 1 % pedig sörtéspatkánytól (*Niviventer confucianus*). A szőrminták 75%-a tartalmazott 1-5 fedőszórt, 2%-a 6-10 fedőszórt és 23%-a 10-nél több fedőszórt. Mindkét faj az illatkarókat kedvelte jobban, de a pálmásodroktól több szőrmintát lehetett gyűjteni a talajra elhelyezett dobozcsapdákkal, mint a görényektől (Bu et al. 2016). A PVC csövek egyedi mintavételt is lehetővé tehetnek speciális kialakítás esetén. Amerikai nyestet (*Martes americana*) például sikeresen lehet mintázni egy ajtóval ellátott, egy oldalról zárt 35 cm-es PVC cső segítségével. A csőben fegyvercső-tisztító kefét helyeztek el és húsfélével csalizták a csapdát. A hús megrántásával a csapda ajtaja bezáródott, de belülről még kinyithatta az állat. Az újra lezáródó csapdába viszont már más állat nem juthatott be. Ezzel a módszerrel a nyestektől gyűjtött szőrminták körülbelül 80%-a tartalmazott megfelelő mennyiségű DNS-t a későbbi vizsgálatokhoz, de a fajhatározásokat morfológiai alapon végezték (Pauli et al. 2008). Hasonló módszerrel a kistestű kitróka (*Vulpes macrotis mutica*) állományok is vizsgálhatóak városi területeken (Bakersfield, Kalifornia) és természetes élőhelyeken (Lokern, Kalifornia). Csalinak kutyaedelt és egyéb húsokat használtak. A 60 CSÉ alatt 16 szőrmintát sikerült gyűjteni 12 csőcsapdával a városi élőhelyen és 81 CSÉ alatt 12 csapdával 18 mintát gyűjtöttek a természetes élőhelyen. A terepi minták DNS mennyiségét a vizsgálat során nem ellenőrizték (Bremner-Harrison et al. 2006).

A felcsalizott (pl. hód tetem, szaganyag (O'Gorman's LDC)) oszlopcsapdák az olyan mászásra hajlamos fajok esetén vezethetnek eredményre, mint a rozsomák. Alberta tartományban egy-két havonta ellenőrizték a felcsalizott és/vagy szaganyaggal ellátott szögesdrótos oszlopcsapdákat. A kutatás során 11510 CSÉ alatt 50 szőrmintából tudtak 16S rRNS alapján fajt határozni a kilenc ragadozó fajból, azonban egy minta sem tartozott rozsomákhoz. Magoun et al. (2011) sikereesebb volt egy speciális oszlopcsapda-kameracsapda kombinációval. A kétéves vizsgálat során 18 egyedet sikerült elkülöníteni a kameracsapdák és a genotipizálás eredményeképpen. A megfigyelt egyedek (torok és mellkas foltok alapján) és azok neme 100%-ban megegyezett a kameracsapdás és genetikai vizsgálatok között. A szerzők ezt a speciálisan kialakított oszlopcsapdára felszerelt kamerás azonosítást javasolják vadgazdálkodási

használatra, mert a kalibrálás vizsgálatuk alapján 74%-kal olcsóbbá tette az egyedi és ivari határozásokat.

2.4. A szőr típusai, ontogenezise, ultrastrukturális szerkezete, színe és morfológiája

A szőr (pili) az emlősök osztályára jellemző epidermisz képződmény. Akadnak szőrzethiányos fajok, mint például a csupasz szelindekdenevér (*Cheiromeles torquatus*), az elefántok (Elephantidae) vagy a szinte teljesen szőrtelen cetek (Cetacea) (Tóth 2015).

A gyapjú-, alj- vagy pehelyszőrök (pili lanati) vékony, világos színű puha tapintású szőrök, amelyek legfontosabb tulajdonsága a hőszigetelés. Mennyiségük fajtól függően változhat, a földalatti életmódot élő vakond (*Talpa europea*) testét meghatározóan pehelyszőrök borítják. A fedő- vagy koronaszőrök (pili tectorii) ritkábban állók mint a pehelyszőrök, vastagabbak és gyakran mintásak (pl. sávós, átmeneti színes). Egyes fedőszőrök erőteljesebbek, hosszabbak, a sertések (Suidae) esetén ezeket sörtének nevezzük. Ezek a serteszőrök, más fajok esetében, sörényt vagy üstököt is alkothatnak. Speciálisan megvastagodott elsősorban védelmi funkciót szolgáló szőrök a süntények (Erinaceidae) megtalálható tüskék. A harmadik típus a tapintó- vagy szinuszszőrök (pili tactili), amelyek mechanikai ingerekre fokozottan érzékenyek és elsősorban a környezet érzékelésében van szerepük (Szemethy et al. 2005, Tóth 2015).

A szőrzet ontogenezise három fázisból áll (anagén, katagén és telogén). Az anagén fázisban kialakul a szőrhagyma (bulbus), megkezdődik a keratinizáció és a szőrnyél növekedése. A szőrszál teljes ciklusának legnagyobb részét az anagén fázis tölti ki. A katagén fázisban leáll a sejtosztódás és megszűnik a táplálék- és pigmentellátás. A szőrszál a bőr felszíne felé húzódik. A szőrhagyma legalsó, még mitotikus osztódásra képes része leválik és kialakulnak a másodlagos csírasejtek a szőrszál alatt. A telogén fázisban a dermális papillában (mesenchimális sejtcsoport) megindul az új szőrszál képződése, majd a felszínre törő újabb szőrök kinyomják az előtte található régi szálakat (Bodó 2004, McElwee & Sinclair 2008, Tóth 2015).

A szőrszál alapanyaga a keratin, amely az emlősök szőrzetében α -hélix és β -redőzött struktúraként jelenik meg. A szőr külső rétege (kutikula) és az alatta található kéregállomány (kortex) β -keratin, míg a legbelső velőállomány (medulla) α -keratin struktúrával rendelkezik. A szőr hajlékony, ellenálló és bizonyos mértékig nyújtható is. E tulajdonságai segítik a szabad szemmel történő vizsgálat során megkülönböztetni a terepen gyűjtött egyéb mintáktól (pl. növényei részek, antropogén eredetű anyagok).

A szőr bazális részében található melanocytá sejtben képződnek a melanin granulomok, amelyek a melanint állítják elő (Röhlich 2006). Két típusa különíthető el, az eumelanin (sötét, fekete) és a feomelanin (sárgás, vöröses). A fehér szín esetében a keratinocytákból hiányzik a színanyag, a sárgásbarna színekért pedig a vastartalmú trichosziderin

nevű fehérje felelős (Flesch 1968). A színezettel kapcsolatban gyakran használt kifejezések a melanisztikus (feketés, sötét árnyalatú egyedek), eritrisztikus (vöröses vagy sárgás árnyalat), leucisztikus (albínóhoz hasonló, sárgás-világos árnyalat) illetve az albinizmus (melanin teljes hiánya) (Tóth 2015).

A szőrszál részeinek elnevezése fontos a morfológián alapuló fajhatározásoknál, mert az egyes szakaszokon a mintázatok különbözhetnek. A szőr alapvetően két részre bontható, a bőrben található gyökérre és a bőrfelület fölötti nyélre vagy zászlóra. A szőr csúcsi részét (apex) a disztális szakasznak, míg az alapi, a hagymához közeli részt, proximális szakasznak nevezik, de elterjedtebb ha a szőrszál csúcs felé eső részét felnyéli szakasznak, míg az alsó részt alnyéli szakasznak nevezzük (Teerink 1991).

2.5. A szőrök alapján történő faj- és egyedszintű azonosításhoz leggyakrabban használt módszerek

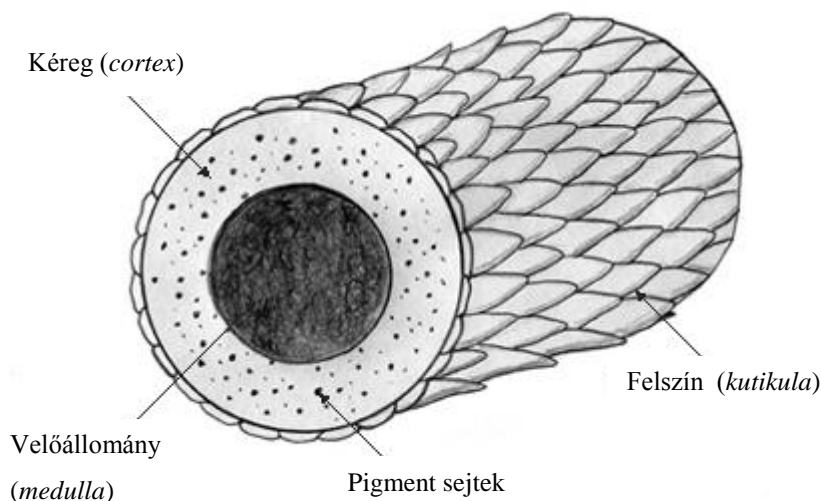
2.5.1. Szőrmorfológián alapuló határozás esetén használt bélyegek

A szőr funkciója és a határozás szempontjából az információ tartalma alapján három típust különíthetünk el. Az érzékelő szőrök ragadozók esetén leggyakrabban a pofán találhatóak meg. E szőrök nem mutatnak fajspecifikus bélyegeket, ezért határozásra alkalmatlanok. A pehelyszőrök a test hőszigetelése szempontjából meghatározóak. Az állatok testén általában ez a szőrtípus található meg a legsűrűbben, de határozásra kevésbé alkalmasak, mint a fedőszőrök. Az ilyen szőrtípusok a „kisebb felbontású”, fajnál magasabb taxonómiai kategóriák határozásánál hasznosak lehetnek, például a tülkösszarvúak (Bovidae) és a szarvasfélék (Cervidae) pehelyszőre nem tartalmaz medullát. A fedőszőrök általában erőteljesebbek, mint a pehelyszőrök, formájuk, tapintásuk és színezetük egyaránt változatosabb, ezért már szabad szemmel vizsgálva is eredményezhetnek családszintű határozást. Ilyenek lehetnek például a hazai szarvasfélék fedőszőrei, amelyek minden esetben egyfajta unduláló (hullámos) alakot mutatnak (Teerink 1991, Tóth 2015). A legtöbb szabad szemmel is könnyedén megfigyelhető hullám például az őz (*Capreolus capreolus*) és a gímszarvas (*Cervus elaphus*) fedőszőrein található (Patkó nem publikált).

A szőr szabad szemmel (makroszkopikusan) megfigyelhető tulajdonságai közül a határozás során figyelembe vehető a méret, forma, hullámok vagy hajlatok száma, forma, tapintás és a szín.

A szőröknek három mikroszkopikus karaktere lehet informatív a fajszintű határozások tekintetében (kutikula, medulla, keresztmetszet) (**2. ábra**). A szőr felszínét, a kutikulát elhalt, lapos sejtek alkotják, amelyek nem tartalmaznak sejtszerveket vagy pigmentet. A kutikula sejtek egymáson helyezkednek el, részben átfedve, kitakarva az alattuk lévő kutikula pikkelyeket. Ezek

a tetőcserépszerűen egymást fedő sejtek lehetővé teszik, hogy az ujjunk közé fogva a szőrszálat kitapinthassuk a csúcsi és alapi rész irányát, még akkor is, ha csak egy töredék áll rendelkezésünkre. A pikkelyek elhelyezkedése lehet transzverzális (szélességük nagyobb a hosszúságuknál) vagy longitudinális (hosszabbak, mint amennyire szélesek), szélük pedig sima, cakkos vagy hullámos. A szőr felszínén néha megfigyelhetők mélyedések is, ezeket ároknak nevezzük és néhány rágcsálóra (pl. vörös mókus (*Sciurus vulgaris*)) különösen jellemzőek. A trichomorfológiával foglalkozó szerzők más-más nevezéktant használnak a gyakran átfedő karaktereket mutató minták megnevezésére. A hazánkban megjelent legátfogóbb mű (Tóth 2015) öt alapvető mintát különböztet meg: kehely, lepel, mozaik, szírom és rombusz.



2. ábra. Fajsztíntű határozáshoz használható mikroszkopikus bélyegek egy szőrszálon (studylib.net felhasználásával, saját ábra).

A medulla a szőrszál belső része, a velőállomány. A medullában a sejteken kívül levegővel telt üregek is megtalálhatóak, amelyek a hőszigetelésben játszanak fontos szerepet. Medulla esetében szintén öt alapvető mintázatot különböztethetünk meg (talléros, hálózatos, oszlopos, fragmentált, hiányos). A mintázaton kívül az úgynevezett medulláris index ($md = \text{medulla szélessége} / \text{teljes szőr szélessége}$) mérésével szerezhetünk fontos adatokat a határozáshoz (Sahajpal et al. 2007). A szőr keresztmetszeti képét speciális beágyazással kell elkészíteni (pl. bodzabélbe). Ha a beágyazás nem tökéletes, a metszet elhajolhat, durva nyomás esetén a minta deformálódhat és sokszor néhány mikrométeres elmozdulás is más formát eredményezhet, ezért a keresztmetszeti kép nem minden esetben produkál megbízható határozási bélyeget (Tóth 2002). Tóth (2015) kilenc féle keresztmetszeti formát különböztet meg (kör, ovális, oblong, konvex-konkáv, bikonvex, plánkonkáv, tetrakonkáv, háromszög és H-alak).

2.5.2. DNS diagnosztikai eljárások

A nem invazív módszerrel gyűjtött és tárolt ürülék, szőr és egyéb mintákból számos információhoz juthatunk. Amíg a morfológiai határozás tekintetében a szőr sok tulajdonságát figyelembe kell venni, addig a genetikai analízisek során egyetlen dologra, a DNS tartalomra szükséges koncentrálni.

Az összehasonlító genomanalízisen alapuló vizsgálatok bemutatták, hogy a DNS nem kódoló régiói (pl. ismétlődő szekvenciák, STR) alapján fajok vagy egyedek közti különbségeket lehet kimutatni. A teljes genom szekvenálása azonban időigényes és drága folyamat, ezért bizonyos faj- vagy egyedspecifikus szekvenciák sokszorosítására és összehasonlítására van szükség. A sokszorosítás után a vadbiológiai kutatásokban a fajhatározáshoz leggyakrabban mtDNS alapú, míg egyedhatározáshoz és rokonsági kapcsolatok feltárásához (genotipizálás) mikroszatellit (STR) alapú vizsgálatokat szoktak választani (Long et al. 2008).

A Taq (*Thermus aquaticus*), majd később egyéb (pl. Pfu) hőstabil DNS polimerázok felfedezése lehetővé tette (Arezi et al. 2003), hogy gyors, pontos és automatizált sokszorosítás után nagyszámú ismert DNS szekvenciát lehessen vizsgálni. A polimeráz láncreakció (PCR) alapú módszerek DNS vagy RNS szakaszok sokszorosítására képesek. Ez az eljárás a sejtekben végbemenő replikációt utánozza. A folyamathoz az alábbiakra van szükségünk:

- templát DNS: olyan DNS szakasz, amelyet sokszorosítani szeretnénk,
- primerek: amelyek meghatározzák a sokszorosítandó szakasz elejét és végét,
- puffer: ez biztosítja a teljes folyamat számára a megfelelő kémiai körülményeket,
- dezoxinukleotid-trifoszfátok (dNTP-k): amelyek felhasználásával készül el az új DNS szakasz (dATP, dCTP, dGTP, dTTP),
- DNS polimeráz: amely célja, hogy lemásolja a templát DNS/RNS szakaszt, valamint
- magnézium-klorid: kofaktor, amely nélkülözhetetlen a polimeráz számára a dNTP-k beépítése során (Heszky & Galli 2008).

Utóbbi négy összetevőt ma már ún. mastermix-ek összeállításával, egyben lehet megvásárolni. Ezzel egyébként csökkenthető a sokszoros pipettázás során történő esetleges kontamináció is (Pacheco, szóbeli közlés).

Maga a sokszorosítás (amplifikáció) három lépésből áll. Ezek a lépések folyamatos precíziós melegítésen és hűtésen alapszanak és akár 20-40 alkalommal is megismételhetők. Az első lépésben a DNS kettős spirál denaturációja történik meg kb. 90-94°C-on. Ezen a magas hőmérsékleten a két szál elválik egymástól és megkezdődhet az amplifikáció. A második lépésben a primerek felkapcsolódnak (annealing) a DNS templátunk célszekvenciáihoz (36-

72°C). A harmadik lépésben a polimeráz enzim megtalálja a felkapcsolódott primereket, és elkezd másolni a DNS szakaszt a reakcióközegben jelenlévő nukleotidok (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) felhasználásával (lánc hosszabbítás vagy extension). Ez a folyamat kb. 72 °C-on történik. Ezt követően a folyamat újra kezdődik már két DNS templát jelenlétével, így rövid időn belül exponenciálisan növekszik a sokszorosítandó DNS szakaszunk (Heszky & Galli 2008, videó: <http8>).

A leggyakrabban használt automata fluoreszcens szekvenálás művelete a PCR gépben (thermocycler) kezdődik. Itt kevés templát és fluoreszcens festék felhasználásával nagymennyiségű DNS szakaszt lehet létrehozni (sokszorosítani) a PCR reakció végére. A szekvenálás során egy DNS molekula vagy annak egy szakasza alapján meghatározásra került a DNS nukleotid sorrendje. Ez önmagában véve még nem informatív, de korábbi szekvenciák során számtalan ilyen kisebb-nagyobb DNS szakasz nukleotid sorrendje került felmérésre. Ezek az adatok ismert referenciafajoktól különböző adatbázisokba lettek összegyűjtve (pl. National Center for Biotechnology Information, GeneBank). A referencia adatbázisban található szekvenciák és egy terepi ismeretlen minta összevetésével (un. BLAST) pedig meghatározható, hogy a gyűjtött minta milyen fajtól származik (Altschul et al. 1990).

A mitokondriális DNS körülbelül 16.000 bázis hosszúságú cirkuláris molekula, amely külön sejtkompartimentben (mitokondrium) található, szövettípusonként eltér a száma, valamint sejtenként több kópiát tartalmaz (Egyed 2007). Ezen tulajdonságai miatt a régi, gyenge minőségű, degradált minták esetében is könnyebben vizsgálható, mint a genomi DNS (**2. táblázat**). Bioinformatikai módszerekkel a gerincesek teljes mitokondriális genomjait összehasonlítva meghatározták a konzervált (nem polimorf) régiókat, majd ezekre olyan amplifikáló/szekvenáló primereket terveztek, amelyek polimorf szakaszokat fogtak közre. Ezen szekvenciák segítségével filogenetikai vizsgálatokat tudunk végezni (fajhatározás). A mitokondriális 12S rRNS használható az igazságügyi diagnosztikában fajhatározásra (Melton & Holland 2007), mivel csak 150 bázis hosszúságú, így a degradált mintákon is jól működik. A mitokondriális 16S rRNS-t pedig széles körben használják fajok és alfajok elkülönítésére (Imaizumi et al. 2007).

A vadbiológiában gyakran használnak STR markerekre alapozott vizsgálatokat (Long et al. 2008). A mikroszatellitok olyan nem kódoló DNS szakaszok, amelyek nagy polimorfizmust mutatnak és 2-5 bp hosszúságúak (leggyakrabban di-, tri-, vagy tetranukleotidok). Segítségükkel rokonsági fokokat, populációbiológiai vizsgálatokat és egyedi azonosítást is végre lehet hajtani (genotipizálás). A mikroszatellitok vizsgálata fragment analízis során történik. A PCR-es sokszorosítás segítségével a DNS szakaszok méret és fluoreszcens festék színe szerint elválasztásra kerülnek egy genetikai analizátorban. A PCR termék az analizátorba kerülése előtt

már tartalmazza a fluoreszcens festékeket (piros, sárga, kék, zöld), illetve egy méretstandardot (size standard), amely megfestett és ismert méretű DNS szakaszokból áll. Ahogy az ismert és ismeretlen méretű jelölt DNS szakaszok feszültség hatására átjutnak az analizátor kapilláris rendszerén, méret alapján szétválasztódnak. A kisebb molekulásúlyú szakaszok gyorsabban haladnak a kapilláris rendszeren, mint a nagyobbak, így hamarabb érkeznek az őket detektáló kamerához. A kamerán áthaladva a különböző színekkel megfestett szakaszok csúcsokat generálnak (elektroferogram), amelyek szoftveres elemzése megadja, hogy az adott szakasz pontosan hány bázispárból (bp) áll (Boros et al. 2010, Novák 1999).

2. táblázat. Mitokondriális és nukleáris DNS közötti különbségek és a DNS minták használatának jellemzői.

Mitokondriális DNS	Nukleáris DNS
<ul style="list-style-type: none"> • nagyobb kópiaszámú, mint a nukleáris DNS, ezért degradált vagy kevés mintából is eredményesen kinyerhető 	<ul style="list-style-type: none"> • a lágy szövetminták friss vagy jól tartósított állapotban alkalmasak a DNS vizsgálatokhoz, azonban a csont- és fogminták hosszabb ideig képesek konzerválni a DNS-t
<ul style="list-style-type: none"> • anyai ágon öröklődik így filogenetikai vizsgálatokra alkalmas, közeli rokonfajok elválasztására nem minden esetben használható 	<ul style="list-style-type: none"> • biparentálisan öröklődik, nagyfokú polimorfizmusok miatt egyedazonosításra alkalmas
<ul style="list-style-type: none"> • sejtmaggal nem minden esetben rendelkező minták is vizsgálhatók (pl. hagyma nélküli szőrszál) • megfelelő technikával populációgenetikai vizsgálatok elvégzésére is alkalmas 	<ul style="list-style-type: none"> • használatával vizsgálhatók: rokonfajok közötti hibridizáció, abszolút egyedsűrűség, ivarhatározás, egyedek között rokonsági viszonyok, alapító- vagy palacknyakhatás, diszperziós vagy migrációs változók
<ul style="list-style-type: none"> • a szekvencia meghatározás miatt a vizsgálat egy mintára jutó költsége magasabb 	<ul style="list-style-type: none"> • a kezdeti anyagköltségek magasak (pl. marker beszerzés), de nagy mintaszám esetén az egy mintára jutó költség csökken
<ul style="list-style-type: none"> • a minták kezelése viszonylag egyszerű <ul style="list-style-type: none"> • nem invazív módon gyűjtött minták is felhasználhatóak a vizsgálatokhoz <ul style="list-style-type: none"> • a minták tartósítása és tárolása könnyen megoldható • komoly szakemberigény (terep, informatika, molekuláris biológia) • nem megfelelő tárolás esetén a vizsgálatok kivitelezhetősége erősen romolhat 	

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. A vizsgálati helyszínek

3.1.1. Fészekgyűjtés különböző élőhelyeken

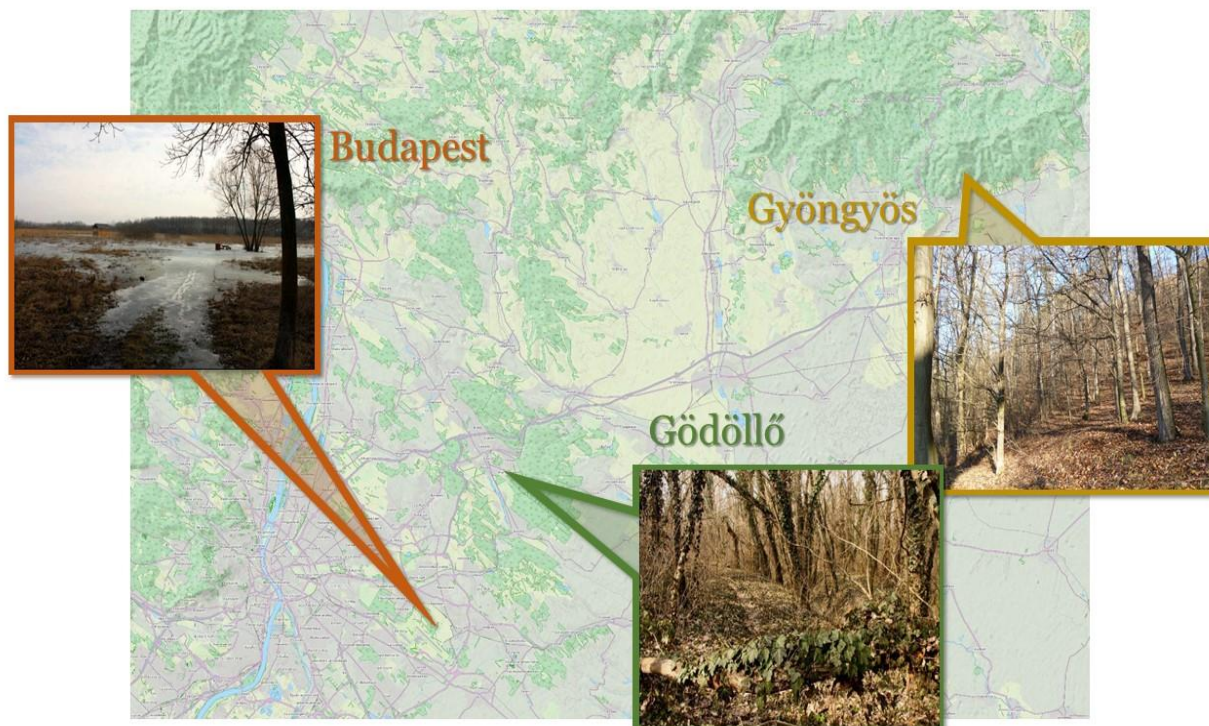
Fészekanalízisen alapuló vizsgálatomat három helyszínen végeztem: egy városi maradvány élőhelyfoltban, a Merzse-mocsárban (2011) és annak környékén (i), az erősen urbanizálódott gödöllői Alsóparkban és a Szent István Egyetem környékén (2012) (ii), illetve a mátrai Sár-hegy Natura 2000 területen (2015) (iii) (**1. térkép**).

A Merzse-mocsár Budapest XVII. kerületében található. A mocsarat mezőgazdasági területek, mezővédő erdősávok és telepített erdők (pl. akác, tölgyek) veszik körül, de bokorfüzes, fűz-nyár ligeterdők és száradó kékperjés láprétek is megtalálhatók itt. Rekreációs szempontból a fővárosiak által gyakran látogatott helyszín. A mocsarat Keletről az M0-ás autópálya, Délről a Ferihegyi repülőtér, Nyugatról és Északról pedig a XVII. kerület külvárosi kertés házai határolják.

A gödöllői Alsóparkot és Egyetemi parkot egy helyszínnek tekintetem az összefüggő zöldfelületek miatt. Ezekhez a helyszínekhez nem csak a parkok, de az azokat körülvevő cserjesávok és vonalas létesítmények (pl. vasúti sínek) szegélyzónái is hozzátartoztak. A gödöllői helyszínek sokkal sűrűbben lakott és látogatott helyek, mint az első vizsgálati helyszín. Az urbanizáció általi hatások (pl. gépkocsi forgalom, aszfalt utak, vonalas létesítmények) itt szembetűnőbbek, mint a Merzse-mocsár esetében.

A Mátra déli peremét alkotó 186 hektáros legtermészetszerűbb vizsgálati terület legmagasabb pontja mindössze 500 méter. A gyöngyösi Sár-hegy vulkanikus alapkőzettel rendelkezik, de a déli lejtőkön több helyen is lösz által borított a felszín. Vízforrásként a Szent Anna-tó van jelen, azonban az állandó vízforrás hiányában a tó vízszintje ingadozó. Társulásai között találunk cseres- és melegkedvelő tölgyeseket, árvalányhajas erdőssztyeppréteket, törpemandulás cserjéseket és magyar perjés sziklagyepeket.

A térképeket a QGIS térinformatikai szoftver (Quantum GIS Development Team (2016), Open Source Geospatial Foundation Project) segítségével készítettem el.



1. térkép. A budapesti, gödöllői és gyöngyösi fészek- és odúbélésanyag gyűjtések helyszínei.

3.1.2. Zárttéri helyszínek a szőrccsapdák tesztelésére és referenciák gyűjtésére

A referenciamintákat a morfológiai és genetikai vizsgálatok optimalizálásához a Veregyházi Medveotthonból, a Budakeszi Vadasparkból, a Horkai Állatkoordinációs Központból és a Magyar Természettudományi Múzeumból gyűjtöttem, hogy azok biztosan fajazonosak legyenek. A prototípusoknak kiválasztott és legyártott szőrccsapdákat a Budakeszi Vadasparkban teszteltem 2013. február-május között. A vadasparkban végzett tesztek során azt vizsgáltam, hogy a legyártott eszközök gyűjtenek-e szőrt, ha igen, mennyit. A morfológiai szőrhatározás pontosságának teszteléséhez szintén a vadaspark szolgáltatott mintákat.

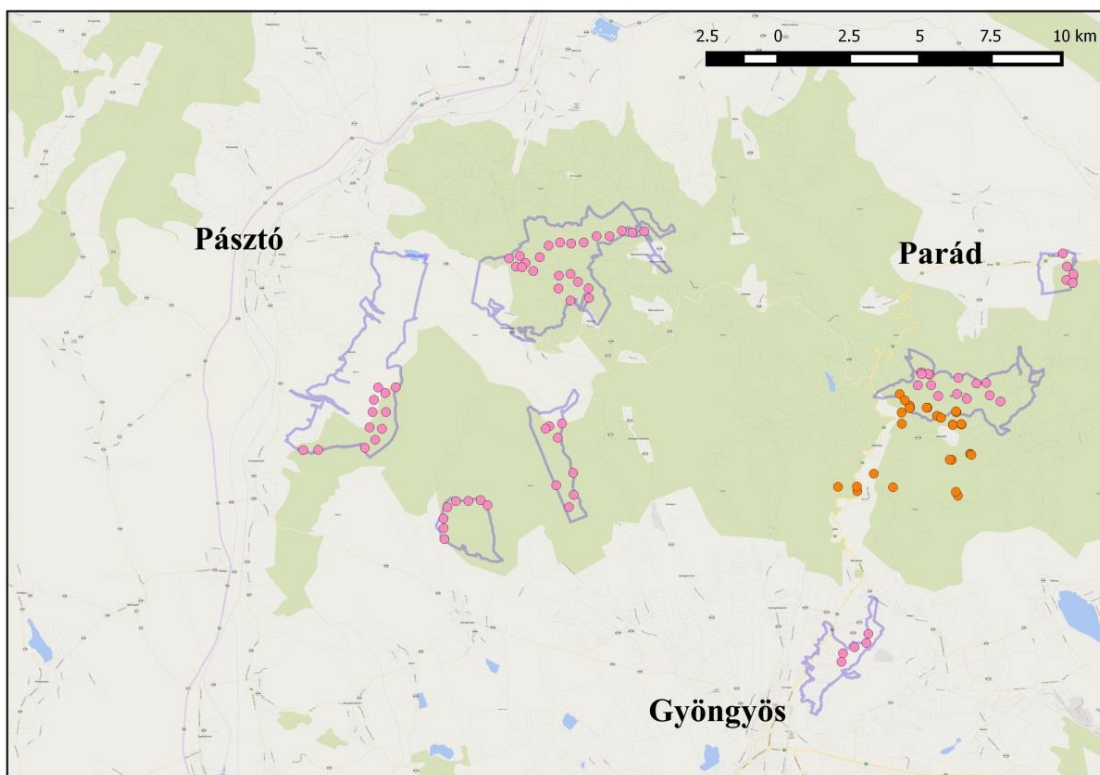
3.1.3. A szőrccsapdák és opportunistikus mintavételezések terepi helyszínei

A rendszeres szőrgyűjtési terepi monitoring tesztek két Natura 2000 (SPA) területen és tíz kisebb Különleges Természetmegőrzési Területen (SAC) történtek. A terepi vizsgálatok 2014. február és 2015. március között zajlottak, az intenzív csapdázási időszakok télen – több emlős ragadozó szaporodási időszakában – voltak.

A helyszínek a következők voltak: Felső-Kiskunsági szikes tavak és Mikla-pusztá (HUKN20009), Fülöpszállás-Soltszentimre-csengődi lápok (HUKN20013), Ökördi-erdőtelek-keceli lápok (HUKN20021), Gyöngyösi Sár-hegy (HUBN20046), Gyöngyöspatai Havas (HUBN20050), Gyöngyöstarjáni Világos-hegy és Rossz rétek (HUBN20048), Mátra északi letörése (HUBN20047), Mátrabérc-fallóskúti-rétek (HUBN20049), Nyugat-Mátra

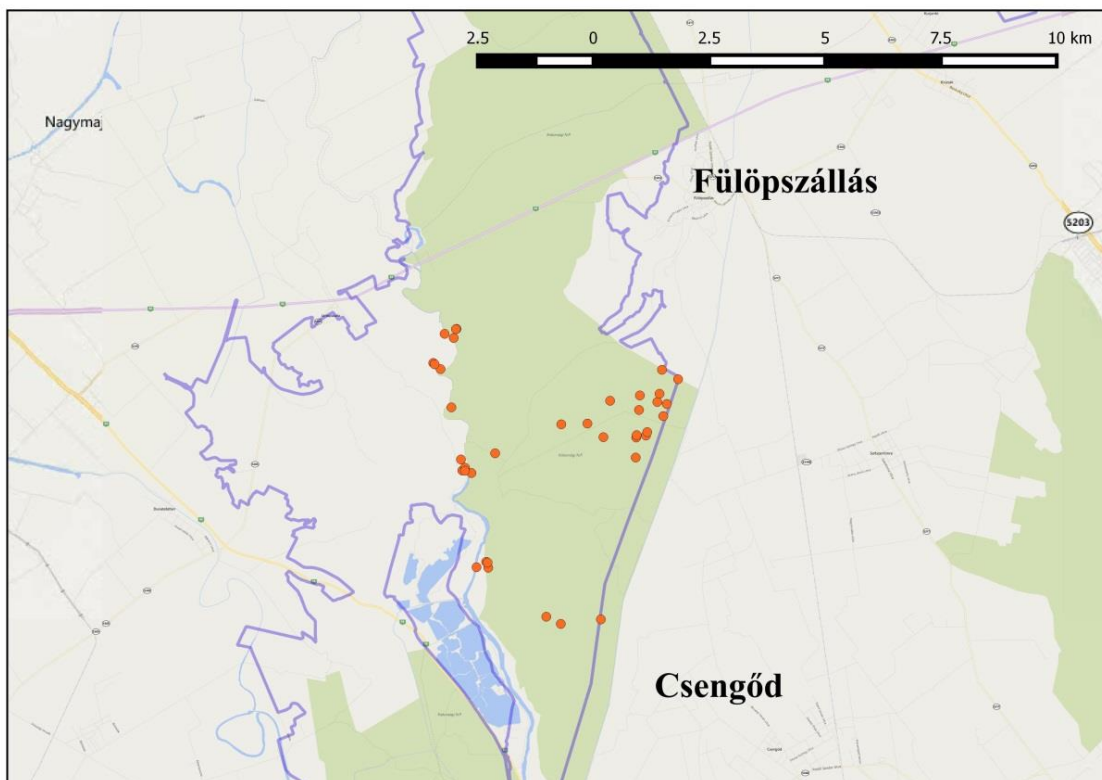
(HUBN20051), Recski Hegyes-hegy (HUBN20044), Mátra SPA (HUBN10006) és Kiskunsági szikes tavak és őrjegi turjánvidék SPA (HUKN10002).

A Mátra SPA területe 37 473 hektár, tengerszint feletti magassága ingadozó, 140 és 1015 méter közötti. A Mátra andezit alapkőzetű vulkanikus közephegység, növényzetére elsősorban a cseres-tölgyesek, gyertyános-kocsánytalan tölgyesek, gyertyános-bükkösök és szubmontán bükkösök jellemzőek (**2. térkép**).



2. térkép. A Mátra SPA területén található szőrccsapdák elhelyezkedése (narancssárga: 2013, rózsaszín: 2014-2015).

A kiskunsági SPA (HUKN10002) komoly madártani jelentőséggel bíró terület, melynek nagysága 35 748 ha. Alföldi terület, amelynek tengerszint feletti magassága 80-100 méter körüli. A terület a Dunamenti-síkság részét képezi, szikes tavak és puszták láncolata jellemzi a Kiskunságot, amelyet tanyás területek és mezőgazdasági táblák tarkítanak. Elsősorban pusztai- és vízimadárfaajok szempontjából jelentős a terület (**3. térkép**).



3. térkép. A Kiskunság SPA területén található szőrscsapdák elhelyezkedése (2013-2015).

A rendszeres mátrai és kiskunsági monitoring teszteken kívül az ország számos helyszínéről (pl.: Jászság, Zempléni-hegység, Bükk... stb.) gyűjtöttem vagy kaptam fajszintű azonosítást igénylő mintákat. Ezek az opportunisztikus módon gyűjtött minták különböző okok (pl.: mérgezéses esetek, egyéni nagyragadozó észlelések, mintavétel élvezefogó csapdával) miatt kerülhettek a Vadvilág Megőrzési Intézethez (VMI).

A térképeket QGIS térinformatikai szoftver (Quantum GIS Development Team 2016) segítségével készítettem el.

3.2. Vizsgálati módszerek

3.2.1. Irodalmi áttekintésre alapozott elemzések

A tudományos folyóiratok cikkeit 2006 és 2015 között két keresőmotorral (Google Scholar, Science Direct) gyűjtöttem. A szakirodalmi gyűjtés során az emlős ragadozókra koncentráló szőrscsapdás irodalmakat ellenőriztem, azokon belül is elsősorban a mesterséges eszközöket használó vizsgálatokat. A ragadozók közül az európai fajok képviselték érdeklődésem középpontját, de a kevés rendelkezésre álló irodalom miatt a teljes Holartikus ökozónából történtek irodalmi gyűjtések. A hasonló vagy vikariáló fajokat egy csoportba gyűjtöttem és közösen vizsgáltam (**3. táblázat**). A szakirodalmi gyűjtésből kizártam a trópusi élőhelyeken elvégzett vizsgálatokat.

3. táblázat. Az irodalmi feldolgozás során egy kategóriába sorolt fajok jegyzéke.

Észak-Amerika		Európa		Meghatározott kategória
Fajnév	Latin név	Fajnév	Latin név	
Kanadai hiúz	<i>Lynx canadensis</i>	Eurázsiai hiúz	<i>Lynx lynx</i>	Hiúz
Vörös hiúz	<i>Lynx rufus</i>			
Barnamedve	<i>Ursus arctos</i>	Barnamedve	<i>Ursus arctos</i>	Medve
Grizzly medve	<i>Ursus arctos horribilis</i>			
Feketemedve	<i>Ursus Americanus</i>			
Kutya	<i>Canis lupus familiaris</i>	Kutya	<i>Canis lupus familiaris</i>	Kutyaféle
Szürke farkas	<i>Canis lupus</i>	Szürke farkas	<i>Canis lupus</i>	
Prérifarkas	<i>Canis latrans</i>	Aranysakál	<i>Canis aureus</i>	
		Vadmacska	<i>Felis silvestris</i>	
Házi macska	<i>Felis catus</i>	Házi macska	<i>Felis catus</i>	Macskaféle
Észak-amerikai vidra	<i>Lutra canadensis</i>	Európai vidra	<i>Lutra lutra</i>	Vidra
		Eurázsiai borz	<i>Meles meles</i>	Borz
Halásznyest	<i>Pekania pennanti</i>	Nyest Nyuszt	<i>Martes foina</i> <i>Martes martes</i>	Menyétféle
Amerikai nyest	<i>Martes americana</i>			

3.2.1. Városi fészekgyűjtés

A terepbejárás során a sűrű csenderesek átvizsgálására koncentráltam, mert ezeken az élőhelyeken jó fészkelő- és búvóhelyet találhatnak az énekesmadarak, valamint a fészkek olyan magasságban helyezkednek el, amely különösebb nehézség nélkül is elérhető. A fészkek megtalálási helyét GPS készüléken (Garmin Geko 201) rögzítettem. A mintákat külön papírzacskóba helyeztem, amelyeket feliratoztam (GPS pont, dátum, gyűjtő neve). A fészkeket ezek után egy jól szellőző helyiségben szárítottam, majd mélyhűtőbe helyeztem. A laborvizsgálatok megkezdése előtt a mintákat UV-s csírátlanító berendezés alá helyeztem. A minták szétszedése fehér lapon történt, majd a talált szőrszalakat simítózáras polietilén tasakokba helyeztem és egyedi kóddal láttam el (gyűjtő neve, terepi azonosító, laborazonosító, gyűjtés

dátuma, szétbontás dátuma). A Merzse-mocsárban egy alkalommal történt fészekgyűjtés (2011.02.17.), Gödöllőn pedig két alkalommal (2012.02.15. és 2012.02.29.).

3.2.2. Zárttéri szőrscapda tesztek

A tesztek során három típust próbáltam ki: dörgölözőpárnát (*rub pad* – A), módosított élvefogó ládacsapdát és PVC csőcsapdát (*cubbies* – B, C) (3. ábra). A szőrscapda alaptípusokat a következő fajokhoz helyeztem be: vadászgörény (*Mustela putorius furo*), vadmacska, eurázsiai hiúz, nyest, aranyakál és barnamedve.

A-típus: a csapdák 10 x 10 cm-es szőnyegdarabokból álltak, amelyeken 30 cm-es tépőzár volt a szélektől kb. 2 cm-re (1). Alternatív szörgyűjtő felületként még egy levágott nyelű drótkéfé is használtunk (2), illetve 8-9 csavart (3) is átfűrtünk a szőnyegdarabon.

B-típus: ez a csapdatípus egy 85 x 15 x 15 cm-es fém ketrec- vagy ládacsapdából állt. A szörgyűjtő felületeket a csapda belső-felső („plafon”) oldalára rögzítettem egy lambéria darabra, majd a csapda lengőajtóját kitámasztottam, hogy a csapda ne tudjon elsülni. Annak érdekében, hogy az állat számára a belső teret még jobban leszűkítsem, így még nagyobb legyen az esély arra, hogy hozzáér a szőrszedő felülethez, a lambéria és a csapda felső része közé egy spirálrugót is erősítettem. A szörgyűjtő felület tépőzár (1), kétoldalú ragasztó (2), drótkéfe (3) és szögesdrót (4) voltak.

C-típus: ez a csapda görény (d=10,5 cm) és nyest (d=12,5 cm) méretben is elkészült. Mindkét típus PVC csőből készült és 40 cm hosszú volt. A csapda felső részére itt is szörgyűjtő felületeket rögzítettem a B-típusú csapdához hasonlóan (1-4). Ezt a henger alakú csapdát alaposan kellett stabilizálni a talajon.

A „B”- és „C”-típusú csapdákat a talajszintre helyeztem el, míg az „A”-típust dróttal rögzítettem a kifutók oldalára. Az „A” csapdát hat fajon teszteltem (vadmacska, nyest, vadászgörény, hiúz, medve és aranyakál), a „B”-t háromon (vadmacska, nyest, görény) a „C”-t pedig egy fajon (nyest). Csalinak leölt csincsillát, napos csibét, nyúlfit vagy tengerimalacot használtam és a csalikat 3-4 naponta frissítettem. Az „A” csapdák minden szörgyűjtő felülettel 1-1 hétig voltak tesztelve a kifutókban. A „B”- és „C”-típusú szörgyűjtők négy hétig voltak elhelyezve a nyestnél és görénynél és három hétig a vadmacskánál (csak „B”). A csapdákat nem vettem ki a kifutóból, viszont a szörgyűjtő felületeket hetente cseréltem az eszközökben.

A dörgölözőpárnákat (A-típus) a szaganyag nélküli teszteknel szándékosan olyan helyre helyeztem ki, ahol az állatok sokat tartózkodnak, mert ennél a tesztnél azt vizsgáltam, hogy a négy eszköz közül melyik gyűjti a legtöbb szórt. Ezt követően a legtöbb szórt gyűjtő eszközt kiválasztva elvégeztem az attraktánsos tesztek, itt már az állatok által keveset látogatott

helyekre rögzítve a dörgölözőpárnákat, azokat szaganyaggal átitatva. Itt azt vizsgáltam, hogy melyik szaganyag csalogatja oda az állatokat a párnákhoz.

Az így begyűjtött szőröket (UH és GH egyaránt) polietilén tasakokba helyeztem és mínusz 20°C-on mélyhűtve tároltam. A minták feldolgozása a gyűjtést követően 3-4 héten belül történt.



3. ábra. A zárttéri tesztek során használt különböző csapdatípusok (dörgölözőpárnák (A-típus), módosított ládacsapda (B-típus) és csőcsapda (C-típus)).

A Szent István Egyetem Vadvilág Megőrzési Intézetének hátsó kertjében elhelyezett kameracsapdákkal (LTL Acorn 5210a) az attraktánsos tesztek pontosítottam tovább (2014. február). A kertben tartóoszlopokra két méterre egymástól rögzítettem négy darab „A”-típusú drótkéfés csapdát (2), amelyeket különböző szaganyagokkal láttam el (Hagopur Fox kereskedelmi forgalomban lévő csalianyag (i), lazacolaj (ii), macskagyökér tinktúra (iii) és száraz illetve folyékony macskamenta (iv)). Egy ötödik csapdát 100 méterre az előzőektől rögzítettem és ezt is elláttam macskamentával. Az attraktánsok mennyisége 4 ml volt. Heti egy alkalommal frissítettem az attraktánsokat négy héten át.

3.2.3. Terepi mintagyűjtés Natura 2000 helyszíneken

A terepi mintagyűjtések 2013 telétől 2015 nyaráig tartottak. Összesen 100 helyszínre kerültek ki szőröcsapdák a Mátrában. Ezek közül négy drótkéfés, kilenc pedig ragasztós ládacsapda volt. Hat drótkéfés és nyolc ragasztós PVC csapda is kikerült a területekre. A csapdák jelentős részét (n=85) dörgölözőpárnák tették ki (ld. **2. térkép**, korábban). A két év során végrehajtott 47 kiszállással az egyes csapdákat az időjárási és terepi viszonyoktól, valamint emberi tényezőktől (rongálás, ellopás) függően 2-6 alkalommal tudtuk ellenőrizni.

A kiskunsági mintaterületre 38 csapdát helyeztünk, amelyből négy drótkéfével, nyolc pedig kétoldalú ragasztóval ellátott ládacsapda volt. PVC csőcsapdából 20 darabot helyeztünk ki (kilenc drótkéfés és 11 ragasztószalaggal ellátott). Hat darab dörgölözőpárna is kikerült erre a

mintaterületre (ld. **3. térkép**, korábban). A mintaterületen 18 terepi kiszállást végeztünk és 2-7 alkalommal történt meg az egyes csapdák ellenőrzése.

A zárt téren tesztelt csapdatípusokat a terepen költséghatékonysági szempontok, valamint az egyszerűbb felhelyezhetőség miatt kis mértékben módosítottuk. A kihelyezéshez és elkészítéshez szükséges alapanyagokat, valamint felhasználásuk módját a 11.2. melléklet foglalja össze.

Az elkészített szőrscapdákat azokra a helyekre telepítettük, ahol a vizsgálni kívánt állatok előfordulási valószínűségét nagyobbban vélelmeztük (pl. vízfolyások mellé, jellegzetes tereptárgyak közelében, amelyek alkalmasak jelölésre, kaparófákhoz). Az emberi zavarás, esetleges rongálás elkerülése érdekében javasolt a turisták, erdőjárók által nem, vagy kevésbé használt területekre kihelyezni az eszközöket.

Drótkefés dörgölődzőpárna: a csapdát az önmetsző facsavarok segítségével csavaroztuk fel olyan magasságba, hogy a vizsgálandó faj könnyen meg tudja azt közelíteni. A drótkefét rögzítő felső csavar segítségével a poláranyagot a kefe és a fa közé szorítottuk. Ezt itattuk át a folyékony attraktánsal (pl.: hódkasztórium, glicerin, macskagyökér vagy macskamenta 6:1:1-es keveréke, kb. 4 ml). *Módosított ládacsapda:* kihelyezésnél szem előtt tartottuk az élvezefogó csapdázásra vonatkozó alapszabályokat. A csapdának stabilan kellett állnia, jól elrejtve, sík területen. Lehetségg szerint terelő folyosót is kialakítottunk az csapdánál. *PVC csőcsapda:* kihelyezése megegyezett a ládacsapdáéval (**4. ábra**). Kihelyezésnél – a hengeres formából adódóan – ügyelni kellett arra, hogy a csapda stabilan meg legyen támasztva, és/vagy kissé be legyen ásva a talajba. A csapdák helyét útpontként jelöltük egy Garmin 64ST GPS-szel.

A szőrscapdákat rendszeresen (kéthetente vagy havonta) ellenőriztük. Az attraktánst és a csalifalatot minden ellenőrzés idején frissítettük. Az ellenőrzések alkalmával a sérült vagy elloptott csapdákat kicseréltük. Amikor jelentős havazás történt, a csapdákat ki kellett ásni, mert a szőrgyűjtő felületeket teljesen befedhette a hó. Az ellenőrzés során minden alkalommal alaposan (nagyítóval, lupéval) ellenőriztük, hogy a csapdán vagy annak közvetlen környezetében találunk-e szórt. Fontos lehet, hogy néha csak egy-két szőrszál található a csapdán, de helyesen tartósítva és vizsgálva ezek is szolgáltathatnak fontos adatokat. Ha a csapda sok szórt tartalmazott, akkor lecseréltük egy új eszközre, ha csak néhány szőrszál találtunk a csapdán, akkor csipesszel gyűjtöttük be a mintákat és a csapdát a helyszínen hagytuk. A begyűjtött csapdákat vagy szőrmintákat egy szilikagélt tartalmazó polietilén tasakba helyeztük.



4. ábra. Terelőfolyosóval ellátott PVC csőcsapda (B-típus).

A mintagyűjtés és csalizás közben a lehető legkevesebbet érintkeztünk a csapdával, azt is lehetőleg gumikesztyűben. Ennek egyrészt a keresztkontamináció miatt lehet jelentősége, másrészt pedig az emberi szagminták hátrahagyása miatt. A szőrscapda egyértelmű beazonosíthatósága miatt a következő adatokat tüntettük fel a zacskókon: dátum, begyűjtő neve, terület, csapda száma, körülbelüli mennyiség, típus (UH/GH). A begyűjtött minták ezt követően mélyhűtőbe (-20°C) kerültek. A csapdaellenőrzésről jegyzőkönyvet (11.3. melléklet) vezettünk és fotódokumentációt is készítettünk.

3.3. Laboratóriumi vizsgálati módszerek

3.3.1. A morfológiai szőrhatározás módszertana

A szőrök preparálásánál figyelembe vettem Teerink (1991), Tóth (2003), Tóth (2015) és Lanszki (szóbeli közlés) útmutatásait. A szennyeződések eltávolításához a leírások és saját tapasztalataim alapján 70%-os alkoholban történő áztatást választottam. Néhány órás áztatás után a szőrt etil-éterbe helyeztem pár percre.

A makroszkopikus tulajdonságok közül figyelembe vettem a szőr alakját, színét, sávozottságát és hosszát, valamint a tapintását. A mikroszkopikus karakterek esetében fontos

azonosítási bélyeg a szőr felületének pikkelyszerű lenyomata (kutikula), valamint a levegővel telt velőállománya, a medulla.

A kutikula lenyomat készítéséhez 20%-os zselatint vagy zselatin fixet használtam. A minták tartósítása érdekében a zselatinba néhány szem thimol kristályt helyeztem (Tóth 2003). A zselatin elkészítése után megvártam, amíg kihűl az anyag, majd újra melegítettem, hogy ezzel a keletkezett légbuborékokat eltávolítsam, és azok ne befolyásolják a minta minőségét. Az újra folyóssá melegített zselatint tárgylemezre csepegtettem, majd vékony filmrétegbe széthúztam egy üvegbot segítségével. Egy-két perc várakozás után a szőrt belehelyeztem a zselatinba, majd megvártam, amíg a minta teljesen megszilárdul ezt követően pedig a szőrt egy rovartű segítségével eltávolítottam a mintából. Fontos, hogy a zselatin ne lepje el teljesen a szőrt, mert így a minta értékelhetetlenné válik. A zselatinban ezután a fénymikroszkóp alatt láthatóvá vált a kutikula lenyomata.

A medulla minta készítéséhez a szőrszálat tárgylemezre helyeztem és körömlakkal legalább két ponton rögzítettem (nagyobb szőr esetén több ponton is). A szőrszálat ezután a felnyélen szikével kettévágtam, majd immerziós olajat csepegtettem rá. Erre azért van szükség, mert a legtöbb taxon esetében a levegővel telt medulla mintázata csak az olajos festés után válik láthatóvá (gyakori kivételek például a Lagomorpha rend képviselői). Tartós minták készítéséhez az olaj helyett kanadabalzsamot használtam. A körömlakkal kapcsolatos tapasztalataim megegyeznek Tóth (2003) tapasztalataival, miszerint ez az anyag rontja a minta minőségét a fénytörési tulajdonságai miatt.

A kutikuláról és medulláról fénymikroszkóp és digitális mikroszkópkamera segítségével képeket készítettem 400x-os vagy 100x-os nagyítással. A leginformatívabb jellemzőket figyelembe véve a kutikula alnyéli szakaszáról és felnyéli szakaszának legszélesebb pontjáról egy-egy képet készítettem. Hasonló módon a medulláról a felnyél legszélesebb pontján olajos preparálással és anélkül egy-egy képet készítettem (Tóth 2003, Teerink 1991). Ennek köszönhetően optimális esetben egy szőrszálról legalább négy kép készült.

A szőrhatározás módszertanának elsajátítása és a pontosabb határozás érdekében 33 fajból álló referenciagyűjteményt készítettem. Minden fajtól legalább három szőrszálat gyűjtöttem dorzális testtájáról. A gyűjtött minták egyaránt származhattak preparátumokról, élő példányoktól és elhullott egyedektől. A minták a következő fajokból származtak: aranysakál (*Canis aureus*), kutya (*Canis familiaris*), szürke farkas (*Canis lupus*), róka (*Vulpes vulpes*), házi macska (*Felis catus*), vadmacska (*Felis silvestris*), hiúz (*Lynx lynx*), menyét (*Mustela nivalis*), borz (*Meles meles*), nyest (*Martes foina*), házi görény (*Mustela putorius*), molnárgörény (*Mustela eversmanni*), vidra (*Lutra lutra*), nyestkutya (*Nyctereutes procyonoides*), mosmómedve (*Procyon lotor*), barnamedve (*Ursus arctos*), házi egér (*Mus musculus*), mogyorós pele

(*Muscardinus avellanarius*), vándorpatkány (*Rattus norvegicus*), vörös mókus (*Sciurus vulgaris*), ürge (*Spermophilus citellus*), mezei pocok (*Microtus arvalis*), eurázsiai hód (*Castor fiber*), pézsmapocok (*Ondatra zibethicus*), üregi nyúl (*Oryctolagus cuniculus*), mezei nyúl (*Lepus europaeus*), keleti sün (*Erinaceus roumanicus*), gímszarvas (*Cervus elphus*), dámszarvas (*Dama dama*), őz (*Capreolus capreolus*), muflon (*Ovis aries*), ló (*Equus caballus*) és ember (11.4. melléklet).

A vaktesztek során három független szakértő 11 különböző fajtól (róka, hiúz, vadmacska, aranysakál, nyest, borz, mosómedve, nyestkutya, vadászgörény, farkas, medve) származó, ismeretlennek kódolt mintát kapott az egyes fajok négy-négy testtájáról (hát, oldal, has, pofa). Morfológiai határozás során a szakértők faj szinten határozták meg az ismeretlen referenciamintákat.

3.3.2. A genetikai szőrhatározás módszertana

A terepen szőrscapdákkal vagy véletlenszerűen (pl. csapárol, fekhelyről, fészekről, elhullott, elejtett állatról) összegyűjtött mintákat, illetve állatkertek, múzeumok, vadgazdálkodók gyűjtéséből származó ismert eredetű referenciamintákat dolgoztunk fel DNS diagnosztikai módszerek használatában jártas laboratóriumokkal (Nemzeti Agrárkutatói és Innovációs Központ, Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézet (NAIK MBK), Nagy Gén Diagnosztikai és Kutatói Kft., Biomi Kft., CIBIO-InBIO (Vairão, Portugália)) DNS koncentráció ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) és tisztaság mérése (A260/A230), valamint fajazonosítás céljából. A genetikai vizsgálatokat morfológiai azonosítás előzte meg.

Az előzetes genetikai vizsgálatokat a szőrökben található DNS mennyiségére és tisztaságára vonatkozóan a Nagy Gén Diagnosztikai és Kutatói Kft. segítségével dolgoztam fel az alábbiak szerint. Összesen 10 faj (róka, hiúz, vadmacska, aranysakál, nyest, borz, mosómedve, nyestkutya, vadászgörény, farkas) 4-4 testtájáról (hát, oldal, has és pofa) kerültek leadásra szőrök az elővizsgálatokhoz. Ezeket a szőröket ismert állatokból téptük csipesz segítségével zárt téren (Budakeszi Vadaspark). Továbbá 28 szőrmintát is megvizsgáltunk, amelyeket az állatok kifutóiban a szőrscapdák gyűjtöttek (nem invazív minták). Eppendorf csövekbe (1,5 ml) 4-5 darab szőrszálát helyeztünk. A DNS izolálása Genomic DNA kit (Zymo Research) felhasználásával történt, a gyártó leírását követve. A koncentráció mérése NanoDrop ND-1000 spektrofotométerrel történt. Az izolált DNS-t 50 μl desztillált vízben és 50 μl biotin bufferben eluláltuk. A megtisztított DNS-t -20°C fokon tároltuk steril Eppendorf csövekben. Az 1,8-as A260/A230 értéket meghaladó mintákat jó minőségű mintáknak, a 2,0-s érték felettieket ideális mintáknak tekintettük.

A későbbi vizsgálatokat (mtDNS alapján történő fajhatározás) az MBK és Biomi Kft. laboratóriumaiban végeztük a következők szerint. Szőr, izom-, és májszövetekből, illetve ürülékmintákból genomi és mitokondriális DNS-t izoláltunk. Az egyes DNS minták izolálásához különböző kitéket használtunk a gyártók utasítása szerint (QIAamp DNA Investigator Kit (QIAGEN), Genomic DNA Tissue Mini Kit (Genaid) és Isolate Fecal DNA Kit (Bioline)). A DNS koncentrációt ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) és tisztaságot (A260/A280) ND-1000 spektrofotométer (NanoDrop) segítségével mértünk meg.

A mitokondriális DNS vizsgálatokhoz a Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA Polymerase enzimet (Thermo Scientific Inc. USA) használtuk, a gyártó utasítása szerint; DNS izolálás nélkül közvetlenül szövetből pedig a Phire Animal Tissue Direct PCR Kit-et (Thermo Scientific Inc, USA) használtuk a gyártó által ajánlott Dilusion protokoll szerint. A DNS fragmentek amplifikálásához egy PTC-1200 DNA Engine Cycler (Bio-Rad Laboratories Inc, USA) készüléket használtunk, a 11.5. mellékletben látható PCR programmal. A PCR termékeket 2%-os etídium-bromiddal festett agaróz gélen futtattuk meg (1 h, 20 V/cm) és UV fényben tettük láthatóvá, Chemi Doc MP Imaging System (Bio-Rad, USA) használatával.

A két mitokondriális gén, amelyre vizsgálatainkat terveztük a 12S rRNS, valamint a 16S rRNS génjei voltak (Imaizumi et al. 2007, Melton & Holland 2007). A publikált primerekkel PCR reakciókat mértünk össze, majd a keletkezett termékeket Gel/PCR Fragments Extraction Kit (Geneaid Biotech Ltd., Tajvan) használatával tisztítottuk, a szekvenciájuk pedig két irányból lett meghatározva ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems Group, USA) készüléken (Biomi Kft.). A kapott szekvenciákat a DNASTar programcsomag SeqMan Pro programjával (DNASTAR Inc., USA) illesztettük. Az így kapott egyedi szekvenciákat a National Center for Biotechnology Information génbankjában (GeneBank) található szekvenciákkal vetettük össze BLAST program (Altschul et al. 1990) segítségével.

3.4. Statisztikai módszerek és szoftverek

A leíró statisztikai adatokat, β -diverzitás számítását és a diagramokat Microsoft Office Excel 2016 programmal készítettem. A testtájak határozhatósága közötti különbségek kimutatására Chi^2 tesztet, a szőrökben található DNS mennyiség vizsgálatára pedig Wilcoxon tesztet és ismétléses ANOVA-t használtam. A statisztikai tesztek Prism 6 (InStat GraphPad 2016) szoftverrel hajtottam végre.

Az egyes vizsgálati terüetek fajdiverzitása közötti különbségek meghatározása Jaccard hasonlósági koefficiens (Jaccard index) használatával történt. A három diverzitás érték (α , β és γ)

közül a Jaccard index az élőhelyek közti (β -diverzitás) hasonlóságot (szimilaritást) veti össze az alábbiak alapján (Real 1999):

$$J = C / A + B - C$$

ahol,

J= Jaccard index

C= a két összehasonlítandó helyen kimutatott fajok száma

A= azon fajok száma, amelyek A élőhelyen találhatóak meg

B= azon fajok száma, amelyek B élőhelyen találhatóak meg

$0 \leq J \leq 1$, ha $J= 0$, akkor a két terület fajdiverzitása teljesen különböző, ha pedig $J= 1$, akkor a két élőhelyen azonos fajok fordulnak elő.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Irodalmi áttekintésre alapozott vizsgálatok

Összesen 26 olyan szakirodalmi tételt találtam az adatbázisokban, amelyek a keresett fajokra koncentráltak. Ezek között olyan irodalmak is szerepeltek, amelyek több fajjal foglalkoztak, így a végleges mintaszám nagyobb lett (n=35). A források mintegy fele (n=14, 53,85%) a Palearktisz faunartományban található ragadozókkal foglalkozott, míg a másik fele (n=12, 46,15%) a Nearktisz faunartományban találhatóakkal. Az irodalmak az alábbiak szerint oszlottak meg a két terület között: hiúz (50-50%), kistestű macskafélék (80-20%), kutyafélék (40-60%), medvefélék (60-40%), vidra (50-50%), borz (100-0%) és menyétfélék (42,86-57,14%).

Az dörgölözőpárnákat elsősorban hiúzak esetében használták (n=7, 87,5%). Kistestű macskaféléknél az illatkarók vagy szagesapdák voltak a leggyakrabban említve (n=5, 80%). Két vizsgálat (40%) gyűjtött kutyaféléktől szőrmintát fészekanyagból és további kettő (40%) mintagyűjtés dörgölözőpárnákat használt. A természetes dörgölözőfelületeket (pl. fatörzsek) kizárólag a medvék esetében használták (n=5, 100%). A természetes szőrgyűjtési felületek hatékonyságának növelése céljából szögesdróttal betekert fa- és oszlopcsapdákat szintén medvék esetében alkalmaztak több esetben (n=3, 60%). Vidráknál a talált két forrás egyike (50%) módosított lábfogó vasakkal gyűjtött szőrmintát, míg a másik (50%) madárfészkekben talált szőröket. Borzszőröket madárfészkekben (n=2, 66,66%) vagy csapára (kotorék elé) kihelyezett szögesdróttal (n=1, 33,33%) lehetett kimutatni. Menyétféléket sikertelenül próbáltak dörgölözőpárnákkal mintázni (n=1, 12,5%), ugyanakkor cső- és ládacsapdák több esetben gyűjtöttek szőrt ezektől a fajoktól (n=5, 62,5%). Az irodalmakban talált 41 mintavételi eljárásból a legritkábban a módosított lábfogóvasak (vidra, n=1, 2,44%) és a szőrgyűjtő karámok (medve, n=1, 2,44%) kerültek elő. A dörgölözést kiváltó eszközök (n=15, 36,59%) és a madárfészkek (n=9, 21,95%) gyakran használt módszerek az egyes fajok esetén. A hét célcsoport közül csak a medvéket nem lehetett egy alkalommal sem kimutatni madárfészkekből (**4. táblázat**).

4. táblázat. Egyes fajcsoportok esetén leggyakrabban használt szőrgyűjtési módszerek

	Dörg. párna	Illatkaró	Karám	Oszlop	Csapára helyezett	Cső- vagy ládacsap.	Módosított csapda	Term. dörgölőző	Fészek, odú	Irodalom
<i>Hiúz</i>	+	+							+	Schmidt & Kowalczyk 2006 Long et al. 2007 Ruell & Crooks 2007 Tóth 2008 Comer et al. 2011 Heurich et al. 2012 *Matthew 2012 Davoli et al. 2013
<i>Macskaféle</i>		+					+		+	Tóth, 2002, Tóth 2008 #Anile et al. 2012 Hanke & Dickman 2013 Steyer et al. 2013 Kéry et al. 2010
<i>Kutyaféle</i>	+	+							+	Patkó et al. 2014 Ruell & Crooks 2007 Tóth 2008 Ausband et al. 2011 *Matthew 2012
<i>Medveféle</i>									+	Pérez et al. 2009 Karamanlidis et al. 2010 Stetz et al. 2010 Sawaya et al. 2012 Frosch et al. 2014
<i>Vidra</i>							+		+	DePue & Ben-David 2007 Patkó et al. 2014
<i>Borz</i>					+				+	Tóth 2008 Balestrieri et al. 2010 Ondrušová & Adamík 2013
<i>Menyétféle</i>	+								+	Pauli et al. 2008 Tóth 2002, Tóth 2008 Williams et al. 2009 Mullins et al. 2010 Ondrušová & Adamík 2013 Zielinski et al. 2013 Olson et al. 2014 #Long et al. 2007

* = alacsony szintű detekció

= sikertelen mintagyűjtés

A legtöbb vizsgálatban (n=23, 60,53%) csalit vagy attraktánst használtak az állatok csapdához történő csalogatása során. A 26 vizsgálatból hét (23,08%) esetében használtak egynél több csalit vagy attraktánst. A vizsgálatokban gyakrabban (n=19, 40,43%) használtak attraktánsokat, mint csalifalokat (n=7, 14,89%). A hiúzra (n=7, 87,5%) és egyéb, kisebb testű macskafélékre (n=4, 80%) irányuló vizsgálatok szinte kizárólag attraktánsokat használtak. A hiúz esetén a macskamenta és hódkasztórium bizonyultak a leggyakrabban használt szaganyagoknak (n=6, 75%). Macskagyökér főleg a kistestű macskafélék (n=4, 80%) csalogatásához lett felhasználva, de egy (20%) esetben e fajoknál is használtak macskamentát. Kutyafélét is vizsgáltak szaganyagok kutatásokban (n=3, 60%), ahol a leggyakrabban (n=2, 40%) kereskedelmi forgalomban kapható szagkeverékekkel operáltak. Medvék vizsgálatát a legtöbbször (n=4, 80%) csali nélkül végezték. Vidráknál a csali (n=1, 50%) kereskedelmi forgalomban lévő attraktáns volt. Borzokat minden esetben (n=3, 100%) passzív vagy csali nélküli módszerekkel vizsgáltak. A menyétféléket viszont csalival csalták a csapdához (n=6, 75%). Az esetek 42,86%-ában (n=3) folyadékkal, de 57,14%-ban (n=4) tényleges csalifalattal (11.6. melléklet).

A legtöbb (n=32, 84,21%) szörgyűjtésre alapozott vizsgálatot olyan magterületeken hajtották végre, ahol a célfajok nagyobb állománysűrűségben találhatóak meg. Az elterjedési terület szélén (periférián) található populációkban csak ritkán (n=3, 7,89%) hajtottak végre vizsgálatokat. Három (7,89%) olyan tanulmányt is találtam, amelyekben az eszközöket zárt területen tesztelték (**5. táblázat**).

5. táblázat. Szörgyűjtési vizsgálatok területi megoszlása a célfaj elterjedését figyelembe véve.

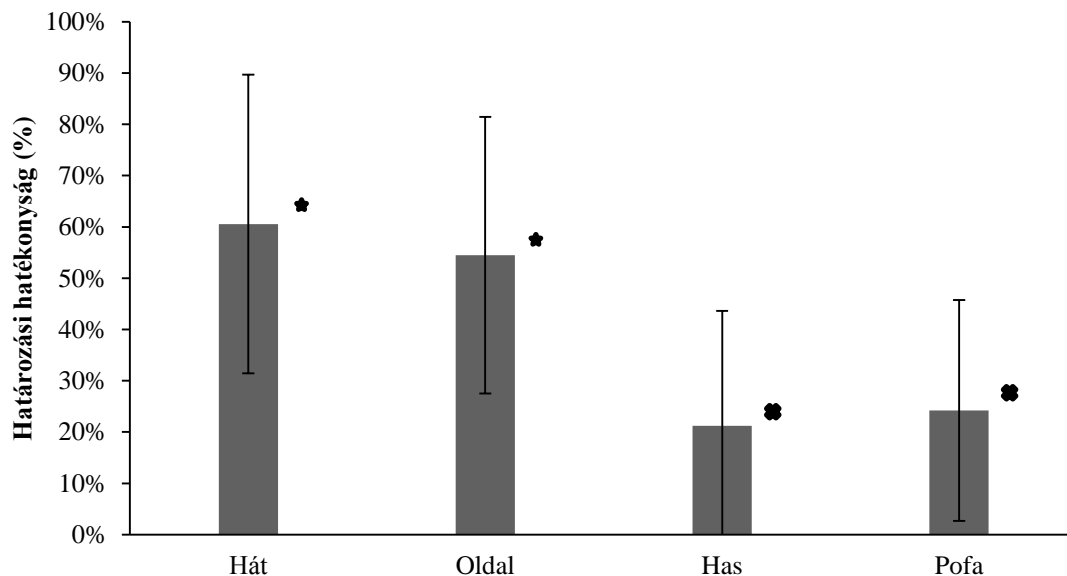
	Mag terület	Periféria	Zárt terület	Irodalom
<i>Hiúz</i>	+			Schmidt & Kowalczyk 2006
	+			Long et al. 2007
	+			Ruell & Crooks 2007
		+		Tóth 2008
	+			Comer et al. 2011
			+	Heaurich et al. 2012
	+			Matthew 2012
<i>Macskaféle</i>	+			Davoli et al. 2013
	+			Tóth 2008
	+			Anile et al. 2012
	+			Hanke & Dickman 2013
	+			Steyer et al. 2013
	+			Kéry et al. 2010
<i>Kutyaféle</i>	+			*Patkó et al. 2014
	+			Ruell & Crooks 2007
	+			*Tóth 2008
	+			Ausband et al. 2011
	+			Matthew 2012
<i>Medveféle</i>	+			Pérez et al. 2009
	+			Karamanlidis et al. 2010
	+			Stetz et al. 2010
	+			Sawaya et al. 2012
	+			Frosch et al. 2014
<i>Vidra</i>	+		+	DePue & Ben-David 2007
		+		Patkó et al. 2014
<i>Borz</i>	+			Tóth 2008
	+			Balestrieri et al. 2010
	+			Ondrušová & Adamík 2013
<i>Menyétféle</i>	+		+	Pauli et al. 2008
	+			Tóth 2008
	+			Williams et al. 2009
	+			Mullins et al. 2010
	+			Ondrušová & Adamík 2013
		+		Zielinski et al. 2013
	+			Olson et al. 2014
	+			Long et al. 2007

*kivéve farkas

4.2. Az elővizsgálatok eredményei

4.2.1. A morfológiai és genetikai határozás pontossága

A morfológiai határozás pontosságát jelentősen befolyásolta, hogy mely testtájáról származtak a szőrszálak. A háti (dorzális) és oldalsó (laterális) tájékról származó szőrök jobb eséllyel (61%, SE=29,14; 55%, SE=26,97) bizonyultak fajszinten határozhatónak, mint a hasi (ventrális) vagy pofaszőrök (21%, SE=22,45; 24%, SE=21,53; **5. ábra**).



5. ábra. Különböző testtájáról származó szőrszálak morfológiai határozhatóságának sikeressége.

Nem tudtam szignifikáns különbséget kimutatni a háti és oldali testtájáról származó szőrök határozási sikerében (Chi² teszt, $\chi^2=0,203$; $p=0,887$). A háti és oldalsó részektől származó szőrök azonban jobban határozhatóak, mint a pofáról és hasról származók (Chi² teszt, $\chi^2=5,506$; $p=0,019$).

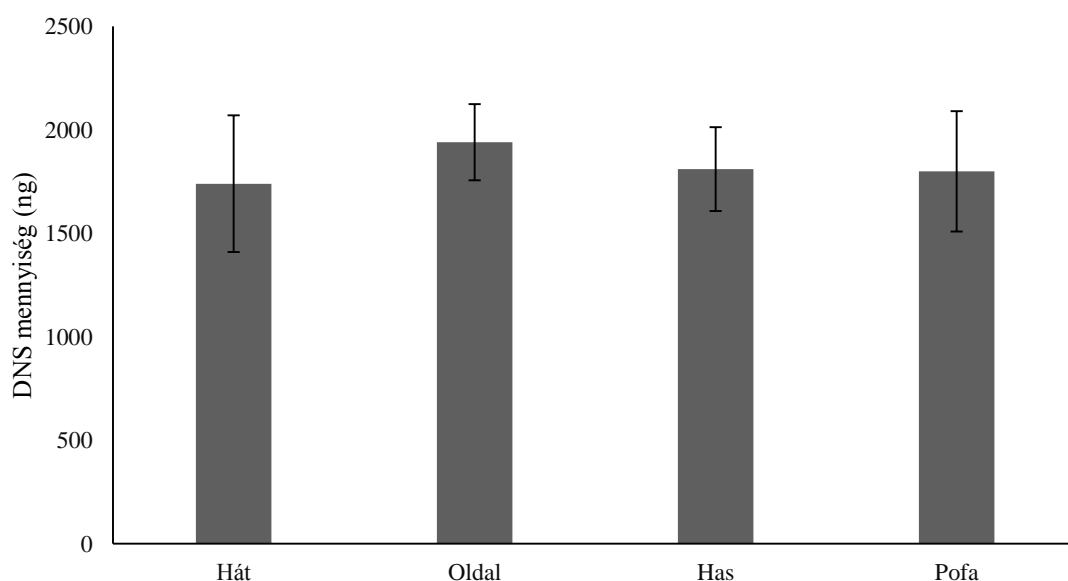
Mind a 40 invazív szőrmintából, mind pedig a 28 nem invazív szőrmintából sikeresen izoláltunk mitokondriális DNS-t (**6. és 7. táblázat**).

6. táblázat A referenciafajokból invazív módon (kifésülés) gyűjtött szőrminták DNS koncentrációja és tisztasága.

Sorszám	Faj	Szór (db)	~ DNS koncentráció (µg/µl)	DNS tisztaság (A260/A230)
<i>Szürke farkas</i>				
1	dorzális	>10	13	ideális (>2)
2	laterális	>10	16	
3	abdominális	>10	20	
4	pofa	>10	14	
<i>Vörös róka</i>				
5	dorzális	>10	12	ideális (>2)
6	laterális	>10	18	
7	abdominális	>10	15	
8	pofa	>10	17	
<i>Eurázsiai hiúz</i>				
9	dorzális	>10	19	ideális (>2)
10	laterális	>10	20	
11	abdominális	>10	16	
12	pofa	>10	17	
<i>Vadmacska</i>				
13	dorzális	>10	15	ideális (>2)
14	laterális	>10	21	
15	abdominális	>10	16	
16	pofa	>10	18	
<i>Aranysakál</i>				
17	dorzális	>10	17	ideális (>2)
18	laterális	>10	17	
19	abdominális	>10	21	
20	pofa	8	14	
<i>Nyest</i>				
21	dorzális	>10	21	ideális (>2)
22	laterális	>10	21	
23	abdominális	>10	18	
24	pofa	>10	19	
<i>Borz</i>				
25	dorzális	>10	21	ideális (>2)
26	laterális	>10	20	
27	abdominális	>10	20	
28	pofa	>10	22	
<i>Mosómedve</i>				
29	dorzális	>10	16	ideális (>2)
30	laterális	>10	21	

31	abdominális	>10	19	
32	pofa	>10	18	
<i>Nyestkutya</i>				
33	dorzális	>10	20	
34	laterális	>10	19	ideális (>2)
35	abdominális	>10	19	
36	pofa	>10	23	
<i>Vadászgörény</i>				
37	dorzális	>10	20	
38	laterális	>10	21	ideális (>2)
39	abdominális	>10	17	
40	pofa	>10	18	

Az átlagos DNS sűrűség 18,23 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (SE=2,6) volt invazív minták esetén és 9,18 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (SE=3,28) nem invazív mintáknál. Az invazív minták közül a legtöbb DNS-t (20,75 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) borz szőréből, a legkevesebbet (15,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) pedig róka mintákból tudtuk izolálni. A több szőrszál minden esetben több DNS izolálásához vezetett (Wilcoxon teszt, $n=28$; $r=0,843$; $p<0,0001$). Ezzel szemben a különböző testtájokról származó szőrszálak DNS mennyiségében nem tudunk szignifikáns különbséget kimutatni (ismételt mérés ANOVA, $F=1,502$; $p=0,242$; **6. ábra**). Nem invazív minták esetén a nyest szolgáltatja a legtöbb DNS-t (10,13 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) és a medve a legkevesebbet (5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$). Az A260/A230 hányados minden esetben nagyobb volt kettőnél, így mintáinkat jó minőségűnek számítottuk (**6. és 7. táblázat**).



6. ábra. A különböző testtájokról gyűjtött szőrök DNS mennyiségében megfigyelhető mennyiségi különbségek (ismételt mérés ANOVA, ns; $F=1,502$; $p=0,242$).

7. táblázat. A referenciafajokból nem invazív módon (szőrscapda) gyűjtött szőrminták DNS koncentrációja és tisztasága.

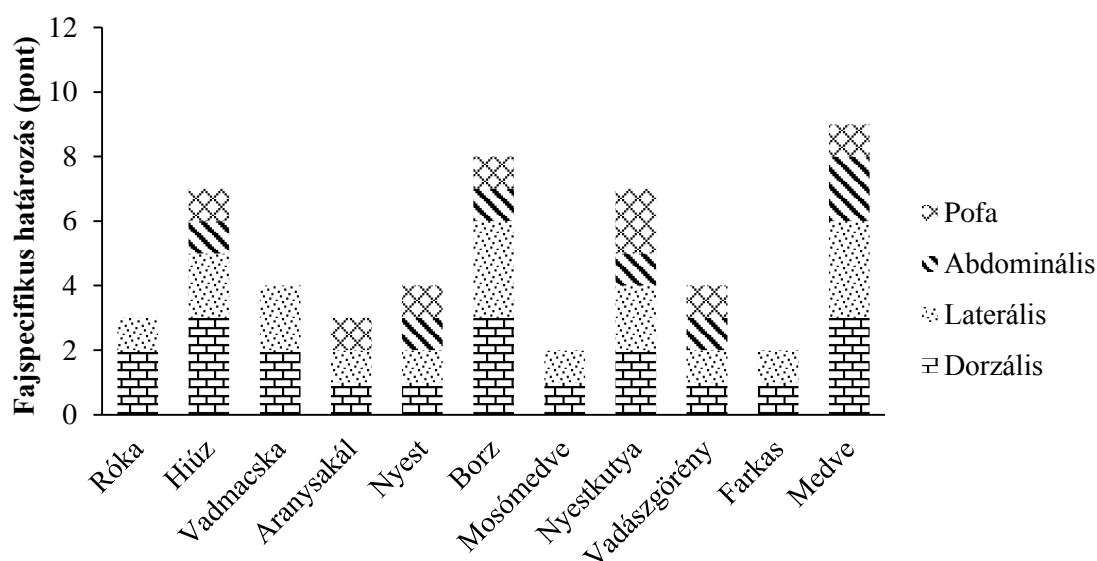
Faj	Szór (db)	~ DNS koncentráció (µg/µl)	DNA tisztaság (A260/A230)
<i>Eurázsiai hiúz</i>	2	4	ideális (>2)
	7	11	
	>10	14	
	2	5	
<i>Vadmacska</i>	2	4	ideális (>2)
	>10	9	
<i>Aranysakál</i>	>10	13	ideális (>2)
<i>Nyest</i>	5	10	ideális (>2)
	>10	12	
	2	6	
	5	9	
	>10	11	
	5	10	
	>10	15	
	6	8	
<i>Vadászgörény</i>	2	5	ideális (>2)
	8	9	
	>10	10	
	>10	11	
	7	9	
	8	10	
	7	9	
	3	5	
	>10	15	
	5	11	
	>10	12	
<i>Barnamedve</i>	2	5	ideális (>2)
	2	5	

4.2.2. Vakteszt: referenciaminták fajszintű azonosíthatósága

A vaktesztet végző három szakember a szőrminták körülbelül felét tudta fajszinten beazonosítani ($x=40\%$, $SE=30,13$). Átlagosan a medve (75%, $SE=30,94$) és a borz (67%, $SE=38,51$) voltak a legsikeresebben meghatározott fajok, míg a mosómedvét és farkast csak kevésbé sikeresen lehetett azonosítani (17%, $SE=19,23$). A vakteszt során minden szakértő meg tudta határozni fajszinten a medve és borz mintákat laterális szőrök alapján (100%). A

mosómedve- és farkasszőrök határozási sikere megduplázódott (33%), ha csak a hát és oldal tájról származó szőrök határozási sikerét vizsgáltam (7. ábra). A farkas, mosómedve, aransakál és róka voltak a négy legnehezebben meghatározható faj.

Az összesen 36 mintából hármat (8,33%) nem sikerült sem genetikailag, sem morfológiailag meghatározni (semmilyen taxonómiai szinten). Összesen hat (16,67%) olyan minta volt, ahol csak a morfológiai határozás hozott valamilyen (nem feltétlenül fajszintű) eredményt és kilenc (25%), ahol csak a genetika. Morfológiai vizsgálattal 18 esetben (50%) sikerült fajszinten meghatározni a mintát, mtDNS elemzéssel pedig 22 esetben (61,11%). A morfológiai határozás nem mutatott tévedést (0%), míg a genetikai határozás a BLAST eredményekre támaszkodva négy esetben (17,39%) tévesnek bizonyult, amikor molnárgörény egyedeket 16s rRNS BLAST alapján feketelábú görénynek (*Mustela nigripes*) azonosította. A 36 mintából mind a morfológia, mind a mtDNS-re alapozott eljárásokkal 10 esetben (27,78%) nem tudtunk azonosítást elvégezni különböző okok miatt. De ez a 10 eset nem ugyanaz a 10 eset volt a genetikai és a morfológiai vizsgálatoknál. Tizennyolc (50%) esetben a morfológiai és mtDNS alapú határozások fajnál magasabb taxonómiai szinten megegyeztek egymással, kilenc (25%) esetben pedig fajszinten is azonosak voltak (11.7. melléklet).



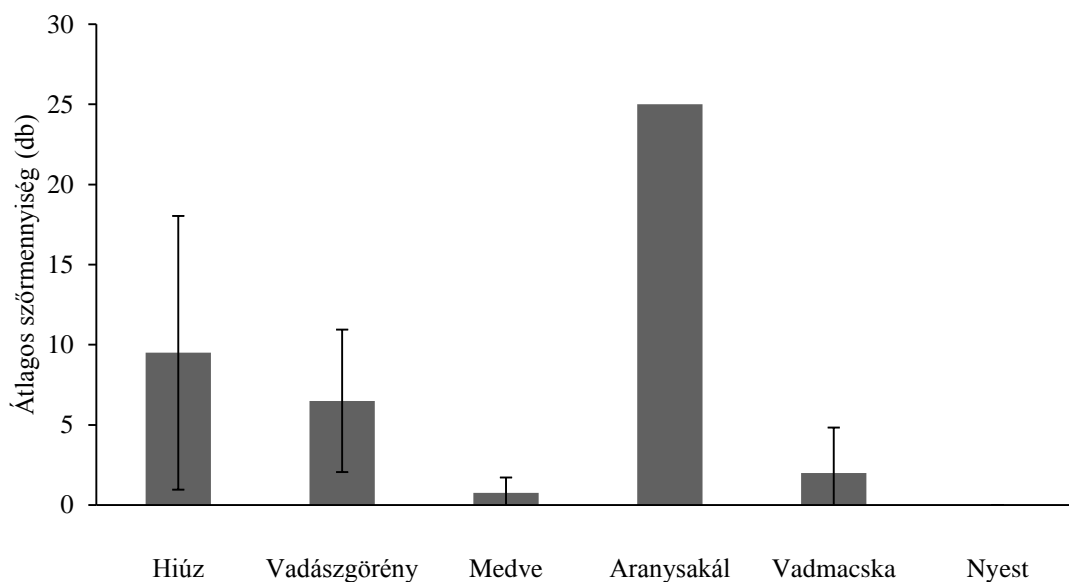
7. ábra. Az egyes fajok határozási sikere (y-tengely: 12 pont, ahol egy pont egy faj fajszintű sikeres határozása szakértőnként (összesen három szakértővel, egy faj esetén maximum 12 pont érhető el)).

4.2.3. Zárt téren tesztelt szőrgyűjtő eszközök és szaganyagok

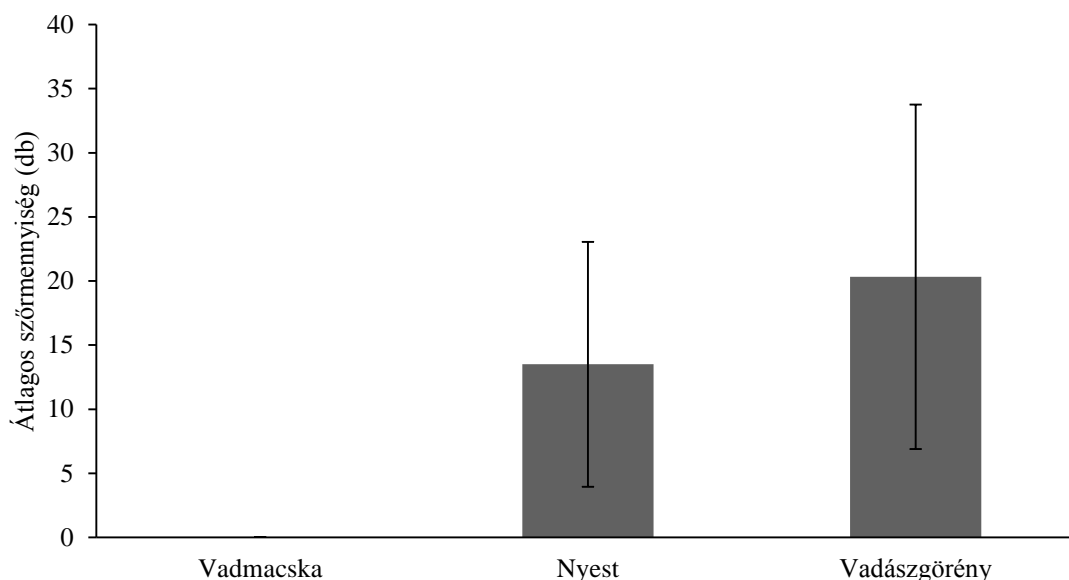
A hat vizsgált fajtól összesen 304 szőrmintát tudtunk gyűjteni. Az A-típusú csapdák gyűjtötték a legtöbb szőrt ($n=125$; $\bar{x}=20,83$; $SE=20,44$), majd a B-típus következett ($n=115$; $\bar{x}=38,33$; $SE=33,38$). A C-típus csak két fajnál (nyest, vadászgörény) volt bent és kevesebb szőrt

($n=64$, $x=32$) gyűjtött, mint az előbbi két csapda. A vadászgörénytől 110 ($x=10,1$; $SE=10$), a nyesttől pedig 94 ($x=14,46$; $SE=10,73$) szőrt tudunk összegyűjteni. Aranysakáltól ($n=50$, $x=25$) és hiúztól ($n=38$; $x=9,5$; $SE=8,54$) kevesebb szőrt tudunk gyűjteni. A legkevesebb mintát a vadmacska ($n=8$; $x=1,14$; $SE=2,26$) és a medve szolgáltatotta ($n=3$; $x=0,75$; $SE=0,96$).

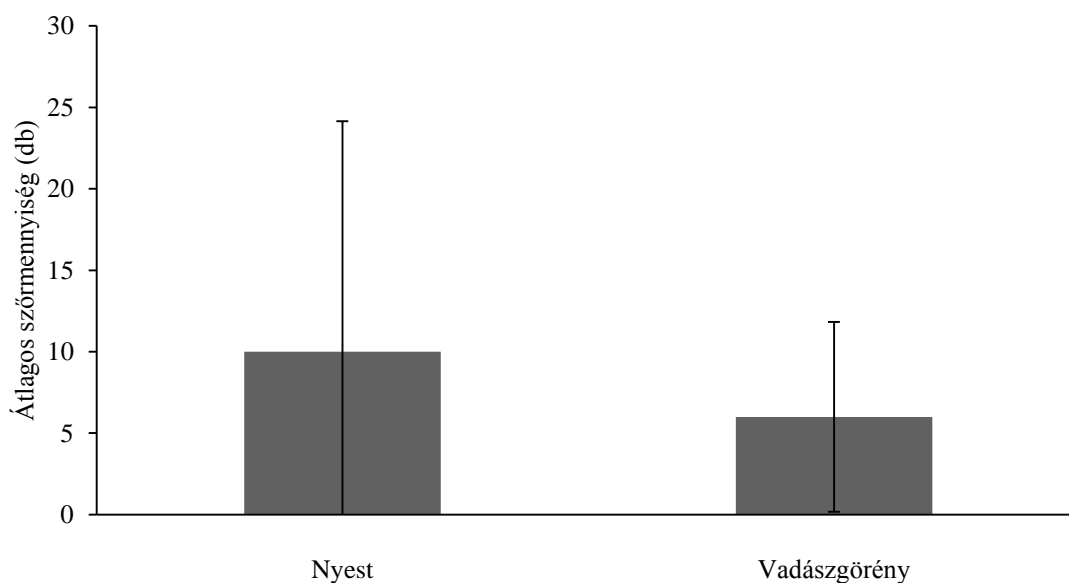
Az A-típusú csapda aranysakálnál átlagban 25 darab szőrt gyűjtött. Medve és macska mintákat ez a típus ritkán gyűjtött ($x=3$ és 8). A vadászgörény és a hiúz átlagosan 6,5 illetve 9,5 szőrszálát hagyott az A-típusú csapdákon, míg nyesttől nem tudunk mintát gyűjteni (**8. ábra**). A B-típusú csapdák esetén a nyest közel kétszerannyi ($n=40$; $x=10$; $SE=14,14$) szőrt szolgáltatott, mint a vadászgörény ($n=24$; $x=6$; $SE=5,83$; **9. ábra**). A C-típusú csapdáink nem tudtak mintát gyűjteni a vadmacskától, de kevéssel több szőrt gyűjtöttek vadászgörénytől ($n=61$; $x=20,33$; $SE=13,43$), mint nyesttől ($n=54$; $x=13,5$; $SE=9,54$; **10. ábra**).



8. ábra. Az A-típusú csapdával gyűjtött átlagos szőrmennyiségek különböző fajok esetén.

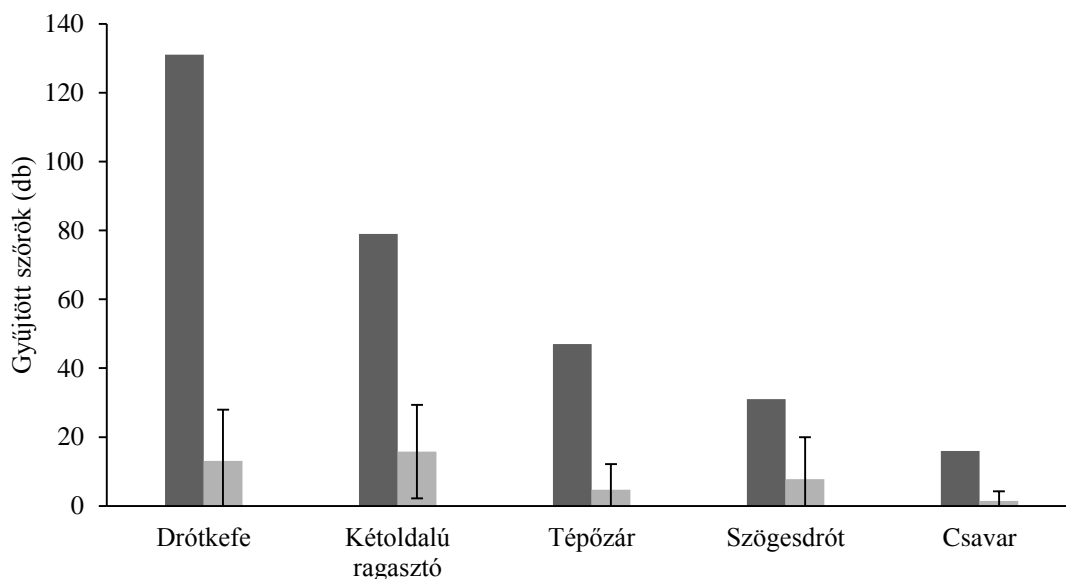


9. ábra. A B-típusú csapdával gyűjtött átlagos szőrmennyiségek különböző fajok esetén.



10. ábra. A C-típusú csapdával gyűjtött átlagos szőrmennyiségek különböző fajok esetén.

A drótkéfe bizonyult a legjobb szőrgyűjtő felületnek ($n=131$; $x=13,1$; $SE=14,87$), a kétoldali ragasztó pedig a második legjobbnak ($n=79$; $x=15,8$; $SE=13,53$). A csavaros megoldással kevés mintát lehetett csak gyűjteni ($n=16$; $x=1,46$; $SE=2,84$), a tépőzár és szögesdrót megközelítőleg ugyanannyi szőrmintát gyűjtött ($n=47$; $x=4,7$; $SE=7,44$; $n=31$; $x=7,75$; $SE=12,23$; **11. ábra**).



11. ábra. A különböző szörgyűjtő felületek hatékonysága (sötétszürke: összes gyűjtött szőrszál, szürke: átlag szőrmennyiség).

A VMI hátsó kertjébe kihelyezett szaganyag teszt során nyestet (n=1) és házimacskákat (n=5) sikerült megfigyelnünk, miközben valamilyen reakciót (dörgölözés, szaglás) váltottak ki az attraktánsok az állatokból. Egy hónap alatt a száraz macskamentával ellátott szőrscspadába egy nyest és két házimacska dörgölözött, vagy szagolgatták azt. A macskagyökérrel ellátott csapdába két házimacska dörgölözött az első két héten, majd a harmadik és negyedik héten még egy-egy. Ez minden alkalommal a heti csapdafrissítések után egy-két nappal történt. A halolajos és kereskedelmi forgalomban lévő szaganyaggal (Hagopur fox) ellátott csapdáknál nem figyeltünk meg állatokat az egy hónapnyi vizsgálati idő alatt.

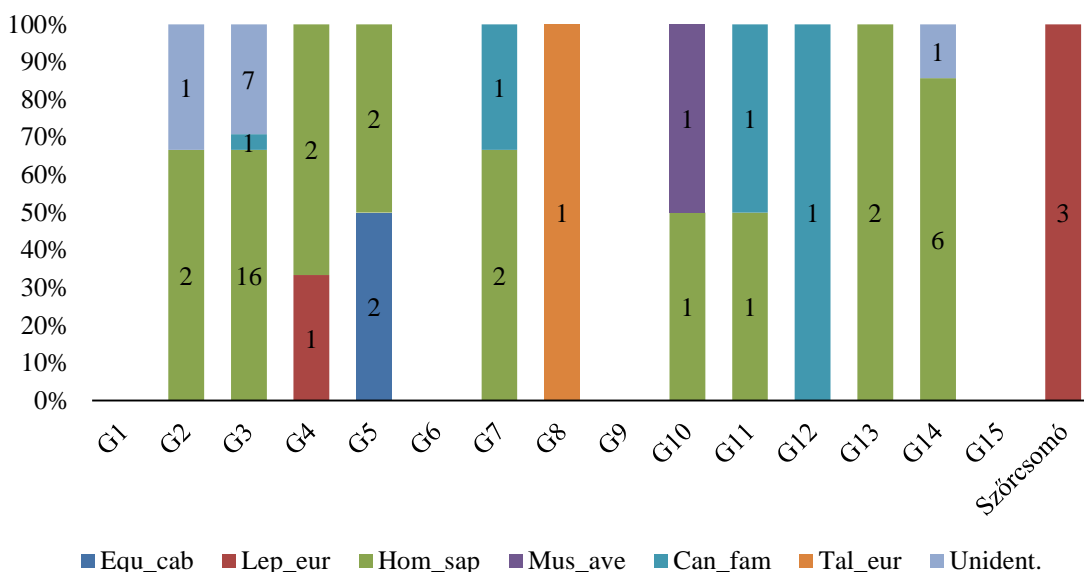
4.3. Terepi mintagyűjtés, szőrminták gyűjtése

4.3.1. Fészkek, odúk: csali nélküli természetes szőrscspadák

4.3.1.1. Városi maradvány élőhely: gödöllői parkok

A gödöllői Alsóparkban és Egyetemi parkban összesen 15 fészket találtam. A talált fészkekből 41 emlőszőrt sikerült azonosítanom faj vagy fajcsoport szinten. A Gödöllőn gyűjtött madárfészkekből összesen hét kategóriát különítettem el (**12. ábra**). Ebből hat faji kategória (mezei nyúl, kutya, vakond, ló, mogyorós pele és ember) egy kategória pedig a nem azonosítható szőrököt képviseli (Unident.: adathiány miatt, vagy jellege miatt (pehelyszőr) nem azonosítható). Leggyakrabban emberi haj került elő a fészkekből (tizenegy fészkekből kilencben (81,81%)

találtam hajat). A gödöllői Alsóparkban egy szőrösomót is találtam, ami mezei nyúlénak bizonyult.

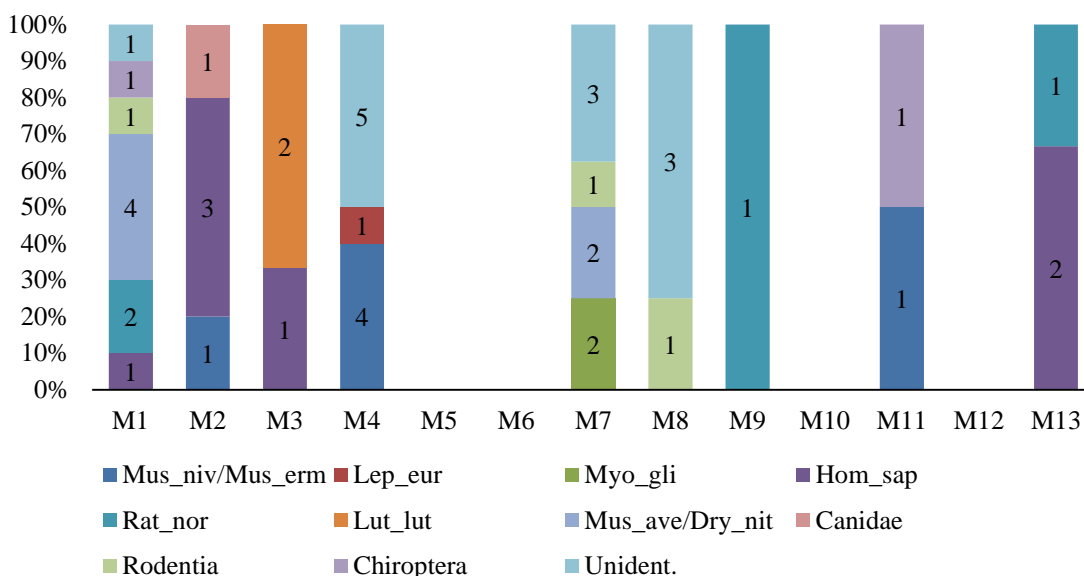


12. ábra. A gödöllői parkokban talált emlősszőrök alapján leírt faunisztikai adatok (Equ_cab: ló, Lep_eur: mezei nyúl, Mus_ave: mogyorós pele, Can_fam: kutya, Tal_eur: vakond, Hom_sap: ember, unident.: azonosíthatatlan).

4.3.1.2. Természetszerű élőhely: Merzse-mocsár

A Merzse-mocsárban összesen 13 fészket gyűjtöttem, amelyekből 34 emlősszört sikeresen azonosítottam. A Merzse-mocsárban gyűjtött minták esetében összesen tizenegy kategóriát különítettem el (**13. ábra**). Ebből öt faji kategória (vándorpatkány, mezei nyúl, vidra, nagy pele és ember) és két iker-fajpár (mogyorós pele-erdei pele, menyét-hermelin), amelyeket szőrmorfológia alapján, az adott helyszín adottságait figyelembe véve, valamint a fajok tulajdonságait mérlegelve nem lehet elkülöníteni. Három kategória faji szinten való azonosítása nem lehetséges a megszerzett adatok alapján (kutyafélék, denevérek és kisémlősök). Továbbá egy külön kategóriába soroltam a nem azonosítható szőröket (Unident.: adathiány miatt vagy jellege miatt (pehelyszőr) nem azonosítható).

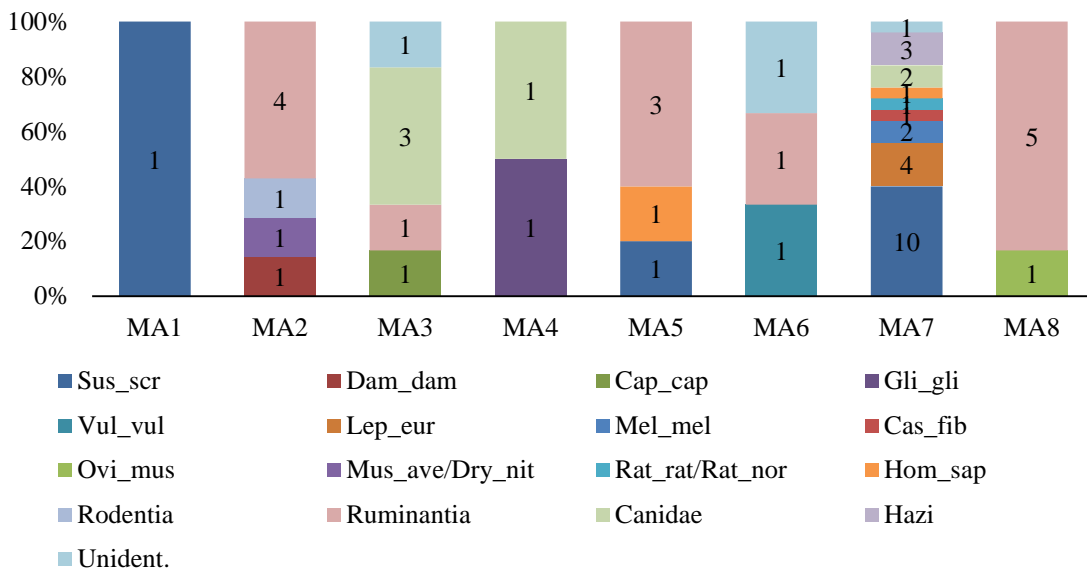
A leggyakrabban előforduló fajok az ember (n=7), a menyét-hermelin (n=6) és a kistestű pelék (n=6) voltak. A területen egy-egy fészkekből sikerült kimutatni a vidrát (M3) és a nagy pelét (M7) is.



13. ábra. A Merzse-mocsárban talált emlősszőrök alapján leírt faunisztikai adatok (Mus_niv/Mus_erm: menyét/hermelin, Lep_eur: mezei nyúl, Myo_gli: nagy pele, Canidae: kutyafélék, Lut_lut: vidra, Rat_nor: vándorpatkány, Mus_ave/Dry_nit: mogyorós pele/erdei pele, Rodentia: kistestű rágcsálók, Chiroptera: denevérfélék, Hom_sap: ember, unident.: azonosíthatatlan).

4.3.1.3. Természetes élőhely: Mátra

A mátrai Sár-hegy SAC területéről 12 mesterséges odú bélésanyagot gyűjtöttünk, amelyekben összesen 55 db szőrmintát ($\bar{x}=4,58$; $SE=6,69$) találtunk. Nyolc (66,67%) bélésanyag tartalmazott fedőszőröket, 4 mintában (33,33%) viszont egyáltalán nem voltak határozásra alkalmas fedőszőrök. Fajszerű határozás 28 esetben történt, 23 alkalommal csak nagyobb kategóriákba tudtuk besorolni a szőrszálakat (pl.: párosujjú patás, kisemlős). Két esetben pedig a fajszerű határozás ikerfaj párok jelenlétére utalt, így morfológiai vizsgálatok alapján nem lehetett pontos fajt meghatározni (ld. patkányok és pelék). A területről összesen 11 fajt sikerült leírnunk (**14. ábra**). Leggyakrabban a vaddisznó ($n=12$; 21,82%) és egyéb párosujjú patások ($n=14$; 25,45%) szőrei kerültek elő.

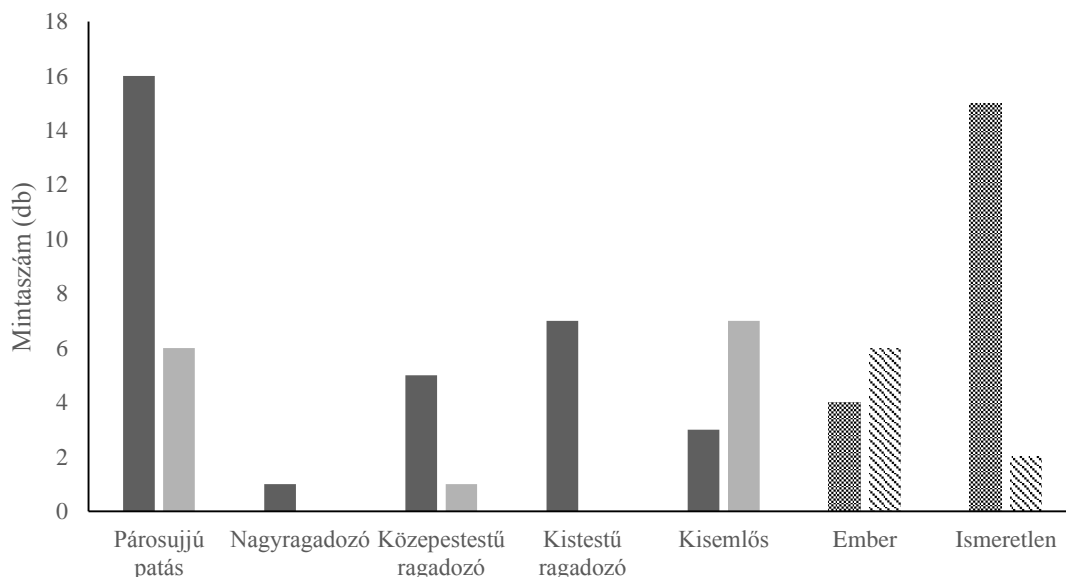


14. ábra. A Mátra SPA Natura 2000 területen talált emlősszőrök alapján leírt faunisztikai adatok (Sus_scr: vaddisznó, Dam_dam: dámszarvas, Cap_cap: őz, Gli_gli: nagypele, Vul_vul: róka, Lep_eur: mezei nyúl, Rat_nor/rat_rat: vándor vagy házi patkány, Mel_mel: borz, Cas_fib: hód, Ovi_mus: muflon, Mus_ave/Dry_nit: mogyorós pele/erdei pele, Rodentia: kistestű rágcsálók, Ruminantia: kérődzők, Canidae: kutyafélék, Hazi: háziállatok (pl. ló), Hom_sap: ember, unident.: azonosíthatatlan).

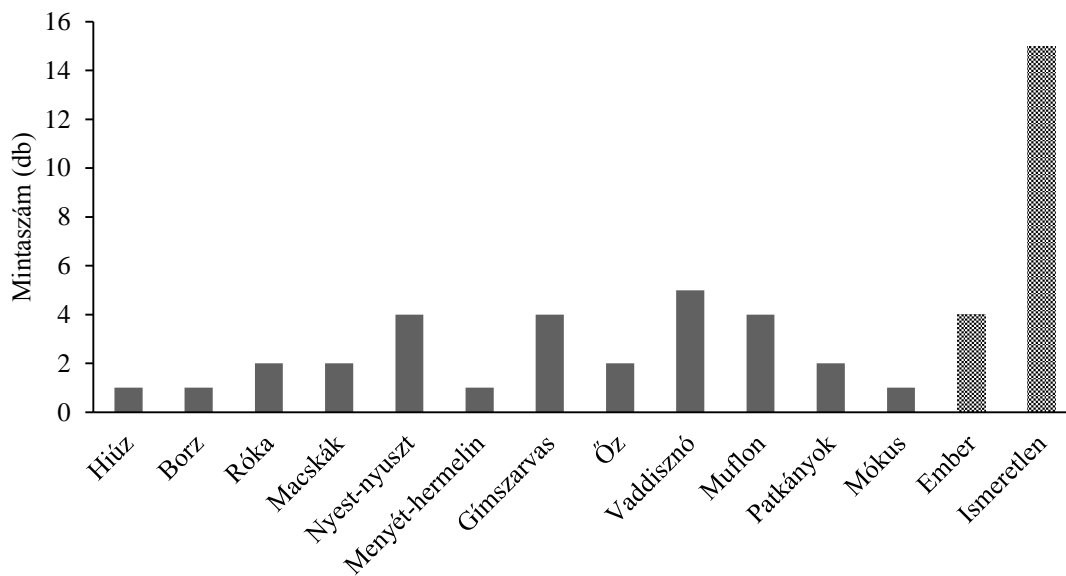
4.3.2. Csaliannyaggal ellátott szőrscapdák Natura 2000 területeken

4.3.2.1. Mátra SPA Natura 2000 terület emlősfauája szőrscapdás vizsgálatok alapján

Az első mátrai mintavételezés (2014) során 51 szőrmintát sikerült gyűjtenünk a csapdák segítségével, amelyekből 19 darab (37,25%) embertől (n=4) vagy azonosíthatatlan forrásból (n=15) származott. A leggyakrabban (n=16, 32%) párosujjú patások mintái kerültek elő, amelyeket a kistestű ragadozók (n=7, 14%) követtek (**15. ábra**). Fajsinten leggyakrabban a vaddisznó (n=5; 10,42%), gímszarvas, muflon és nyest-nyuszt (n=4; 8,33%) fajok vagy ikerfajpárok jelenléte lett kimutatva (**16. ábra**). Az emberen kívül 12 fajt vagy fajpárt tudtunk kimutatni a területről. Egy esetben nagyragadozó (hiúz) szőrmintáit is megtaláltuk egy szőrscapdán. Az 51 szőrmintából 13 (25,49%) tartozott ragadozó fajhoz. Az 51 találatból kilenc (17,65%) vegyes minta volt, ilyen esetekben több faj is előkerült egy mintából.



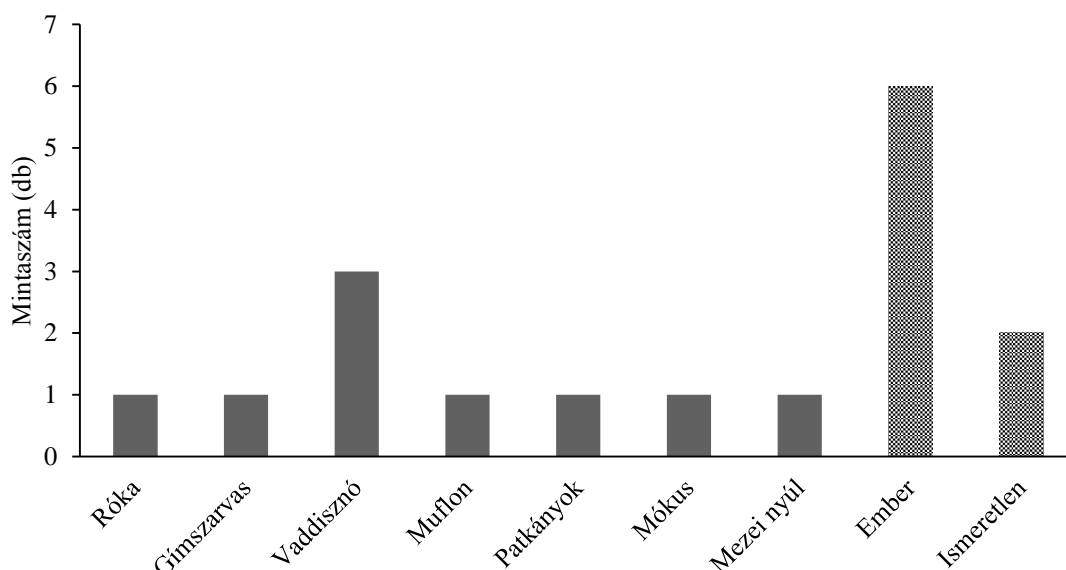
15. ábra. A Mátra SPA területén szőrscapdák segítségével kimutatott emlőscsoportok (sötét: 2014; világos: 2015; kitöltés mintával: faunisztikai szempontból nem jelentős adatok).



16. ábra. A Mátra SPA területén szőrscapdák segítségével kimutatott emlősfajok vagy fajpárok (pontosított kitöltés: faunisztikai szempontból nem jelentős adatok; 2014).

A 2015-ös mintavételezésen 23 mintát tudunk gyűjteni, amelyekből 8 darabot (36,36%) emberként (n=6) vagy azonosíthatatlanként (n=2) kategorizáltunk. A leggyakoribb (n=7, 31,82%) csoport 2015-ben a kisemlősök voltak, amelyet a párosujjú patások (n=6, 22,27%) követtek (15. ábra). Fajsinten leggyakrabban a vaddisznó (n=3; 17,65%) mintáit gyűjtötték a szőrscapdák (17. ábra). Az emberen kívül hét fajt vagy fajpárt tudunk kimutatni a területről. A

23 szőrmintából egy (4,55%) tartozott ragadozóhoz. Az 23 találatból kettő (9,09%) mintánál több faj szőrét is megtaláltuk egy csapdán.

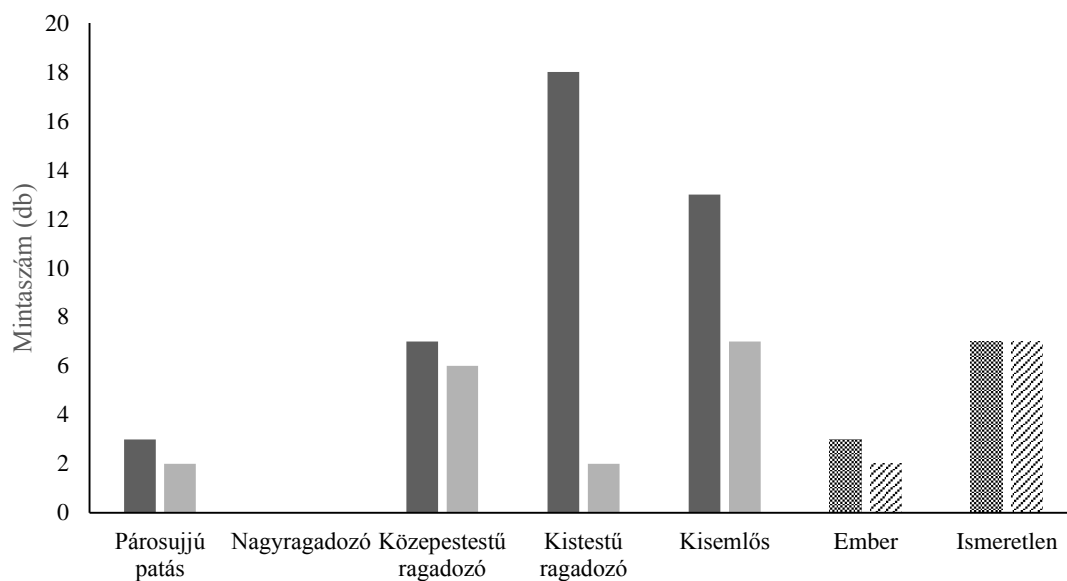


17. ábra. A Mátra SPA területén szőrscapdák segítségével kimutatott emlősfajok vagy fajpárok (pontosított kitöltés: faunisztikai szempontból nem jelentős adatok; 2015).

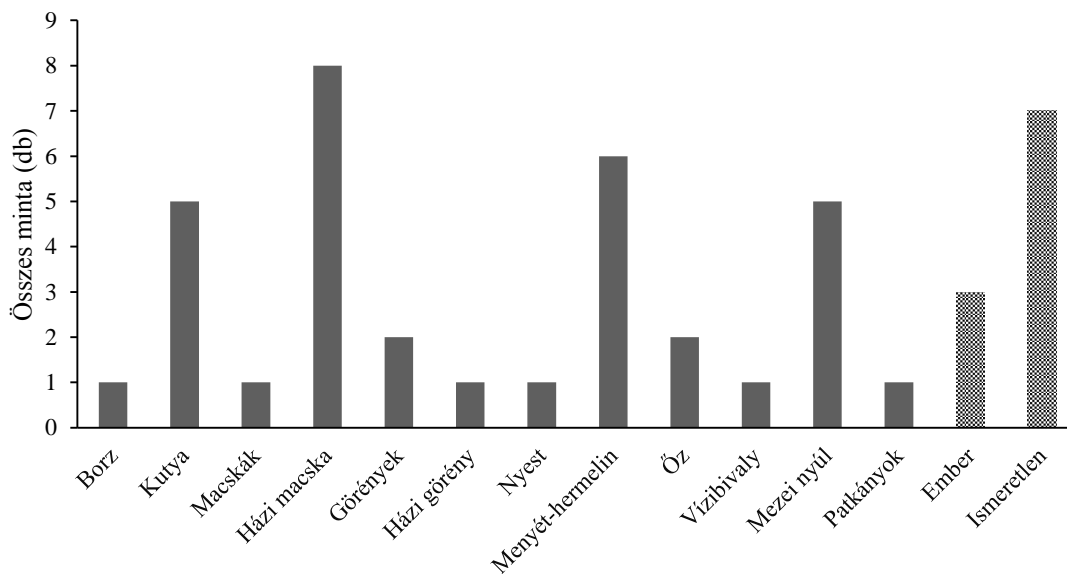
4.3.2.2. Kiskunsági szikes tavak és őrzégi turjánvidék SPA Natura 2000 terület emlősfajának szőrscapdás vizsgálatok alapján

A 2014-es kiskunsági mintavételezés során a mátraihoz hasonlóan 51 szőrmintát tudtunk gyűjteni, amelyekből 10 darab (19,61%) embertől (n=3) vagy azonosíthatatlan forrásból (n=7) származott. A leggyakrabban (n=18; 35,29%) kistestű ragadozók mintái kerültek elő, amelyeket a kisemlősök (n=13, 25,49%) követtek (**18. ábra**). Fajszerint leggyakrabban a házi macska (n=8; 18,18%), menyét-hermelin (n=6; 13,64%) és mezei nyúl (n=5; 11,36%) fajok vagy ikerfajpárok jelenléte volt kimutatható (**19. ábra**). Az emberen kívül 12 faj vagy fajpár került elő a kiskunsági mintaterületről. Az 51 szőrmintából 24 (49,02%) tartozott valamilyen ragadozó fajhoz. Az 51 találatból négy (7,84%) vegyes minta volt.

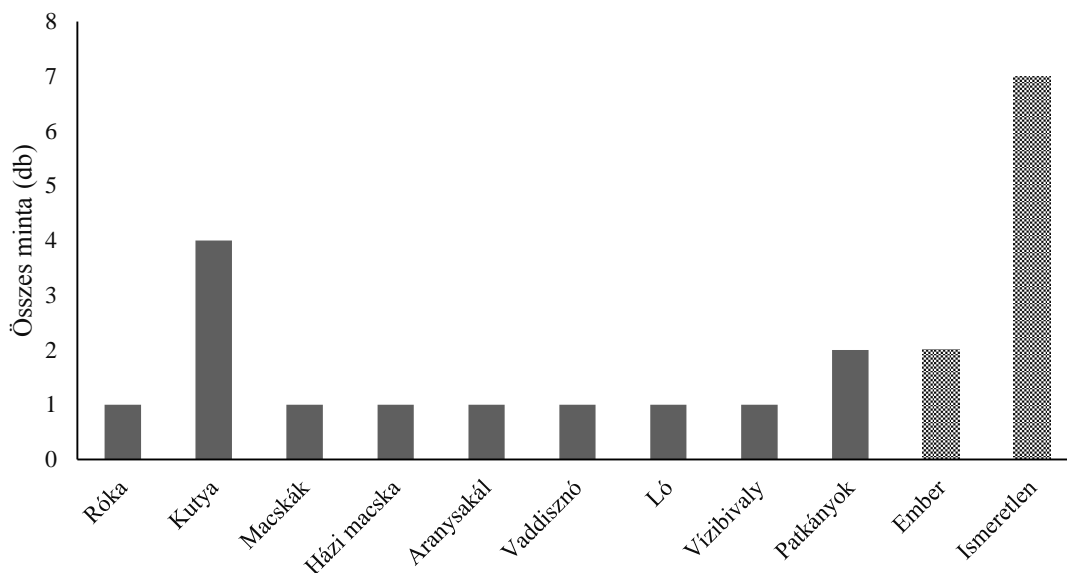
2015-ben 27 mintát gyűjtöttünk a szőrscapdákkal, amelyekből 9 darabot (33,33%) emberként (n=2) vagy azonosíthatatlanként (n=7) kategorizáltunk. A leggyakoribb (n=7, 26,92%) csoport 2015-ben a kisemlősök voltak, amelyet a középtestű ragadozók (n=6, 23,08%) követtek (**18. ábra**). Kutya (n=4; 18,18%) mintái kerültek elő legtöbbször a területről (**20. ábra**). Az emberen kívül kilenc fajt vagy fajpárt tudtunk kimutatni a 2015-ben. A 27 szőrmintából nyolc (29,63%) tartozott ragadozó fajhoz. Az 27 találatból kettő (7,41%) mintánál több faj szőrét is megtaláltuk egy csapdán.



18. ábra. A Kiskunság SPA területén szőrscspadák segítségével kimutatott emlékszoóportok (sötét: 2014; világos: 2015; kitöltés mintával: faunisztikai szempontból nem jelentős adatok).



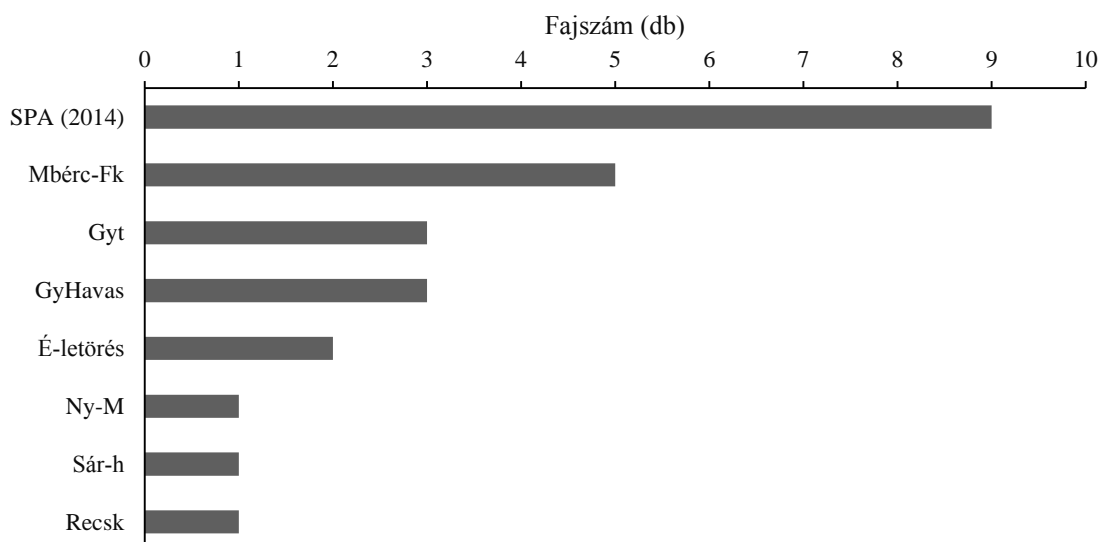
19. ábra. A Kiskunság SPA területén szőrscspadák segítségével kimutatott emlékszoófajok vagy fajpárok (pontozott kitöltés: faunisztikai szempontból nem jelentős adatok; 2014).



20. ábra. A Kiskunság SPA területén szőrscapdák segítségével kimutatott emlősfajok vagy fajpárok (pontozott kitöltés: faunisztikai szempontból nem jelentős adatok; 2015).

4.3.2.3. A két vizsgálati terület fajlistájának összehasonlítása szőrscapdás eredmények alapján

A mátrai helyszínek közül a 2014-es mintavételezési pontokon mutattam ki a legtöbb fajt (**21. ábra**). A két mintavételezési területen (Mátra, Kiskunság) összesen 17 fajt mutattam ki, amelyek közül három emberi hatásra jelent meg (házi macska, kutya és vízibivaly a kiskunsági területen). A mátrai mintavételi területen bizonyítottuk a hiúz alkalmi előfordulását. Ezen a mintavételi területen négy olyan faj fordult elő, amely a kiskunsági helyszínen nem (muflon, gímszarvas, hiúz, mókus). Szintén négy olyan fajt találtunk a Kiskunságban, amelyeket a hegyvidéki helyszíneken nem tudtunk kimutatni (vízibivaly, aranysakál, házi görény, kutya). Ez alapján a területek szimilaritását jellemző Jaccard index = 0,53.



21. ábra. Összegzett emlős fajsámok a mátrai mintavételi területek esetén (SPA: Mátrai SPA (csak 2014-ben volt mintavételezés); Mbérc-Fk: Mátrabérc-fallóskúti-rétek; Gyt: Gyöngyöstarjáni Világos-hegy és Rossz rétek; GyHavas: Gyöngyöspatai Havas; É-letörés: Mátra északi-letörés; Ny-M: Nyugat-Mátra; Sár-h: Gyöngyösi Sár-hegy; Recsk: Recski Hegyes-hegy).

4.3.2.3. A terepre kihelyezett csapdatípusok hatékonysága

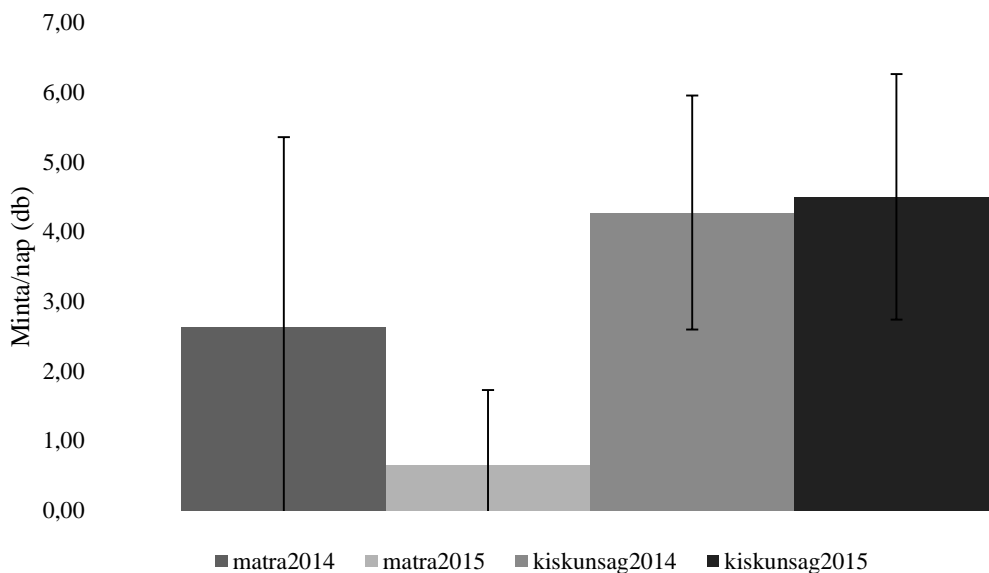
Az első mátrai kampány során 16 terepi alkalommal ellenőriztem a csapdákat. Összesen 42 mintát tudtam gyűjteni és 328 alkalommal nem volt a csapdákon szőr. Öt olyan mintavételi alkalom volt, amikor egyáltalán nem találtam szőrmintát a helyszíneken. Kettő dörgölőzópárna (A-típus) az éves adatgyűjtés során három illetve négy alkalommal is tudott mintát gyűjteni. Ezeken kívül egy drótkéfés (n=3) és egy ragasztós (n=4) PVC csőcsapda (C-típus) tudta a legtöbb mintát produkálni. E csapdákat 3-5 alkalommal ellenőriztem. A többi csapda ennél kevesebbszer gyűjtött szőrt, de volt, hogy többször lettek ellenőrizve (1-10 alkalommal). Az ellenőrzések során naponta átlagosan 2,63 (SE=2,73) mintát tudtam gyűjteni és 23,13 (SE=7,23) csapdát lehetett ellenőrizni (**22. ábra**). A 85 drótkéfés dörgölőzópárna 23 alkalommal gyűjtött mintát (27,06%), a 14 PVC csapda 13 alkalommal (92,86%), a lácacsapdák (B-típus, n=13) pedig 6 alkalommal (46,15%) tudtak gyűjteni.

2015-ben 31 terepi alkalommal sikerült ellenőrizni a csapdákat. Összesen 20 mintát tudtam gyűjteni és 727 alkalommal nem volt a csapdákon szőr. A sikertelen mintagyűjtési napok száma 20 volt a második kampányban. Egy dörgölőzópárna az éves adatgyűjtés során kettő, egy PVC csapda pedig három alkalommal tudott mintát gyűjteni. A többi csapda maximum egy alkalommal produkált mintát. Az ellenőrzések során egy nap alatt átlagosan 0,61 (SE=1,08) mintát gyűjtöttem és 24,1 (SE=9,57) csapdát ellenőriztem (**22. ábra**). A 74 ellenőrzött drótkéfés

dörgölőzópárna 12 alkalommal gyűjtött mintát (16,22%), az öt PVC csapda öt alkalommal (100%), a ládacsapdák (n=4) pedig négy alkalommal (100%) tudtak gyűjteni.

A kiskunsági mintaterületen 11 terepnapot töltöttem el és 47 szőrmintát gyűjtöttem be a 275 ellenőrzés során. Nem volt olyan terepnap, amikor ne sikerült volna legalább két szőrmintát gyűjteni az eszközökről. Egy-egy csapdát 1-10 alkalommal ellenőriztem a Kiskunságban is. Itt egy ládacsapda (n=5) és egy csőcsapda (n=4) gyűjtötte a legtöbb mintát. Az ellenőrzések során egy nap alatt átlagosan 4,27 (SE=1,68) mintát tudtam gyűjteni és 25 (SE=7,6) csapdát ellenőriztem (**22. ábra**). A 6 ellenőrzött drótkéfés dörgölőzópárna 6 alkalommal gyűjtött mintát (100%), a 22 PVC csapda 27 alkalommal (122,73%), a ládacsapdák (n=10) pedig 14 alkalommal (140%) tudtak gyűjteni.

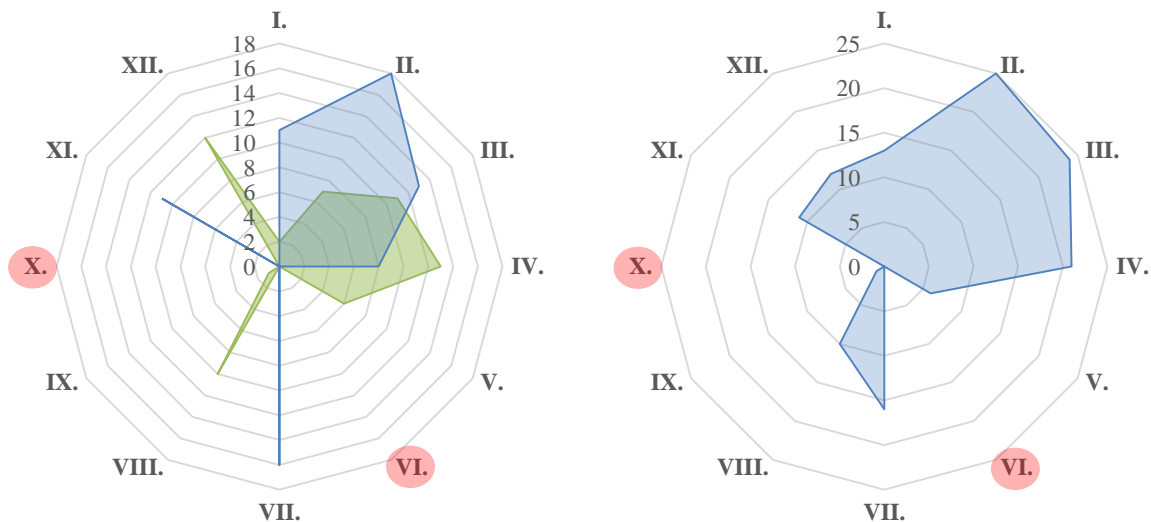
A második csapdakampányt 6 terepi napon végeztem el és 27 szőrmintát tudtam begyűjteni a 153 ellenőrzés során. A terepnapok során 3-7 mintát gyűjtöttem. Egy ládacsapda (n=4) és egy csőcsapda (n=4) gyűjtötte a legtöbb mintát. Az ellenőrzések során egy nap alatt átlagosan 4,5 (SE=1,76) mintát gyűjtöttem és 21 (SE=4,82) csapdát tudtam ellenőrizni (**22. ábra**). A drótkéfés dörgölőzópárnákat nem ellenőriztem 2015-ben. A 22 PVC csapda 19 alkalommal (86,36%), a ládacsapdák (n=10) pedig 8 alkalommal (80%) tudtak mintákat gyűjteni.



22. ábra. Egy nap alatt átlagosan összegyűjtött szőrminták a vizsgálati területeken.

A kiskunsági mintaterületek általában több szőrmintát eredményeztek, mint a mátraiak. A szőrgyűjtésre legalkalmasabb időszaknak az első negyedév tűnik. A mátrai területen az első négy

hónapban 33 mintát találtam ($x=8,25$; $SE=4,86$), az év többi időszakában pedig 29-et ($x=4,83$; $SE=5,31$). A kiskunsági területen az első négy hónapban 50 mintát találtam ($x=12,5$; $SE=4,2$), az év többi időszakában pedig 27-et ($x=5,4$; $SE=7,6$). Októberben csupán egy alkalommal, júliusban pedig egyik évben sem jártam a terepen csapdákat ellenőrizni (**23. ábra**).



23. ábra. Bal: a mátrai (kék) és kiskunsági (zöld) mintaterületeken gyűjtött szörminták (db) éves eloszlása (2014-2015). Jobb: a két mintaterület (Mátra, Kiskunság) és két mintagyűjtési periódus (2014, 2015) összevonása alapján szörgyűjtésre legalkalmasabb hónapok. Piros kör: októberben egy alkalommal történt, júniusban pedig nem történt mintavételezés.

4.3.3. *Opportunistikus mintagyűjtés*

A 2013 és 2016 között intézetünkbe (VMI) jutattott 29 opportunistikusan gyűjtött szörminta közül 27 mintát nagyragadozó jellegű mintaként gyűjtöttek össze a terepi szakemberek. Egy mintát vadelütéses baleset után őznek vagy szarvasnak gondolt a leadója, míg egy másik, ragadozómadár mérgezés után előkerült minta esetén, terepen nem tudták megítélni a mintát adó egyed faji hovatartozását. A kérődzőminta morfológiai vizsgálat után őznek, a mérgezett ragadozó madár karmából kiszedett szörminta pedig rókának bizonyult.

A további 27 mintából 11 minta (40,74%) nagyragadozótól származott. A többi esetben a szakemberek egyéb fajok mintáit határozták terepi körülmények között potenciális nagyragadozó szörnek. Ilyen kategória volt a ló ($n=2$; 7,4%), a gímszarvas vagy őz ($n=5$; 18,52%), a vaddisznó ($n=5$; 18,52%), a róka ($n=1$; 3,7%), a macskafélék ($n=2$; 7,4%) és az ember ($n=3$; 11,11%). A minták között kevert (vaddisznó és ember) minták is voltak.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Irodalmi áttekintésre alapozott vizsgálatok

Az irodalmi áttekintésre alapozott kvantitatív vizsgálat alapján összesen 26 olyan irodalmat találtam, amelyek a keresett fajokra koncentráltak. Az irodalmak fele a Palearktisz faunartományban található ragadozókkal foglalkozott, míg a másik fele a Nearktiszban találhatókkal. A részletes áttekintés során kiderült, hogy az attraktánsal ellátott dörgölözőfelületeket főleg macskafélék vizsgálatához szokták használni, ezen belül is a karókat inkább kistestű, a párnákat pedig inkább nagytestű macskák esetén. A csali nélküli dörgölözés medvéknél jól bevált módszer, főleg akkor, ha már ismertek a jelölt fák (Stetz et al. 2010). Ilyenkor szögesdróttal betekerve növelhető az amúgy is könnyen gyűjthető minták száma (Kendall et al. 2009). A klasszikus csapdákra emlékeztető módosított élvefogó- és csőcsapdákat („cubbies”) menyétféléknél alkalmazzák a leggyakrabban. Ezek a csapdák minden esetben csalifalattal vagy attraktánsal voltak ellátva. Egy korábbi összefoglaló tanulmány (Long et al. 2008) és az elmúlt 10 év adatai alapján elmondható, hogy a módosított lábfogó vasak és szörgyűjtő karamok a legritkábban tesztelt eszközök közé tartoznak.

A természetes szörgyűjtők közül egy másik ritkán tesztelt módszer a madárfészek-analízis, amely során az énekesmadarak fészkének bélésanyagában található emlősszőrök szolgáltatnak adatokat. A Tóth (2008) által ismertetett módszertan ígéretesnek tűnik, de saját vizsgálataimon kívül csak egy szerzőpárostól lehet szakirodalmat fellelni a témában (Ondrušová & Adamík 2013). A célcsoportok közül csak medve szőre nem került elő a madárfészkekből, az összes többi ragadozó csoport kimutatható volt az irodalmakban feltüntetett vizsgálati területekről. Az ilyen módszerrel gyűjtött adatok eddig azonban csak kis mintaszám esetén kerültek genetikai eljárásokkal is feldolgozásra (Patkó, nem publikált adat). Ez a feldolgozás pozitív képet mutatott, mert mindhárom vizsgált szőrmintát sikerült 12S rRNS alapján azonosítani (kutya és róka) annak ellenére, hogy a szőrök több, mint fél évig egy odúban álltak a szabadban a környezet degradáló hatásának kitéve. A tartósság azonban bizonyos körülmények között torzíthatja a vizsgálatot. Egyedi azonosítás esetén (STR markerek használatával) például előfordult már, hogy a terepen talált, frissnek gondolt genetikai minta olyan egyedtől származott, amely a minta megtalálását megelőző évben bizonyítottan elpusztult (Sawaya szóbeli közlés, [http5](#)). Ilyenkor fennállhat az állomány felülbecslésének az esete. A madárfészek-analízis módszerével gyűjtött mintákat mindenesetre érdemes lenne a küllemi bélyegeken túl genetikai vizsgálatoknak is alávetni.

Az összes többi szőrscapdázási típus során a morfológiai azonosításon túl mitokondriális és nukleáris markerek felhasználásával is sikerült már faj- vagy egyedszintű határozást

elvégezni. A madárodúkban általában sok szőr felgyülemlik, ezért a morfológiai határozáson túl a mtDNS alapú fajhatározás is alkalmazható módszer lehet egy terület fajösszetételének meghatározására vagy faunájának monitorozására. Ilyen jellegű „egyszerű” jelenlét adatok különösen fontosak lehetnek például a Natura 2000 területek jelölő fajaira vonatkozóan.

A szőr csapdás vizsgálatok során általában folyékony attraktánsokat használtak csali falatok helyett és általánosságban elmondható az is, hogy az aktív (szaganyaggal ellátott) csapdák használata preferenciát élvez. A szaganyagoknak több előnye is lehet. Könnyű felhelyezni az eszközre, egyszerűbb tárolni és utánpótolni, valamint nem alakul ki csapdabolonság az állatokban, mert a csapda jelenlétét nem kötik össze a „jutalomfalattal”, amely egy csalifalat megszerzése esetén járna az állatnak (Long et al. 2008). A legkedveltebb szaganyagok a hódkasztórium, macskamenta, macskagyökér és egyéb, kereskedelmi forgalomban kapható speciális attraktánsok voltak.

A legtöbb (n=32, 84,21%) szörgyűjtésre alapozott vizsgálatot olyan magterületeken hajtották végre, ahol a célfajok nagyobb állományúsűrűségben vagy bizonyítottan vannak jelen. Az elterjedési terület szélén (periférián) található populációkban csak ritkán (n=3, 7,89%) hajtottak végre szörgyűjtési vizsgálatokat. Vélhetően több olyan – jól megtervezett és kivitelezett – szőr csapdázási teszt is történt már, amelyek eredményei nem jelentek meg nemzetközi folyóiratokban a sikertelen mintagyűjtésnek köszönhetően, pedig ezek is fontos információval szolgálhatnak a gyakorlati szakemberek számára. A sikertelen vizsgálatok (Comer et al. 2011, Anile et al. 2012) eredményei azonban csak ritkán jelennek meg lektorált szaklapokban. Az egyre többet használt nem invazív módszerek közé sorolható a szörgyűjtés is, amely azonban igazán hatékonyan olyan területeken használható, ahol eredendően gyakrabban előfordul a célfaj. A ragadozófajok jelenléte és állományviszonyai továbbra is nehezen vizsgálhatók és ezen valószínűleg a módszerek kombinálásával (pl. kameracsapdákkal) (Long et al. 2008, Meek et al. 2014) és a vizsgálatba fektetett idő növelésével (pl. hosszútávú monitoring) lehet változtatni.

A morfológiai és genetikai határozás pontossága

A kvantitatív vizsgálat során a fedőszőrök és pehelyszőrök közötti határozási különbségekre nem tértem ki, mert több irodalmi forrás is megerősíti, hogy a pehelyszőrök az átfedő makroszkopikus és mikroszkopikus karakterek miatt nem alkalmasak a fajszerű határozásra (Kennedy 1982, Teerink 1991, Tóth 2015). Ezt a referenciamintáim összeállításánál én is tapasztaltam. Főleg az okoz gondot, hogy a pehelyszőrök mérete különböző nagyságú fajok esetén is jelentősen átfed (pl.: mezei nyúl, macskafélék), illetve, hogy fajra való tekintet nélkül általában azonos fehér vagy krémszínnel rendelkeznek.

A morfológiai határozás pontosságát viszont jelentősen befolyásolta, hogy mely testtájáról származtak a szőrszálak. A szakirodalmi források általában a háti fedőszőrök határozhatóságát említik (Tóth 2002, Shajpal et al. 2008), de a három független szakértő által elvégzett határozás azt mutatta, hogy az oldalsó (laterális) fedőszőrök ugyanannyira alkalmasak a határozásra, mint a hátiak (Chi² teszt, $\chi^2=0,203$; $p=0,019$). A háti és oldalsó testtájáról származó szőrök azonban jobban határozhatók, mint a pofáról és hasról származók (Chi² teszt, $\chi^2=5,506$; $p=0,019$).

A Budakeszi Vadasparkból gyűjtött invazív és nem invazív minták testtájtól függetlenül elegendő és megfelelő tisztaságú (A260/A230) DNS-t adtak. Minél több szőr (db) volt egy mintában, annál több DNS-t tudtunk kinyerni az adott mintából (Wilcoxon teszt, $n=28$; $r=0,843$; $p<0,0001$), a különböző testtájak DNS mennyiségében azonban nem volt különbség (ismételt méréses ANOVA, $F=1,502$; $p=0,242$).

Az általam tesztelt szőrgyűjtő eszközök az állatok hátáról, oldaláról (esetleg pofájáról) tudnak szőrt gyűjteni, így a legalkalmasabb alaktani bélyegekkal rendelkező fedőszőrökön kezdődhetett meg a terepi minták határozása. A kutyafélék például szeretnek a hátukkal dörgölözni (elsősorban talajon fetrengve) (Ausband et al. 2011), míg a macskafélék pofájukkal és oldallal dörgölöznek a tárgyakhoz (Schmidt & Kowalczyk 2006). Az előzetes vizsgálatokból az is kiderült, hogy a DNS tartalom nem változik a testtájak között, így a tesztelt eszközök vélhetően terepi körülmények között is megfelelő szőrmintákat tudnak biztosítani a területek faunisztikai leírásához.

Vakteszt: referenciaminták fajszintű azonosíthatósága

A vaktesztet végző három szakember a szőrminták körülbelül felét tudta faji szinten beazonosítani, de ez nem feltétlenül jelenti azt, hogy a többi esetben minden alkalommal téves határozás történt volna. Az esetek nagy részében a határozók egy magasabb rendszertani kategóriát (pl. macskafélék, menyétfélék) azonosítottak és nem voltak elég biztosak a meglévő karakterek alapján az adott fajban. Erre az „önmegtartóztatásra” egyébként többen felhívják a figyelmet (Spaulding et al. 2000, Lobert et al. 2001), hiszen mindenképp jobb egy kisebb felbontású, de biztos adattal rendelkezni, mint egy pontatlannal (Monterroso et al. 2013). A medve és a borz voltak a legsikeresebben meghatározott fajok, míg a mosómedvét és farkast csak sikertelenebbül lehetett azonosítani. Ha csak a háti és oldaltájékat vesszük figyelembe, akkor a fajszinten nehezen határozható szürke farkas és mosómedve határozási sikere is megduplázódott (17% → 33%). A medve és borz mintákat minden határozó 100%-os sikerrel azonosította dorzális fedőszőrök alapján. A farkas, mosómedve, aranyakál és róka voltak a négy legnehezebben meghatározható faj. Mindazonáltal a vörös róka esetén a jó állapotú (ép, tiszta)

dorzális fedőszőrökön találhatóak olyan morfológiai bélyegek, amelyek alapján könnyen elvégezhető a faj azonosítása (Teerink 1991, Tóth 2015).

A vaktesztből tehát kiderült, hogy az alaktani bélyegek alapján a szőrminták határozhatósága nagyban változhat különböző fajok esetén. Ez fontos lehet például olyan esetek bejelentésénél, ahol nagyragadozók (pl. medve vagy farkas) kártételét észlelték. A helyszínen esetleg fellelhető szőrmintákból egyszerűen és olcsón meghatározható, ha a kárt medve okozta, de a farkas esetén a morfológiai határozás vélhetően csak családszinten (kutyaféle) tud azonosítani. Ugyanígy bizonyítható a hazánkban alkalmanként átkóborló medvék megjelenése a terepbejárások során véletlenszerűen talált minták határozásával (ld. még később).

Összesen 36 mintából hármat (8,33%) nem sikerült sem genetikailag, sem morfológiailag meghatározni (semmilyen taxonómiai szinten). Összesen hat (16,67%) olyan minta volt, ahol csak a morfológiai határozás hozott valamilyen (nem feltétlenül fajszintű) eredményt és kilenc (25%), ahol csak a genetikai. A küllemi analízisnek 18 (50%) esetben sikerült fajszinten meghatározni a mintát, a mtDNS vizsgálatnak pedig 22 (61,11%) esetben. A morfológiai határozás nem mutatott tévedést (0%), míg a genetikai határozás a BLAST eredményekre támaszkodva négy esetben (17,39%) tévesnek bizonyult, amikor molnárgörény egyedet 16S rRNS BLAST alapján feketelábú görénynek (*Mustela nigripes*) azonosított. Ezek a tévedések bizonyos esetekben közvetett módon kiszűrhetők, ha ismerjük a minták származási helyeit. A közvetett jelekre (pl.: lábnyom, szőr, ürülék) alapozott vizsgálatoknál a származási helyszín ismerete alapfeltétel a pontos határozás érdekében (Lobert et al. 2001). Tizennyolc (50%) esetben a morfológiai és mtDNS alapú határozások fajnál magasabb taxonómiai szinten megegyeztek egymással, kilenc (25%) esetben pedig fajszinten is azonosak voltak.

A genetikai határozás hatékonyságát több tényező is befolyásolja. A DNS mennyisége különbözhet fajok között, a DNS meleg és nedves környezetben gyorsan degradálódik (Long et al. 2008) és a pontos határozáshoz általában költséges STR markerekre alapozott vizsgálatok szükségesek. A morfológiai határozás megbízhatóságát ezzel szemben elsősorban a szubjektív tényezők befolyásolják. Fontos lehet, hogy mennyire gyakorlott a vizsgálatot végző szakember, milyen atlaszokból dolgozik és rendelkezik-e saját referenciagyűjteménnyel. A vizsgálatot végzők tudását „vaktesztekkel” ellenőrizve még objektívebbé és megbízhatóbbá tehető a határozás (De Marinis & Asprea 2006). Továbbá egyes környezeti tényezők által okozott fizikai degradáció (pl. törés, kopás) is befolyásolhatja a minta határozhatóságát.

Napjainkban már sokszor molekuláris biológiai markerek (mtDNS, STR vagy SNP alapú) segítségével történnek a faj- és egyedszintű határozások, valamint terepi konzervációbiológiai vizsgálatok. Ezek a vizsgálatok azonban sokszor idő- és pénzigényesek, a tárolás és tartósítás feltételei speciálisak, és a mintákban található genetikai örökítőanyag terepi körülmények között

is könnyen degradálódhat (Long et al. 2008, Tóth 2015). A nem invazív módszerek folyamatos fejlődésével újabb és újabb eljárások kerülnek kipróbálásra (ld. Murakami et al. 2016, Magoun et al. 2011). Ezek folyamatos tesztelése biztosíthatja a megbízható adatgyűjtést a természetvédelmi és vadgazdálkodási szakemberek számára. Az új eljárások használata során azonban szem előtt kell tartani azt is, hogy a tradicionálisan használt módszerek (pl. morfológiai szőrhatározás) jól kiegészíthetik a modern vizsgálatokat és jelenleg is rendelkeznek létjogosultsággal (Taupin 2004, Taru & Blackwell 2014).

Zárt téren tesztelt szőrgyűjtő eszközök és szaganyagok

A Budakeszi Vadasparkban tesztelt csapdákkal hat vizsgált fajtól összesen 304 szőrmintát tudtunk gyűjteni. Az A-típusú (dörgölőzópárna) csapdákkal tudtuk a legtöbb szőrt gyűjteni ($n=125$; $\bar{x}=20,83$; $SE=20,44$), de ezek az összes vizsgált fajnál bent voltak. Egyedül a nyesttől nem lehetett ilyen csapdával mintát gyűjteni, de az állat viselkedéséből kiindulva (ritkán dörgölőzik) ez nem meglepő. Hasonló eredményeket kaptak Észak-Amerikában halásznyest esetén (Long et al. 2007). A B-típusú (ládacsapda) eszközök, annak ellenére, hogy csak három fajnál (vadmacska, nyest, vadászgörey) voltak bent, sok mintát gyűjtöttek ($n=115$; $\bar{x}=38,33$; $SE=33,38$). A vadmacskától nem sikerült szőrmintát gyűjteni a ládacsapdával. A C-típus (csőcsapda) csak két fajnál (nyest, vadászgörey) volt bent és kevesebb szőrt ($n=64$, $\bar{x}=32$) gyűjtött, mint az előbbi két csapdatípus. Ez vélhetően azért történhetett, mert a csőcsapdákat nehezebb stabilizálni, és a mozgó csapdában kevésbé érzik magukat biztonságban az állatok. Egy PVC csőcsapda előállításának anyagköltsége alacsony (600-800 ft/db), ezért a menyétfélékre javaslom a további használatukat. Tóth (2003) egyébként a hasonló rendszerű csőcsapdákat két oldalról nagyméretű szögekkel rögzítette a talajszinten, ami megoldhatja a stabilitás kérdését. A legtöbb szőrt a menyétféléktől tudtuk gyűjteni. A vadmacska kevés szőrmintát ($n=8$) szolgáltatott és általában óvatosan viselkedett a csapdák körül. Kizárólag a dörgölőzópárnát használta, azt is kevés alkalommal. A kistestű macskafélékre érdemes lenne zárttéri és terepi körülmények között is kipróbálni a karókat, amelyeket sikeresen használtak nemzetközi szakirodalmakban (Kéry et al. 2002, Steyer 2013) és egy hazai tesztelése is megtörtént már házi macskákön (Zagyvai 2016).

A drótkéfe gyűjtötte a legtöbb szőrt ($n=131$; $\bar{x}=13,1$; $SE=14,87$). A kétoldali ragasztó is elég sok mintát ($n=79$; $\bar{x}=15,8$; $SE=13,53$) eredményezett, ennek a használata azonban elég körülményes. A ragasztószalag hideg és nedves időben nem mindig ragad, a szalagsere nehéz, továbbá a szőrök kiszedés közben beleszakadhatnak a ragasztóba (Mowat & Paetkau 2002, Patkó, nem publikált). Az érzékeny szaglászú emlősök viselkedését lehet, hogy ragasztó szaga

befolyásolja, bár ezt megfigyeléseink nem támasztják alá. Több irodalom is említi, hogy a szögbelövő szegei is alkalmas szörgyűjtő felületnek bizonyulnak. A legelső dörgölözőpárnás vizsgálatok során (McDaniel et al. 2000) és azóta is sok esetben (Schmidt & Kowalczyk 2006, García-Alaníz et al. 2010, Portella et al. 2013) használták ezt a módszert. A könnyebb hozzáférhetőség miatt mi sima önbehajtószögeket ütöttünk át a szőnyegdarabokon, de ezek nem az elvárt mennyiségben gyűjtöttek szőröket ($n=16$; $x=1,46$; $SE=2,84$). Legrosszabbul a tépózár és szögesdrót teljesítették. A szögesdrót egyes csapdarendszereknél (pl.: karám, oszlopcsapda) jól bevált módszer, de ez valószínűleg a célfaj (medvefélék) szőrméretével és mennyiségével áll összefüggésben. A tépózár a kis mérete miatt nem tudott elég szőrt kifésülni és megtartani. Ezt az eredményt más szakirodalom is megerősítette már (Heurich et al. 2012).

A szaganyagok tesztje során nyestet ($n=1$) és házimacskákat ($n=5$) sikerült megfigyelnünk, miközben dörgölöztek a drótkefének vagy szaglászta azokat. Az összes reakciót a macskagyökér és macskamenta attraktánsok váltották ki. A halolajos és kereskedelmi forgalomban lévő szaganyaggal (Hagopur fox) ellátott csapdáknál nem figyeltünk meg állatokat. Macskaféléknél a két legjellemzőbb csalianyag a nemzetközi szakirodalomban is a macskamenta és a macskagyökér (valeriana) (Schmidt & Kowalczyk 2006, Downey 2005, McDaniel et al. 2000, Steyer et al. 2013, Weaver et al. 2005, Comer et al. 2011). A vizsgálati területen egyébként alkalmanként előforduló vörös róka az egy hónapnyi időtartam alatt nem járt a szőrscapdák közelében.

Fészkek, odúk: csali nélküli természetes szőrscapdák

A legvárosiasabb vizsgálati területen, a gödöllői Alsóparkban és a SZIE parkjában összesen 15 fészket találtam és 41 szőrmintát sikerült azonosítanom. Gödöllőről kimutattam a mezei nyulat, vakondot, mogyorós pelét, lovat és kutyát. A legtöbb minta azonban emberektől származott, a fészkek 81,81%-ában találtam emberi haját. Minden vizsgálati helyszínenem előkerül az iker-fajpárok problémája (Tóth 2015). Az ikerfajok olyan fajok, amelyek esetében a közeli rokonság és átfedő bélyegek miatt több szőrminta is szükséges a fajszintű identifikációhoz, és kvantitatív mérésekre is szükség lehet. Az ikerfajok esetében több tényezőt is figyelembe kell venni. Az egyik ilyen lehetőség az azonosítás pontosításához a fajok elterjedési területe, egy másik elkülönítési alap pedig a faj tulajdonságaiból adódhat (pl. mennyire tűri az emberi zavarást). Ez alapján a mogyorós peléhez nagyon hasonló erdei pelét kizártam, mivel Gödöllő egy erősen urbanizált helyszín, összefüggő erdőség közvetlenül nem veszi körül és az erdei pele természetközeli élőhelyeken is ritka fajnak tekinthető (Bakó 2007).

A Merzse-mocsárban összesen 13 fészket gyűjtöttem és 34 emlőszőrt azonosítottam sikeresen. Ebből öt fajt (vándorpatkány, mezei nyúl, vidra, nagy pele és ember) és két ikerfajpárt (mogyorós pele-erdei pele, menyét-hermelin) azonosítottam. A menyét és a hermelin (*Mustela erminea*) esetében a természetközeli élőhelyre való tekintettel nem zárnám ki a hermelint, annak ellenére sem, hogy hazánk egyik legkevésbé elterjedt menyétféléje és az antropogén hatásokat nehezen tűri (Lanszki & Heltai 2007a). A hermelinre irányuló célzott vizsgálat az utóbbi időben nem történt, és a faj pontos elterjedésével nem vagyunk tisztában. Indirekt alapon el lehet viszont különíteni a mezei nyulat az üregi nyúttól (*Oryctolagus cuniculus*). Terepbejárások alkalmával többször találkoztunk mezei nyúllal, míg az üregi nyúl a myxomatózis és RHD járványok miatt, valamint a kilencvenes évek hideg telei miatt az ország nagy részéről kipusztult (Katona & Altbäcker 2007). A házi patkány (*Rattus rattus*) is kevés helyen fordul elő az országban (pl. Dráva mentén és a Csepeli-szabadkikötőben) (Horváth 2007), így a talált szőrök valószínűleg vándorpatkányhoz tartoznak. A leggyakrabban (n=7) ezen a területen is az ember fordult elő, amelyet a menyét-hermelin (n=6) és a kistestű pelék (n=6) követtek. A területen egy fészkekből sikerült kimutatni a vidraszőrt is. Faunisztikai szempontból a vidra különösen érdekes lehet. A területen még nem bizonyított a vidra jelenléte, azonban szakirodalmi adatok alapján elmondható, hogy a vidrának országosan elterjedt stabil állománya figyelhető meg (Lanszki et al. 2008, Lanszki 2008), így könnyen előfordulhat, hogy a Merzse-mocsár területén is megjelent már. Annak ellenére, hogy a vidra fokozottan védett állat, a talált szőrök gereznából is származhatnak. Ezért az előfordulás megerősítéséhez más módszerekkel (pl.: vizuális megfigyelés, lábnyom, vidracsúszda) is bizonyítani kell a kapott eredményt.

A mátrai Sár-hegy SAC területéről 12 mesterséges odú bélésanyagot gyűjtöttünk, amelyekben összesen 55 db szőrmintát ($x=4,58$; $SE=6,69$) találtunk. A területről összesen 11 fajt sikerült leírunk. Leggyakrabban a vaddisznó és egyéb párosujjú patások szőrei kerültek elő. A hód előfordulása némileg meglepő adat a Sár-hegyen, de kóborló helykereső példányok előfordulhatnak a közelben, még akkor is, ha a Szent Anna-tó csak időszakos vízként van számon tartva. A közelben több nagyobb vízfelület is található (pl.: markazi-víztározó, domoszlói horgásztó), amelyek alkalmas élőhelyek lehetnek a hódok számára. 2005-ben több példányt is szabadon engedtek a vizsgálati terület közelében található horgásztóban, a hód pedig országos szinten egyre elterjedtebb fajnak minősül (Haarberg 2007, [http9](http://www.hodok.hu)).

A gyűjtött fészkek alapján felállított faunisztikai leírásból az derül ki, hogy a legkisebb fajszámmal a legvárosiasabb terület (Gödöllő) rendelkezik (öt faj és az ember). A Merzse-mocsárban, mint maradványélőhelyen már több faj képviseltette magát. Ikerfajokkal együtt hat faj és egy fokozottan védett ragadozó (vidra) is előkerült a helyszínről. A Sár-hegy volt a legtermészetesebb élőhely a három mintaterület közül, itt 11 faj jelenlétét sikerült kimutatni.

Úgy gondolom, hogy a talált fészkek és odúk száma, valamint a bennük fellelhető szőrök mennyisége jól mutatja, hogy a módszer megfelelően alkalmazható városi (Patkó et al. 2014) és természetes területeken (Láng 2016, Tóth 2008, Ondrušová & Adamík 2013) is. A gyakorlat elsajátításához viszont sok idő és referenciaanyag szükséges (Lobert et al. 2001, Spaulding et al. 2000). Továbbá fontos lehet figyelembe venni az egyes fajok elterjedési területének és biológiai sajátosságainak ismeretét is, amely információkkal szűkíteni lehet a potenciális fajok körét. További pontosítást jelenthet – egyfajta kalibrációként – az azonosítást végző személy vakteszttel történő „vizsgáztatása” (De Marinis & Asprea 2006).

Csalianyaggal ellátott szőrscsapdák Natura 2000 területeken

Az első mátrai mintavételezés során 51 szőrmintát sikerült gyűjtenünk a csapdák segítségével, amelyekből 13 (25,49%) tartozott valamilyen ragadozófajhoz. A leggyakrabban (n=16, 32%) párosujjú patások mintái kerültek elő. Az emberen kívül 12 fajt vagy fajpárt tudtunk kimutatni a területről. Egy esetben eurázsiai hiúz szőrmintáit is megtaláltuk egy szőrscapdán a Gyöngyöspata Havas Natura 2000 területen. E minta azonosítása 12S rRNS alapján történt pehelyszőrökből. Ezen a csapdán előzőleg muflon fedőszőröket is találtunk, amelyeket alaktani bélyegeik alapján azonosítottam. Az 51 szőrmintából egyébként kilenc (17,65%) hasonló vegyes minta került elő. Több faj kimutatása szerencsés egy általános faunisztikai leírásnál, azonban a genetikai vizsgálatokat nagyban nehezítheti, ha keresztkontamináció történik (Long et al. 2008). A morfológiai határozás során a szőrszalakat egyesével vizsgáljuk, a genetikai azonosítás viszont több szőrt egyszerre azonosít, a magasabb DNS tartalom érdekében. Ilyenkor gondot okozhat, hogy több faj (vagy egyedi azonosítás esetén több egyed) mintái kerülnek elő egy csapdáról. Ezt a kontaminációt az ellenőrzések közti idő lerövidítésével, fajspecifikus attraktánsok használatával vagy alapos morfológiai előválogatással lehet mérsékelni. A hiúz az Északi-középhegység területén több helyen előfordul (pl.: Börzsöny, Aggtelek, Zemplén) kis egyedsűrűségben (Szemethy 2004), de a Mátrából és a Bükkből az utóbbi időben nem érkeztek a faj jelenlétéről szóló megfigyelések (Gombkötő, nem publikált adat).

A 2015-ös mintavételezés során sokkal kevesebb szőrmintát gyűjtöttünk (n=23). A leggyakoribb (n=7, 31,82%) csoport 2015-ben a kisemlősök voltak. Az emberen kívül csupán hét fajt vagy fajpárt tudtunk kimutatni a mátrai mintaterületről. A 23 szőrmintából egy (4,55%) tartozott ragadozóhoz (vörös róka). Az 23 találatból két (9,09%) mintánál több faj szőrét is megtaláltuk egy csapdán.

Az alacsonyabb mintaelemszámot okozhatta a véletlen is, de az is, hogy a terepi mintagyűjtést olyan személy végezte, akinek nem volt kellő gyakorlati tapasztalata a szőrscapdázásban. Önkéntesekkel végzett vizsgálatok bizonyították, hogy gyakorlat hiányában kevésbé pontos például a sűrűségbecslés (Foster-Smith & Evans 2003). Egy hosszabb távú vizsgálat esetén a mintagyűjtők valószínűleg egyre több gyakorlatra tesznek szert, amely végeredményben egyre kisebb pontatlansághoz vezet.

A 2014-es kiskunsági mintavételezés során a mátraihoz hasonlóan 51 szőrmintát tudtunk gyűjteni. A leggyakrabban (n=18; 35,29%) kistestű ragadozók mintái kerültek elő. Házi macska szőrökét gyakran (n=8) lehetett találni az eszközökön. A házi és vadmacska ikerfaj-párt alkot, de a makroszkopikus karakterek alapján (pl. vöröses szín) gyakran kizárható a vadmacska. A területen több tanya is volt, ahol elvétele kóbor macskákat is meg lehetett figyelni. Az emberen kívül 12 faj vagy fajpár került elő a kiskunsági mintaterületről. Az 51 szőrmintából 24 (49,02%) tartozott ragadozóhoz. A területen jelölőfajként van feltüntetve a molnárgörény. Ezt elsősorban koponyabélyegek alapján lehet azonosítani a házi görénnyel történő hasonlósága miatt (Lanszki & Heltai 2007b). Egy esetben a szőr alaktani bélyegei alapján sikerült kizárni a molnárgörényt és a mintát házi görénynek tulajdonítottam (fehéres szín a fedőszőr alnyéli szakaszán, d~130 µm, Tóth 2003). Két másik esetben az átfedő karakterek miatt nem lehetett megmondani a pontos fajt. A menyétet és a hermelint (n=6) alaktani bélyegek és az élőhelyi jellemzők alapján nem tudtam elkülöníteni.

A második mintagyűjtési kampányban kevesebb mintát (n=27) tudtunk gyűjteni a kiskunsági területen is. A leggyakoribb (n=7, 26,92%) csoport a kisemlősök voltak. A mintákból nyolc (29,63%) tartozott ragadozó fajhoz. Ezek azonban nem a területre jellemző őshonos állatok szőrei voltak, hanem az elvadult, illetve – vélhetően tanya közeli – kóbor állatokból származhattak. Kutya (n=4; 18,18%) mintái kerültek elő legtöbbször a területről, de 2015-ben aranysakál és róka szőrt is találtunk. Az aranysakálszőrt nem a fajra jellemző eszközzel (dörgölőzőpárna) gyűjtöttük, hanem lácspadával. Ez a jelenség vélhetően nem ritka, más források is említést tesznek arról, hogy a csapdákra néha nem rendeltetésszerűen (pl.: bemászásból, dörgölözésből) kerülnek a minták (Ausband et al. 2011). A sakálállomány az elmúlt években exponenciális növekedésnek indult (Szabó et al. 2009). A sakál élőhely tekintetében nem válogatós: kedveli a nyílt, erdővel tarkított élőhelyeket (Patil & Jhala 2008). Ez a faj egyébként megfigyelhető a mintaterület közelében is (Szabó László szóbeli közlés), így nem meglepő, hogy a területről ezzel a módszerrel is ki lehet mutatni. Az alacsony mintaszám (n=1) valószínűleg annak tudható be, hogy a területen elsősorban menyétfélék mintázására alkalmas gyűjtőeszközöket (láda- és csőcsapdák) helyeztünk ki.

A területek közti (β -diverzitás) szimilaritást Jaccard indexszel jellemeztem, amely 0 és 1 között változik. Utóbbi érték (1) azt mutatja, hogy a két területen ugyanazok a fajok fordulnak elő, míg az előbbi (0) a teljesen különböző fajdiverzitást jelöli. A két Natura 2000 terület hasonlósága közepesnek mondható ($\beta = 0,53$). A Mátrában és Kiskunságban összesen 17 fajt mutattunk ki, amelyek közül három emberi hatásra jelent meg a területeken (házi macska, kutya és vízibivaly). A Mátrát a hazai hegyvidéki területeket jellemző erőteljes csülkösvadfaj jelenlét dominálta. A területről kimutattuk a muflont, gímszarvast, őzet és vaddisznót is. Az egyik helyszínen sikeresen bizonyítottuk a hiúz alkalmi előfordulását. Ezen a mintavételi területen négy olyan faj fordult elő, amelyeket a kiskunsági helyszínen nem találtunk meg (muflon, gímszarvas, hiúz, mókus). A területről a kistestű macskafélék nem képviselték magukat a várható gyakorisággal. Házi vagy vadmacska jelenlétére csupán két minta (2014) utalt, pedig a területen vélhetően jelen van a vadmacska (Heltai et al. 2006). A biztonságos fajszintű azonosításhoz STR marker alapú vizsgálatok kellenek, a morfológiai bélyegek alapján csak ritkán különíthető el a két faj (Tóth 2015). A kis mintaszámnak oka lehet, hogy a vadmacskák nem minden esetben reagálnak a szőrscspadák jelenlétére (Anile et al. 2012). Továbbá a kistestű macskafélékre alapozott szőrgyűjtési kísérletek során általában attraktánsokkal vastagon átitatott karókat használnak (Hanke & Dickman 2013, Steyer et al. 2013, Comer et al. 2011). A jövőben, annak érdekében, hogy pontosabb információkat kapjunk a hazánkban hibridizációs veszéllyel sújtott vadmacskáról (Biró et al. 2004), érdemes lenne ilyen szőrgyűjtőkarós vizsgálatokat is tesztelni terepi körülmények között. A kiskunsági területen az alföldi faunát inkább jellemző fajok kerültek kimutatásra (pl.: őz, görények). A területen a kisméretűek (küllemi bélyegek alapján fajszinten általában nem azonosíthatók) és kistestű ragadozók domináltak. Szintén négy olyan fajt találtunk, amelyeket a hegyvidéki helyszíneken nem tudtunk kimutatni (vízi bivaly, aranysakál, házi görény, kutya).

A terepre kihelyezett csapdatípusok hatékonysága

Helyszíntől és évtől függően 6-31 terepnapot töltöttem a területeken csapdaellenőrzéssel. Az első mátrai csapdázási kampányban 42 mintát tudtam gyűjteni és 328 alkalommal nem volt a csapdákon szőr. Az ellenőrzések során egy nap alatt átlagosan 2,63 (SE=2,73) mintát tudtam gyűjteni és 23,13 (SE=7,23) csapdát lehetett ellenőrizni. A legjobban 2014-ben a PVC csőcsapdák teljesítettek, 14 csapdából 13 mintát sikerült gyűjtenem (92,86%). 2015-ben 20 mintát tudtam gyűjteni és 727 alkalommal nem volt a csapdákon szőr. A csapdák ebben az évben általában egy mintát gyűjtöttek maximum. Az ellenőrzések során egy nap alatt átlagosan 0,61 (SE=1,08) mintát tudtam gyűjteni és 24,1 (SE=9,57) csapdát tudtam ellenőrizni. A PVC (n=5) és

ládacsapdák (n=4) öt (100%) illetve négy (100%) mintát gyűjtöttek. Az első kiskunsági kampányban nem volt olyan terepnap, amikor ne sikerült volna legalább két szőrmintát gyűjteni az eszközökről. Az ellenőrzések során egy nap alatt átlagosan 4,27 (SE=1,68) mintát gyűjtöttem és 25 (SE=7,6) csapdát lehetett ellenőrizni. Kevés (n=6) drótkéfécs dörgölőzópárnát helyeztem csak fel erre a helyszínre, de azok összesen 6 szőrmintát gyűjtöttek (100%). A 22 PVC csapda 27 alkalommal (122,73%), a ládacsapdák (n=10) pedig 14 alkalommal (140%) gyűjtöttek szőrmintát. A második csapdakampányban 27 szőrmintát gyűjtöttem be a 153 ellenőrzés során. A terepnapok során 3-7 mintát találtam. Az ellenőrzések során egy nap alatt átlagosan 4,5 (SE=1,76) mintát tudtam gyűjteni és 21 (SE=4,82) csapdát ellenőriztem. A 22 PVC csapda 19 alkalommal (86,36%), a ládacsapdák (n=10) pedig 8 alkalommal (80%) gyűjtöttek mintákat.

A kiskunsági mintaterületen összességében sikeresebb volt a szőrgyűjtés, mint a mátráin. A szőrgyűjtésre legalkalmasabb időszaknak az első negyedév tűnik. Ellenőrzéseink során a január-április közötti időszakban havonta 20-25 szőrmintát találtunk. Októberben egy alkalommal, júliusban pedig egyik évben sem jártunk a terepen csapdákat ellenőrizni. Ugyanakkor mindkét helyszínen voltak olyan terepi napok, amelyeken egyáltalán nem találtam mintákat. A csapdák közül általában a csőcsapdák és ládacsapdák gyűjtöttek több mintát. Ezek az eszközök voltak azok, amelyek többször is újra fogtak, tehát egy csapda egy kampányban nem csak egy mintát gyűjtött. A dörgölőzópárnáknál az ilyen újrafogás ritka volt. A csapdákat 1-10 alkalommal ellenőriztem. Volt olyan csapda, ami a kihelyezés után eltűnt a területről, megrongálódott, vagy víz alá került, ezért csak egy alkalommal lehetett ellenőrizni. A kiskunsági területen 2014-ben három mintát találtam, amely 10-nél több fedőszőrt tartalmazott, a mátráin pedig 7-et. Az, hogy egy mintán belül mennyi szőr található, sok esetben nem tisztázott a nemzetközi szakirodalomban (Patkó et al. 2016b). Egy mintának számíthat, amikor sikerül azonosítani a fajt a szőrminta alapján, de félrevezető is lehet. Bizonyos fajok esetén (pl.: borz, őz) akár egyetlen jól fejlett fedőszőrből is egyszerűen lehet fajt határozni, így egy darab szőr is mintának számíthat. Jelen vizsgálatban a minták legtöbbször 5-nél kevesebb szőrszálat tartalmaztak, ez azonban más kutatásokban is megfigyelhető (Bullington szóbeli közlés, [http10](http://10)). Immel et al. (2006) leírja, hogy 6-7 szőrszálat talált mintánként, de mások csak annyit említenek, hogy a későbbi genetikai vizsgálatokhoz „elegendő mennyiség” volt egy szőrmintában (Pauli et al. 2008). Tom (2012) arról számolt be, hogy a csapdái közül egyen sem volt újrafogás, viszont egy-egy csapda átlagban 1,7 szőrt gyűjtött. A mintaszám is jelentősen változhat a vizsgálatok között. Comer et al. (2011) egy szőrmintát talált egy vörös hiúzt célzó vizsgálatában, míg Stetz et al. (2010) 12 564 db szőrmintát gyűjtött össze egy év alatt. Azonban az utóbbi munka nagy munkaerőbefektetéssel jöhetett csak létre, mert ellenőrzési alkalmanként mindössze 0,697 szőrmintát találtak a csapdákon. A csapdaszám is változatos képet mutat. Clark et al. (2003)

mindössze 15 csapdával dolgozott, amíg mások 138 (Castro-Arellano et al. 2008) vagy 161 (Ruell & Crooks 2007) csapdát is kihelyeztek a mintaterületeiken. Ebben a vizsgálatban 100 csapda a Mátrában és 38 a Kiskunságban képes volt azonosításra alkalmas ragadozó szőröket gyűjteni.

A fogási számokat, terepi tapasztalatokat és irodalmi vizsgálatokat figyelembe véve javaslatokat tettem a hazai emlős ragadozók jelenlét kimutatására alkalmas szőrgyűjtési módszerek használatához. Javaslataimat a **8. táblázat** foglalja össze.

8. Táblázat. Hazai ragadozó fajokra javasolt szörgyűjtési eljárások.

Faj	Csapdatípus	Attraktáns, csali	Megjegyzés
<i>Vadmacska</i>	Illatkaró	Macskamenta, macskagyökér, hódkasztórium	
<i>Eurázsiai hiúz</i>	Dörgölözőpárna Madárfészek-analízis		
<i>Vörös róka</i>	Csapán Madárfészek-analízis Módosított ölőcsapdák*		Szögesdrót a kotorék bejáratánál Stoppolt hurok a kotorék bejáratánál
<i>Aranysakál</i>	Módosított élvefogó és ölőcsapda* Madárfészek-analízis Módosított élvefogó és ölőcsapda*	Csirkefarhát, kereskedelmi forgalomban lévő attraktánsok	Lábfogó vas, hattyúnyak
<i>Szürke farkas</i>	Csapán	Csirkefarhát, kereskedelmi forgalomban lévő attraktánsok	Lábfogó vas, hattyúnyak
<i>Nyestkutya</i>	Madárfészek-analízis Madárfészek-analízis		Ismert előfordulás esetén, csapa mentén
<i>Hermelin</i>	Cső- és ládacsapda		
<i>Eurázsiai menyét</i>	Módosított élvefogócsapda	Csirkefarhát, kereskedelmi forgalomban lévő attraktánsok	Nagyméretű élvefogó kisemlőcsapda
<i>Molnárgörény</i> <i>Közönszges</i> <i>görény</i>	Cső- és ládacsapda		
<i>Nyest</i>	Madárfészek-analízis		
<i>Nyuszt</i>	Cső- és ládacsapda Madárfészek-analízis Módosított ölőcsapda*	Csirkefarhát, kereskedelmi forgalomban lévő attraktánsok	Stoppolt hurok, csapa mentén
<i>Európai vidra</i>	Karó Madárfészek-analízis Csapán		Ragasztós karó vidracsúszdánál Szögesdrót a kotorék bejáratánál
<i>Eurázsiai borz</i>	Madárfészek-analízis Módosított ölőcsapda*		Stoppolt hurok, csapán mentén
<i>Mosómedve</i>	Madárfészek-analízis Madárfészek-analízis		
<i>Barnamedve</i>	Karám Dörgölözőfa	Kereskedelmi forgalomban lévő attraktánsok, állati vér, rothasztott hal	Csali falat használata kerülendő Ismert előfordulás esetén, direkt kereséssel, szögesdróttal megerősítve

*A módosított ölőcsapdák valamilyen változtatás révén (pl.: stoppolt hurok, kipárnázott karok) az állatot nem ejtik el és sérülést sem okoznak. Miután a csapda elsül, a következő élesítésig nem tud mintát gyűjteni, így egy fogás (szörminta) garantáltam egy egyedtől fog származni.

Opportunistikus mintagyűjtés

A 2013 és 2016 között 29 véletlenszerűen gyűjtött szőrminta közül 27 mintát nagyragadozó jellegű mintaként gyűjtöttek össze a terepen. A minták között szerepelt egy vadelütésből származó kérődző szőr és egy mérgezett ragadozómadár karmai közül előkerült minta is. A kérődzőminta őztől, a mérgezéses eset mintája pedig rókától származott.

A további 27 mintából 11 minta (40,74%) valóban nagyragadozó szőrminta volt. Egyéb esetekben ló (n=2; 7,4%), gímszarvas vagy őz (n=5; 18,52%), vaddisznó (n=5; 18,52%), róka (n=1; 3,7%), macskaféle (n=2; 7,4%) és ember (n=3; 11,11%) szőrmintákat azonosítottak tévesen terepi körülmények között.

Az egyik kapott minta vadelütésből származó baleset után került hozzám. Az elütés esetén a szőrmorfológiai vizsgálat tisztázhatja a faj pénzben kifejezhető értékét is. Nem mindegy, hogy egy balesetben kit terhel a felelősség, illetve, hogy a keletkezett kár mekkora mértékű (ld. őz és gímszarvas piaci értéke). A róka szőrmintát mérgezett sas karmai közül gyűjtötték. A mérgezéses esetek (pl. sas mérgezés) felderítésénél is fontos lehet, hogy milyen fajt kell keresni a területen. A mérgezett tetemből kimutatható az elpusztult állatban található méreganyag, ami közvetett bizonyítékként jelenhet meg egy tárgyaláson. A morfológiai vizsgálatok ez esetben is egyszerű és olcsó megoldást kínálhatnak.

A terepi körülmények között véletlenszerűen gyűjtött szőrminták segíthetnek védett vagy Natura 2000 jelölőfajok jelenlétének bizonyításában is. A kapott minták 40%-a nagyragadozótól származott, ami jóval nagyobb, mint a mintaterületeken célzott kereséssel kapott nagyragadozó (vagy ragadozó) minták aránya. Ezzel a módszerrel nyertek bizonyítást az internetes bulvárhíradásokban (ld. <http://11>) rendszeresen megjelenő medve és farkas észlelések is.

A legalapvetőbb adatokra (pl.: jelenlét, elterjedési terület, állomány nagyság) nagy szükség van az egyes fajok felelősségteljes és fenntartható kezelésében. Ezekre alapoznak a nemzetközileg elfogadott IUCN értékelések is, amelyek nem egy esetben ellentmondhatnak a hazai védettségi kategóriáknak (Márton et al. 2014). A reguláris mintagyűjtés azonban olyan helyeken működik jól, ahol a célfajok nagyobb állománysűrűségben vannak jelen (Patkó et al. 2016b), vagy ismerjük azokat a területeket, ahol rendszeresen előfordulnak az állatok (pl. állandó jelölőhelyek (Schmidt & Kowalczyk 2006). Amíg ez nem történik meg, addig a reguláris (monitoring rendszerű) mintagyűjtés csak nagy munkaerőbefektetéssel eredményezhet megfelelő mennyiségű adatot. A véletlenszerűen gyűjtött minták viszont felhívhatják a figyelmet az olyan területekre, amelyekre a jövőben érdemes jobban odafigyelni egyéb közvetett nyomok és jelek keresésével vagy vadkamerák kihelyezésével.

6. GYAKORLATI JAVASLATOK

Az eredményeim alapján terepi és laboratóriumi protokollokat állítottam össze az emlős ragadozók nem invazív módon történő szőrminta gyűjtésére és azonosítására.

6.1. Terepi mintagyűjtési protokoll aktív szőrscapdák esetén (A, B és C típus)

1. A csapdák terepi kihelyezését megelőzően a B és C típusú csapdákat előre felcsalizzuk (pl.: csirkefej, farhát).
2. A szőrscapdák kihelyezésének olyan helyen kell történnie, ahol számítunk a célfaj vagy célfajok megjelenésére (pl.: csapák, jelölő helyek, potenciális búvóhelyek). A csapdák kihelyezéséhez javasolt a gumikesztyű használata annak érdekében, hogy minél kevesebb emberi szagot hagyjunk az eszközökön. Az A, B és C típusú csapdák esetén egyaránt fontos, hogy az eszközöket stabilan rögzítsük, vagy helyezzük a talajra.
 - a. A típus: a csapdát két önmetsző facsavarral rögzítjük egy arra alkalmas fára, a célfajtól függően kb. 40-50 cm magasan. A drótkefe mögé rögzítjük a posztót is, amely az attraktánst tartalmazza majd.
 - b. B és C típus: e kétféle csapdát a talajra helyezzük és minden irányból megtámogatjuk, hogy stabilan álljanak. Ezután a csapdákat a környezetre jellemző anyagokkal elrejtjük (pl.: falevelek, ágak).
3. A csapdák helyéről GPS koordinátákat rögzítünk és egyedi azonosító kóddal látjuk el az eszközöket.
4. A folyékony attraktánsok a kihelyezés után kerülnek csapdákra. Javasolt legalább kéthetente frissíteni az attraktánsokat (4-5 ml) és csalifalatokat.
5. Ha a csapdán szőrmintát találunk, azt kesztyűben, csipesszel eltávolítjuk és simítózáras tasakba helyezzük, amelyen feltüntetjük a begyűjtés dátumát, a csapda kódját és a körülbelüli darabszámot, illetve a szőrminta jellegét (fedőszőr-GH, pehelyszőr-UH). Fokozott figyelmet fordítsunk a szőrgyűjtő felületek környékére (pl.: csapda fala) is!
6. A zacskóba a minta tartósítása miatt kisméretű szilikagélt helyezhetünk, vagy a begyűjtést követően a szőrmintát hűtőtáskába helyezzük.
7. Ezt követően ellenőrizzük, hogy a csapdán nem maradt-e több szőrszál. Az A típusú eszközt az ellenőrzés után öngyűjtővel végigperzselhetjük, hogy elkerüljük az esetleg rajta maradt aprószőrök, szőszök legközelebbi alkalommal történő újra begyűjtését (ez a vizsgálatunk torzításához vezethet).
8. A mintákat a laboratóriumi vizsgálatok megkezdéséig mélyhűtőben (-20°C) tároljuk.

6.2. Terepi mintagyűjtési protokoll passzív szőrscapdák esetén (madárfészkek-analízis)

1. A mintagyűjtési periódust ennél a módszernél javasolt ősszel elkezdni, mert ekkor az énekes madarak már nem költenek. Az idő előrehaladtával nő az esélye a fészkek/odú környezeti tényezők (pl.: szél, csapadék) által történő rongálásának.
2. A fészkek vagy odúk helyét egyedi kóddal és GPS koordinátákkal megjelöljük.
3. A teljes fészket/odút begyűjtjük és nagyméretű, jól záródó papírtasakba helyezzük. (Papírtasak használata azért javasolt, mert a műanyag zacskókban a nedves fészkek bepállhat és a magas hőmérséklet és páratartalom a DNS minták degradációjához vezethet.)
4. A mintákat lehetőség szerint terepen hűtőtáskába helyezzük, majd a laboratóriumi vizsgálatok megkezdéséig mélyhűtőben (-20°C) tároljuk.

6.3. Laboratóriumi protokoll fajsintű szőrhatározáshoz (küllemi bélyegek alapján)

1. A gyűjtött minta (pl. madárfészkek) szükség szerinti mélyfagyasztása és csirátlanítása.
2. A terepen gyűjtött mintát szőrökre bontjuk, majd jól záródó tasakba helyezzük és címkézzük. A bontás lehetőség szerint egyszínű (pl. fehér) lapon történjen.
3. A tisztításhoz a szőrszálakat 70%-os alkoholba helyezzünk néhány órára, majd pár percig etil-éterbe rakjuk.
4. Az így előkészített szőröket milliméterpapírra helyezzük és megvizsgáljuk azok szabad szemmel látható tulajdonságait (méret, sávozottság, szín, alak, tapintás).
5. Kutikula lenyomat készítéséhez zselatin fixet (20%-os) használhatunk. A zselatint vékony rétegben elhúzzuk a tárgylemezen, majd belehelyezzük a szőrt, ügyelve arra, hogy a zselatin oldat ne lepje el a mintát.
6. Ha a zselatin megszilárdult a szőrt tű/szike segítségével vesszük le a tárgylemezről (minimális sérülés itt elkerülhetetlen).
7. Ezután a tárgylemezt mikroszkóp alá helyezzük (400x-os vagy 100x-os nagyítással vizsgáljuk).
8. A szőr ezután ismét tárgylemezre kerül, ahol körömlakkal rögzítjük a két végénél. A rögzítést követően a szőrt elvágjuk és paraffin olajat/immerziós olajat (tartós preparátum esetén kanadabalzsamot) csöpögtetünk rá. Az olajos átitatás után a medulla mintázat láthatóvá válik mikroszkóp alatt.

9. A mikroszkópkamerával minden esetben fényképes dokumentációt készítünk a következő fontos határozóbélyegekről:
- kutikula mintázat az alnyélen
 - kutikula mintázat a felnyél legvastagabb pontján
 - medulla mintázat olajos átitatással a felnyél legvastagabb pontján
 - (mozgókép felvétel a teljes szőrről)

6.4. Laboratóriumi protokoll fajszerű szőrhatózáshoz (mitokondriális DNS alapján)

- A vizsgálatok elkezdése előtt megfelelő védőfelszerelést (laborköpeny, hajháló, maszk, gumikesztyű) veszünk fel.
- A genetikai vizsgálatokat egy előzetes morfológiai azonosítás (ld. fentebb) előzi meg, melynek célja a minta faj vagy magasabb taxonómiai szintű (pl.: család) besorolása.
- A morfológiai azonosítást követően a szőrminták hagymáját Eppendorf csövekbe vágjuk. Javasolt egy azon mintából legalább 4-5 szőrszálát a tárolókba vágni.
- Az Eppendorf csöveket az egyedi terepi azonosítóval is ellátjuk.
- A nem invazív mintákból származó DNS kinyeréséhez kereskedelemben használható DNS izoláló protokollokat használunk (QIAamp DNA Investigator Kit (QIAGEN GmbH, Németország).
- Ezt követően az izolált DNS minőségét és mennyiségét ND-1000 (NanoDrop, Thermo Scientific Inc, USA) spektrofotométerrel, illetve 1%-os etídium-bromiddal festett agaróz gélen ellenőrizzük.
- A további vizsgálatokhoz alkalmas minták tisztasága 260/280 abszorbancián minimum 1,7 értéket kell, hogy mutasson.
- Sikertelen DNS izolálás esetén az eljárás (5.) újra megismételhető.
- PCR reakció összeméréséhez a nyers DNS mintákat koncentrációjuktól függően 15 µg/µl-re hígítjuk ki desztillált vízzel.
 - A mitokondriális DNS vizsgálatokhoz a Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA Polymerase enzimet (Thermo Scientific Inc. USA) használjuk, a gyártó utasítása szerint.
 - A DNS fragmentek amplifikálásához a PTC-1200 DNA Engine Cycler (Bio-Rad Laboratories Inc, USA) készüléket használjuk (PCR program ld. 11.5. melléklet).

- c. Ezt követően a PCR termékeket 2%-os etídium-bromiddal festett agaróz gélen futattjuk meg (1 h, 20 V/cm) és UV fényben tesszük láthatóvá a Chemi Doc MP Imaging System (Bio-Rad, USA) használatával.
10. A továbbiak során két mitokondriális génre (12S rRNS és 16S rRNS) tervezett primerekkel végezzük el a fajhatározást az alábbiak alapján:
- a. A PCR reakció során keletkezett termékeket a Gel/PCR Fragments Extraction Kit (Geneaid Biotech Ltd., Tajvan) használatával tisztítjuk.
 - b. Ezt követően a szekvenciájukat két irányból meghatározzuk ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems Group, USA) készüléken.
 - c. A kapott szekvenciákat a DNASTar programcsomag SeqMan Pro programjával (DNASTAR Inc., USA) illesztjük.
 - d. Az így kapott egyedi szekvenciákat a National Center for Biotechnology Information génbankjában (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) található szekvenciákkal vetjük össze BLAST program segítségével.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Irodalmi források áttekintő értékelése és terepi vizsgálatok alapján igazoltam, hogy a szörgyűjtés az elterjedési területek központjában hatékonyan működik, a peremterületeken véletlenül megjelenő egyedek esetében kevésbé hatékony. Ugyanakkor a peremterületeken alkalmanként megjelenő fajoktól gyűjtött opportunisztikus és monitoring rendszerű terepi szőrminták alapján bizonyítottam a hiúz előfordulását a Mátrában, valamint megerősítettem egyes nagyragadozók (farkas, medve) megjelenését az Északi-középhegység területéről.
2. Sikeresen bizonyítottam, hogy a küllemi bélyegek alapján történő szőrhatózás esetén a dorzális és laterális fedőszőrök a legalkalmasabbak a fajszintű határozáshoz, valamint igazoltam, hogy az egyes testtájak között a kinyerhető DNS mennyiségben nincsen szignifikáns különbség. Morfológiai határozáson alapuló vaktesztek segítségével bizonyítottam, hogy a fajok között különbségek vannak a határozás pontosságában. A borz és medve minden körülmények között egyszerűen és biztosan határozható dorzális vagy laterális fedőszőrök alapján.
3. A szakértői tesztek követően legyártottam és zárt téren teszteltem a szőrscapdák prototípusait és sikeresen gyűjtöttem határozásra alkalmas fedőszőröket hazai ragadozófajoktól. Meghatároztam a legalkalmasabb reguláris terepi szörgyűjtésre is használható szörgyűjtő felületeket (drótkefe, kétoldalú ragasztószalag) és bebizonyítottam, hogy a csapdákkal gyűjtött szőrökben elegendő mennyiségű és megfelelő minőségű DNS található a fajszintű azonosításhoz. Továbbá igazoltam, hogy az egyes terepen is használt eszközök hatékonysága különbözik. A legtöbb szőrmintát azonos munkaerő befektetés mellett a csőscapdákkal és ládacsapdákkal tudtam gyűjteni.
4. Hazánkban először hajtottam végre reguláris, monitoring rendszerű szőrscapdázást dörgölőzőpárnákkal. Az előzetesen tesztelt különböző mesterséges szörgyűjtő eszközökkel emlősfaunisztikai leírásokat készítettem két Natura 2000 területünkről (Mátra SPA és Kiskunsági szikes tavak és őrzégi turjánvidék). Az eszközökkel sikeresen gyűjtöttem szőrt több hazai ragadozó fajtól is.
5. Ezzel párhuzamosan sikeresen teszteltem egy természetes szörgyűjtési módszert, a fészekanalízist egy városi (Gödöllő) és egy városhoz közeli élőhelyen (Merzse-mocsár). Kimutattam, hogy a városi fészkekben is található elegendő jó minőségű fedőszőr a küllemi bélyegek alapján történő fajszintű azonosításhoz és egyes ritka vagy rejtőzködő fajok jelenlétének kimutatásához. A módszer segítségével valószínűsítettem a fokozottan védett vidra előfordulását a Merzse-mocsárban.

8. ÖSSZEFOGLALÓ

Az emlős ragadozók jelenléte komolyan tudja befolyásolni az emberi gazdálkodási tevékenységeket és a természetes életközösségek állapotát is. E fajok megismerése ezért gazdálkodási és természetvédelmi szempontból egyaránt kiemelkedő jelentőségű. A ragadozók azonban jellemzően kis állománysűrűségben fordulnak elő élőhelyeiken, jól rejtőzködnek és gyakran éjszakai életmódot folytatnak, ezért nehezen vizsgálhatók. A közvetett vagy nem invazív módszerek olyan eljárások, amelyek segítségével az állat jelenléte nélkül szerzünk az egyes fajokhoz köthető információkat. A környezetben megfigyelhető nyomok és jelek közül ígéretes információforrás az emlősök szőre.

Disszertációmmal célom volt, hogy először irodalmi vizsgálat alapján kiderítsem, mely aktív szőrscapdázási módszerek alkalmazhatók a hazánkban is előforduló ragadozó emlősök jelenlétének kimutatására. Ez alapján összeállított csapda prototípusokat (dörgölőzópárna, módosított élvefogó csapda és csőcsapda) különböző ragadozó fajok esetén zárt területen (Budakeszi Vadaspark) vizsgáltam, hogy kiderítsem, melyek a legalkalmasabbak terepi körülmények között. A zárt téren gyűjtött minták alapján megvizsgáltam, hogy mely fajokról és testrészekről származó fedőszőrök a legalkalmasabbak a határozáshoz („vakteszt”). Az ezt követő terepi tesztekkel pedig emlősfaunisztikai adatokat gyűjtöttem passzív (madárfészek-analízis) és aktív (szőrscapdázás) nem invazív módszerekkel városi (Gödöllő, Budapest) és természetes (Mátra, Kiskunság) élőhelyekről.

A szakirodalmi források tanúsága alapján leginkább azokon a területeken működtek jól a korábbi vizsgálatok, ahol bizonyítottan jelen volt az adott célfaj (magterületek). Zárt téren a csapdákkal gyűjtött szőrök azonosíthatók voltak küllemi bélyegeik alapján és megfelelő mennyiségű és tisztaságú DNS-t tartalmaztak. A vakteszt során kiderült, hogy egyes fajok (borz, medve) könnyebben határozhatók, mások pedig kifejezetten nehezen (pl.: mosómedve, farkas). A háti és oldalsó fedőszőrök határozhatók a legbiztosabban és köztük nem mutatható ki határozásbeli különbség, de a pofa- és hastájékról származó minták sokkal nehezebben azonosíthatók. A morfológiai és genetikai határozás egy (8,33%) esetben különbözött egymástól, de arról is kiderült, hogy kevert (két fajt tartalmazó) minta volt. A szőrgyűjtő felületek közül a drótkefe és a kétoldali ragasztószalag eredményezte a legtöbb mintát.

A madárfészekanalízis módszerével a két városi helyszínen (Gödöllő, Budapest) öt, illetve hét fajt tudtam kimutatni, míg a természetes élőhelyen (Mátra) 11 fajt találtam meg. Az aktív szőrscapdázás során a Mátrában 12 (2014), illetve 7 (2015), míg a Kiskunságban 12 (2014) illetve 9 (2015) fajt vagy fajpárt tudtam kimutatni. A minták 4-35%-a tartozott valamilyen hazai ragadozó fajhoz. A kiskunsági mintaterületen általában sikerebb volt a mintagyűjtés. A

Mátrában egy esetben kimutattam a fokozottan védett hiúz, a budapesti mintaterületen pedig a vidra jelenlétét, olyan helyszínekről, ahonnan korábban ezek a fajok nem voltak ismertek. A legtöbb szőrmintát a ládacsapdák és csőcsapdák gyűjtötték.

Ez a hazánkban először végrehajtott két éves reguláris monitoring felhívta a figyelmet arra, hogy egyes nem invazív szőrgyűjtési módszerek ígéretes eljárásokat jelenthetnek emlős ragadozók jelenlétének kimutatására.

9. SUMMARY

Carnivore presence can have a serious impact both on human economic activities and on ecosystem functions, which make these species highly relevant for research purpose. Carnivores have elusive and often nocturnal lifestyle and usually occur in low densities, which make them hard to study. Fortunately, information can be gathered on these animals without even observing them, while indirect or non invasive methods are in use. Due to several reasons, indirectly collected animals hairs could be promising samples.

The aims of my dissertation were to find out which hair-trapping methods can be used effectively on carnivore species in Hungary. Trap prototypes (rub pubs, modified box traps and cubbies) have been built and set up in enclosures of different carnivore species at Budakeszi Vadaspark. Based on the collected samples, I also wanted to verify if identification efficiency in certain species and body regions can differ from each other („blind-test”). After these pilot studies the traps have been placed in natural environment to gather faunistical data at two sample areas, Mátra and Kiskunság. Furthermore, hair-trapping was accompanied by passive and natural hair collecting from bird nests at two urbanized (Budapest, Gödöllő) and one natural (Mátra) sites.

Based on the literature review, hair collecting works well where target species are known to occur (core areas) and it is less good in case of edge populations. In the enclosure, hairs could be collected and all samples contained enough clean DNA for further studies. The blind-test showed that certain species can be identified easier (badger (*Meles meles*), brown bear (*Ursus arctos*)) than others (e.g.: raccoon (*Procyon lotor*), wolf (*Canis lupus*)). The same stands true on body regions: dorsal and lateral hairs are always better than snout and abdominal ones. Morphological and genetical species identification only differed in one case (8,33%), where it turned out that hairs of two species were mixed in a field sample. Wire brush and two-sided sticky tapes proved to be the best hair collection surfaces.

Bird nest analyzis showed five (Gödöllő) and seven (Budapest) species in the urbanized areas and eleven (Mátra) at the natural sites. During the baited hair-trapping period, I could describe twelve and seven species in Mátra, while at Kiskunság twelve and nine species were find in 2014 and 2015, respectively. A range of 4 to 35% of the samples were identified as carnivores. Generally, field studies at Kiskunság resulted in more samples than in Mátra. In Mátra, I have proved the presence of the strictly protected Eurasian lynx (*Lynx lynx*) where no recent presence data were known on the species. In Budapest, presence of the also strictly protected Eurasian otter (*Lutra lutra*) was proved in a previously unknown location. Most hair samples were collected by modified box traps and cubbies.

This two years long regular monitoring study that also involved testing several methods simultaneously showed that non invasive hair collecting can be a useful tool to gather presence data on carnivore species in Hungary.

11. MELLÉKLETEK

11.1. Irodalomjegyzék

- Altai, E. (1958): Csapdázás, mérgezés. Mezőgazda kiadó. Budapest. 56 pp.
- Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D. J. (1990): Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403-410.
- Améndola-Pimenta, M., García-Feria, L., Serio-Silva, J. C., Rico-Gray, V. (2009): Noninvasive collection of fresh hairs from free-ranging howler monkeys for DNA extraction. *American Journal of Primatology* 71(4): 359-363.
- Anile, S., Arrabito, C., Mazzamuto, M. V., Scornavacca, D., Ragni, B. (2012): A non-invasive monitoring on European wildcat (*Felis silvestris silvestris* Schreber, 1777) in Sicily using hair trapping and camera trapping: does it work? *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy* 23(2): 45-50.
- Arezi, B., Xing, W., Sorge, J. A., Hogrefe, H. H. (2003): Amplification efficiency of thermostable DNA polymerases. *Analytical Biochemistry* 321(2): 226-235.
- Ausband, D. E., Young, J., Fannin, B., Mitchell, M. S., Stenglein, J. L., Waits, L. P., Shivik, J. A. (2011): Hair of the dog: Obtaining samples from coyotes and wolves noninvasively. *Wildlife Society Bulletin* 35(2): 105-111.
- Azlan, M. J., Sharma, D. S. (2003): Camera trapping the Indochinese tiger, *Panthera tigris corbetti*, in a secondary forest in Peninsular Malaysia. *The Raffles Bulletin of Zoology* 51(2): 421-427.
- Azlan, M. J., Lading, E. (2006): Camera trapping and conservation in Lambir Hills National Park, Sarawak. *The Raffles Bulletin of Zoology* 54(2): 469-475.
- Bakó, B. (2007): Erdei pele, In: Bihari Z., Csorba G. & Heltai M.: Magyarország emlőseinek atlasza, Kossuth kiadó, Budapest pp. 144-145
- Bakonyi, G. (szerk.) (2003): Állattan. Mezőgazda kiadó. Budapest. 699 pp.
- Bang, P. & Dahlström, P. (2006): Állatnyomok és -jelek. M-érték Kiadó. Budapest. 264 pp.
- Balestrieri, A., Remonti, L., Frantz, A. C., Capelli, E., Zenato, M., Dettori, E. E., Guidali, F., Prigioni, C. (2010): Efficacy of passive hair-traps for the genetic sampling of a low-density badger population. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy* 21(2): 137-146.
- Becker, E. F., Spindler, M. A., Osborne, T. O. (1998): A Population Estimator Based on Network Sampling of Tracks in the Snow. *The Journal of Wildlife Management* 62(3): 968-977.
- Biró, Z. (2004): A házimacskák (*Felis silvestris f. catus*) és a vadmacskák (*Felis silvestris*) térbeli, táplálkozási és szaporodási kölcsönhatása. Szent István Egyetem. Gödöllő. 73 pp.
- Biró, Z., Szemethy, L., Heltai, M. (2004): Home range sizes of wildcats (*Felis silvestris*) and feral domestic cats (*Felis silvestris f. catus*) in a hilly region of Hungary. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde* 69(5): 302-310.
- Bihari Z., Csorba G., Heltai M. (2007): Magyarország emlőseinek atlasza. Kossuth kiadó. Budapest. 360 pp
- Bodó, Á. (2004): A vanilloid receptor-1 (TRPV1) szerepe a humán szőrtüsző biológiai folyamatainak szabályozásában. Debreceni Egyetem, OEC, Élettani Intézet. Debrecen. 77. pp.
- Boros, B., Bufa, A., Csóka, B., Dörnyei, Á., Farkas, N., Felinger, A., Kiss, I., Kilar, A., Kilar, F., Lambert, N., Makszin, L., Páger, Cs., & Petz, A. (2010): Műszeres analitika gyakorlatok. Gyakorlati jegyzet. Pécsi Tudományegyetem. <http://ttk.pte.hu/analitika/letoltesek/jegyzet/>
- Bleier, N. & Márkus, M. (2015): Nyomhatározó zsebkönyv. Patamat. Vértessomló. 100 pp.
- Bremner-Harrison, S., Harrison, S. W. R., Cypher, B. L., Murdoch, J. D., Maldonado, J., Darden, S. K. (2006): Development of a Single-Sampling Noninvasive Hair Snare. *Wildlife Society Bulletin* 34(2): 456-461.

- Brewster, D. (1837): A treatise on the microscope. A&C Black Publisher. Edinburgh. 244 pp
(Online: <https://archive.org/details/b2151656x>)
- Brown, J. S., Laundré, J. W., Gurung, M. (1999): Ecology of Fear: Optimal Foraging, Game Theory, and Trophic Interactions. *Journal of Mammalogy* 80(2): 385-399.
- Brown, L. D., Ferguson, J., Lawrence, M. (2003): Tracks and Signs of the Birds of Britain and Europe. A&C Black. London. 336 pp.
- Brown, T., Morgan, B. (1983): Tom Brown's Field Guide to Nature Observation and Tracking. Berkley Books. New York. 282 pp.
- Brzeziński, M., Romanowski, J. (2006): Experiments on sprinting activity of otters (*Lutra lutra*) in the Bieszczady Mountains, southeastern Poland / Observations des épreintes de la loutre (*Lutra lutra*) sur les montagnes du Bieszczady au sud-est de la Pologne. *Mammalia* 70(1): 58-63.
- Bu, H., Hopkins, J. B., Zhang, D., Li, S., Wang, R., Yao, M., Wang, D. (2016): An evaluation of hair-snaring devices for small-bodied carnivores in southwest China. *Journal of Mammalogy* 97(2): 589-598.
- Burki, S., Roth, T., Robin, K., Weber, D. (2010): Lure sticks as a method to detect pine martens *Martes martes*. *Acta Theriologica* 55(3): 223-230.
- Castro-Arellano, I., Madrid-Luna, C., Lacher, T. E., León-Paniagua, L. (2008): Hair-Trap Efficacy for Detecting Mammalian Carnivores in the Tropics. *Journal of Wildlife Management* 72(6): 1405-1412.
- Cieslak M., & Dul, B. (2006): Feathers: Identification for Bird Conservation. Natura Publishing House. Varsó. 317 pp.
- Csányi, S., Tóth, K., Kovács, I. és Schally. G. (szerk.) 2014. Vadgazdálkodási Adattár - 2013/2014. vadászati év. Országos Vadgazdálkodási Adattár, Gödöllő, 48pp
- Chapron G., Kaczensky, P., Linnel, D., C., J. et al. (2014): Recovery of large carnivores in Europe's modern human-dominated landscapes. *Science* 346(6216): 1517-1519.
- Childress, M. J., Lung, M. A. (2003): Predation risk, gender and the group size effect: does elk vigilance depend upon the behaviour of conspecifics? *Animal Behaviour* 66(2): 389-398.
- Comazzi, C., Mattiello, S., Friard, O., Filacorda, S., Gamba, M. (2016): Acoustic monitoring of golden jackals in Europe: setting the frame for future analyses. *Bioacoustics* 25: 267-278.
- Comer, C. E., Symmank, M. E., Kroll, J. C. (2011): Bobcats Exhibit Low Detection Rates at Hair Collection Stations in East Texas. *Wildlife Biology in Practice* 7(1): 116-122.
- Crooks, K. R., Soulé, M. E. (1999): Mesopredator release and avifaunal extinctions in a fragmented system. *Nature* 400: 563-566.
- Davoli, F., Schmidt, K., Kowalczyk, R., Randi, E. (2013): Hair snaring and molecular genetic identification for reconstructing the spatial structure of Eurasian lynx populations. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* 78(2): 118-126.
- Day, M. G. (1966): Identification of hair and feather remains in the gut and faeces of stoats and weasels. *Journal of Zoology* 148(2): 201-217.
- Debrot, S. (1982): Atlas Des Poils de Mammifères d'Europe. Université de Neuchâtel. Neuchâtel. 208 pp.
- Deinet, S., Ieronymidou, C., McRae, L., Burfield, I. J., Foppen, R. P., Collen, B., Böhm, M. (2003): Wildlife Comeback in Europe. Final report to Rewilding Europe by ZSL. BirdLife International and the European Bird Census Council. London. UK: ZSL. 307 pp.
- De Marinis, A. M., Asprea, A. (2006): Hair identification key of wild and domestic ungulates from southern Europe. *Wildlife Biology* 12: 305-320.
- DePue, J. E., Ben-David, M. (2007): Hair Sampling Techniques for River Otters. *Journal of Wildlife Management* 71(2): 671-674.
- Díaz-Ferguson, E. (2014): Development of molecular markers for eDNA detection of the invasive African jewelfish (*Hemichromis letourneuxi*): a new tool for monitoring aquatic invasive species in National Wildlife Refuges. *Management of Biological Invasions* 5(2): 121-131.

- Downey, P. J. (2005): Hair-snare survey to assess distribution of Margay (*Leopardus wiedii*) inhabiting El Cielo Biosphere Reserve, Tamaulipas, Mexico. Master Thesis. Oklahoma State University. 40 pp.
- Eisenberg, C. (2014): *The Carnivore Way*. Island Press. Washington D. C. 328 pp.
- Egyed, B. (2007): Mitokondriális DNS és mikroszatellita polimorfizmusok igazságügyi genetikai aspektusú vizsgálata a magyar népességben. ELTE TTK Biológia Doktori Iskola. 133 pp.
- Ekanayake, K. B., Whisson, D. A., Tan, L. X. L., Weston, M. A. (2015): Intense predation of non-colonial, ground-nesting bird eggs by corvid and mammalian predators. *Wildlife Research* 42(6): 518-528.
- Estes, J. A., Palmisano, J. F. (1974): Sea Otters: Their Role in Structuring Nearshore Communities. *Science* 185(4156): 1058-1060.
- Fernandez, A., Soriguer, R., Castien, E., Carro, F. (2008): Reproduction parameters of the Iberian hare *Lepus granatensis* at the edge of its range. *Wildlife Biology* 14(4): 434-443.
- Fisher, J. T., Vegreville, A. (2004): Alberta Wolverine Experimental Monitoring Project 2003-2004 Annual Report. Alberta Research Council, Vegreville, Alberta. 34 pp.
- Flesch, P. (1968): The Epidermal Iron Pigments of Red Species. *The Journal Of Investigative Dermatology* 51(5): 337-343.
- Foran, D., Minta, S., Heinemeyer, K. S. (1997): DNA-Based Analysis of Hair to Identify Species and Individuals for Population Research and Monitoring. *Wildlife Society Bulletin* 25(4): 840-847.
- Foster-Smith, J., Evans, S. M. (2003): The value of marine ecological data collected by volunteers. *Biological Conservation* 113(2): 199-213.
- Frosch, C., Dutsov, A., Zlatanova, D., Valchev, K., Reiners, T. E., Steyer, K., Pfenninger, M., Nowak, C. (2014): Noninvasive genetic assessment of brown bear population structure in Bulgarian mountain regions. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* 79(4): 268-276.
- Fryxell, J. M., Sinclair, A. R. E., Caughley, G. (2014): *Wildlife Ecology, Conservation and Management*. Wiley Blackwell. Chichester. 509 pp.
- Gales, N. J., Bowen, W. D., Johnston, D. W., Kovacs, K. M., Litnan, C. L., Perrin, W. F., Reynolds, J. E., Thompson, P. M. (2009): Guidelines for the treatment of marine mammals in field research. *Marine Mammal Science* 25(3): 725-736.
- García-Alaníz, N., Naranjo, E. J., Mallory, F. F., others (2010): Hair-snares: A non-invasive method for monitoring felid populations in the Selva Lacandona, Mexico. *Tropical Conservation Science* 3(4): 403-411.
- Godinho, R., Llana, L., Blanco, J. C., Lopes, S., Álvares, F., Garcí A, E. J., Palacios, V., Cortés, Y., Tategón, J., Ferrand, N. (2011): Genetic evidence for multiple events of hybridization between wolves and domestic dogs in the Iberian Peninsula: Hybridization between Iberian Wolves and Dogs. *Molecular Ecology* 20(24): 5154-5166.
- Haarberg, O. (2007): Amit a Hódról Tudni érdemes - Visszatelepítés, Védelem és állományszabályozás. WWF Füzetek 26. WWF Magyarország. Budapest. 30 pp.
- Hanke, P. U., Dickman, C. R. (2013): Sniffing out the stakes: hair-snares for wild cats in arid environments. *Wildlife Research* 40(1): 45-51.
- Hausknecht, R. M. (2010): *Molekulare Genetik im Artenschutz von Großraubtieren - Eine Fallstudie am Wolf*. Technische Universität München. München. 46 pp.
- Hausman, L. A. (1920): Structural characteristics of the hair of mammals. *The American Naturalist* 54(635): 496-523.
- Hedmark, E., Flagstad, Ø., Segerström, P., Persson, J., Landa, A., Ellegren, H. (2004): DNA-based individual and sex identification from wolverine (*Gulo gulo*) faeces and urine. *Conservation Genetics* 5(3): 405-410.
- Heinemeyer, K. S., Ulizio, T. J., Harrison, R. L. (2008): Natural Sign: Tracks and Scats. In: In: Long, A., R., MacKay, P., Zielinsky, J., W. & Ray, C., J. (szerk.): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*. Island Press. Washington. 45-74. pp.

- Heltai M. (2002): Emlős ragadozók magyarországi helyzete és elterjedése. Doktori értekezés. Szent István Egyetem. Gödöllő. 178 pp.
- Heltai, M., Biró, Z., Szemethy, L. (2006): The changes of distribution and population density of wildcats *Felis silvestris* Schreber, 1775 in Hungary between 1987-2001. *Nature Conservation* 62: 37-42.
- Heltai, M. (szerk.)(2010): Emlős ragadozók Magyarországon. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 240 pp.
- Heltai, M., Lanszki, J. (2013): A ragadozófajok lehetséges szerepei és hatásai. *Nimród* 101(10): 14-16.
- Hernández, L., Laundré, J. W. (2005): Foraging in the “landscape of fear” and its implicaton for habitat use and diet quality of elk *Cervus elaphus* and bison *Bison bison*. *Wildlife Biology* 11: 215-220.
- Heurich, M., Müller, J., Burg, M. (2012): Comparison of the effectivity of different snare types for collecting and retaining hair from Eurasian Lynx (*Lynx lynx*). *European Journal of Wildlife Research* 58(3): 579-587.
- Heszky, L. & Galli, Zs. (2008): A genetika alapjai. Egyetemi jegyzet. Szent István Egyetem. 254 pp.
- Hoberecht, L. K., Vos, D. J., Van Blaricom, G. R. (2006): A Remote Biopsy System Used to Sample Steller Sea Lion (*Eumetopias jubatus*) Blubber. *Marine Mammal Science* 22(3): 683-689.
- Horváth Gy. (2007): Házi patkány, In: Bihari Z., Csorba G. & Heltai M.: Magyarország emlőseinek atlasza, Kossuth kiadó, Budapest pp. 199-200
- Hu, Y., Wu, X. (2008): Eggshell membranes as a noninvasive sampling for molecular studies of Chinese alligators (*Alligator sinensis*). *African Journal of Biotechnology* 7(17): 3022-3025.
- Imaizumi, K., Akutsu, T., Miyasaka, S., Yoshino, M. (2007): Development of species identification tests targeting the 16S ribosomal RNA coding region in mitochondrial DNA. *International Journal of Legal Medicine* 121(3): 184-191.
- Immel, D., Anthony, R. (2006): Estimation of Black Bear Abundance Using a Discrete DNA Sampling Device. *The Journal of Wildlife Management* 72(1): 324-330.
- Johnson, C. J., Hodder, D. P., Crowley, S. (2013): Assessing noninvasive hair and fecal sampling for monitoring the distribution and abundance of river otter. *Ecological Research* 28(5): 881–892.
- Joppa L. N., B. O’Connor, P. Visconti, C. Smith, J. Geldmann, M. Hofmann, J. E. M. Watson, S. H. M. Butchart, M. Virah-Sawmy, B. S. Halpern, S. E. Ahmed, A. Balmford, W. J. Sutherland, M. Harfoot, C. Hilton-Taylor, W. Foden, E. Di Minin, S. Pagad, P. Genovesi, J. Hutton, N. D. Burgess (2016): Filling in biodiversity threat gaps. *Science* 6284: 415-416.
- Karamanlidis, A. A., Drosopoulou, E., de Gabriel Hernando, M., Georgiadis, L., Krambokoukis, L., Pllaha, S., Zedrosser, A., Scouras, Z. (2010): Noninvasive genetic studies of brown bears using power poles. *European journal of wildlife research* 56(5): 693-702.
- Katona K. & Altbäcker V. (2007): Üregi nyúl. In: Magyarország emlőseinket atlasza. In: Bihari Z., Csorba G. & Heltai M.: Magyarország emlőseinek atlasza, Kossuth kiadó, Budapest pp. 167-168.
- Kays, R. W., Slauson, K. M. (2008): Remote Cameras. In: Long, A., R., MacKay, P., Zielinsky, J., W. & Ray, C., J. (szerk.): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*. Island Press. Washington. 110-140 pp.
- Kendall, K. C., McKelvey, K. S. (2008): Hair collection. In: Long, A., R., MacKay, P., Zielinsky, J., W. & Ray, C., J. (szerk.): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*. Island Press, Washington, p. 385.
- Kendall, K. C., Stetz, J. B., Boulanger, J., Macleod, A. C., Paetkau, D., White, G. C. (2009): Demography and Genetic Structure of a Recovering Grizzly Bear Population. *Journal of Wildlife Management* 73(1): 3-17.

- Kennedy, A. (1982): Distinguishing characteristics of the hairs of wild and domestic canids from Alberta. *Canadian Journal of Zoology* 60: 536-541.
- Kéry, M., Gardner, B., Stoeckle, T., Weber, D., Royle, J. A. (2010): Use of Spatial Capture-Recapture Modeling and DNA Data to Estimate Densities of Elusive Animals: Spatially Explicit Density Estimation. *Conservation Biology* 25(2): 356-364.
- Kleven, O., Hallström, B. M., Hailer, F., Janke, A., Hagen, S. B., Kopatz, A., Eiken, H. G. (2012): Identification and evaluation of novel di- and tetranucleotide microsatellite markers from the brown bear (*Ursus arctos*). *Conservation Genetics Resources* 4(3): 737-741.
- Kowalczyk, R., Jędrzejewska, B., Zalewsky, A., Jędrzejewski, W. (2008): Facilitative Interaction between the Eurasian badger (*Meles meles*), the red fox (*Vulpes vulpes*) and the invasive Raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) in Białowieża Primeval Forest, Poland. *Canadian Journal of Zoology* 86: 1389-1396.
- Krützen, M., Barre, L. M., Möller, L. M., Heithaus, M. R., Simms, C., Sherwin, W. B. (2002): A biopsy system for small cetaceans: Darting success and wound healing in *Tursiops* spp. *Marine Mammal Science* 18(4): 863-878.
- Lacoursière-Roussel, A., Côté, G., Leclerc, V., Bernatchez, L. (2015): Quantifying relative fish abundance with eDNA: a promising tool for fisheries management. *Journal of Applied Ecology* 53(4): 1148-1157.
- Láng L. D. (2016): A gyöngyösi Sár-hegy SAC Natura 2000 terület emlősfaunájának felmérése a madárfészkek-analízis módszerével. Szakdolgozat. Szent István Egyetem, Vadvilág Megőrzési Intézet. Gödöllő. 46 pp.
- Lanszki, J. (2007): Automata képkészítés lehetőségei emlőstani vizsgálatokban. *Somogyi Múzeumok Közleményei: Természettudomány* 17: 207-214.
- Lanszki J. (2008): A vidra elterjedése és az előfordulását befolyásoló tényezők vizsgálata a Kapos-folyó vízgyűjtőjén, Budapest, *Természetvédelmi Közlemények* 14: 61-75
- Lanszki J. & Heltai M. (2007a): Hermelin, In: Bihari Z., Csorba G. & Heltai M.: Magyarország emlőseinek atlasza, Kossuth kiadó, Budapest pp. 228-229
- Lanszki, J., Heltai, M. (2007b): Diet of the European polecat and the steppe polecat in Hungary. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* 72(1): 49-53.
- Lanszki, J., Bauer-Haáz, É. A., Széles, G. L., Heltai, M. (2015): Diet and Feeding Habits of the Eurasian Otter (*Lutra lutra*): Experiences from *Post mortem* Analysis. *Mammal Study* 40(1): 1-11.
- Lanszki, J., Hidas, A., Szentes, K., Révay, T., Lehoczky, I., Weiss, S. (2008): Relative spraint density and genetic structure of otter (*Lutra lutra*) along the Drava River in Hungary. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* 73(1): 40-47.
- Lefort M., Boyer, S., Barun, A., Emami, K., A., Ridden J., Smith, R., V., Sprague, R., Waterhouse R., B. & Cruickshank, R., H. (2016): Blood, sweat and tears: non-invasive vs. non-disruptive DNA sampling for experimental biology. <https://peerj.com/preprints/655v2/18>.
- Liebenberg, L. (1990): *The Art of Tracking: The Origin of Science*. David Philip Publishers.
- Lima, N., Rogers, T., Acevedo-Whitehouse, K., Brown, M. V. (2012): Temporal stability and species specificity in bacteria associated with the bottlenose dolphins respiratory system: Respiratory microbes in bottlenose dolphins. *Environmental Microbiology Reports* 4(1): 89-96.
- Llaneza, L., Ordiz, A., Palacios, V., Uzal, A. (2005): Monitoring Wolf Populations Using Howling Points Combined With Sign Survey Transects. *Wildlife Biology in Practice* 1(2): 108-117.
- Lobert, B., Lumsden, L., Brunner, H., Triggs, B. (2001): An assessment of the accuracy and reliability of hair identification of south-east Australian mammals. *Wildlife Research* 28(6): 637-641.

- Lobo, D., Godinho, R., Álvares, F., López-Bao, J. V., Rodríguez, A. (2015): A New Method for Noninvasive Genetic Sampling of Saliva in Ecological Research. *PLoS ONE* 10(10): e0139765.
- Long, R. A. MacKay, P., Zielinski, W.J., & Ray, J.C. (2008): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*. Island Press. Washington, DC. 385 pp.
- Long, R. A., Donovan, T. M., MacKay, P., Zielinski, W. J., Buzas, J. S. (2007): Comparing Scat Detection Dogs, Cameras, and Hair Snares for Surveying Carnivores. *Journal of Wildlife Management* 71(6): 2018-2025.
- Looi, M.-L., Zakaria, H., Osman, J., Jamal, R. (2012): Quantity and quality assessment of DNA extracted from saliva and blood. *Clinical laboratory* 58(3): 307.
- Macdonald, D. W., Loveridge, A. J. (2010): *Biology and Conservation of Wild Felids*. Oxford Biology. Oxford University Press. Oxford. 762 pp.
- MacKay, P., Zielinski, W. J., Long, R. A., Ray, J. C. (2008): *Noninvasive Research and Carnivore Conservation*. In: Long, A., R., MacKay, P., Zielinsky, J., W. & Ray, C., J. (szerk.): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*. Island Press. Washington. 1-7 pp.
- Magoun, A. J., Long, C. D., Schwartz, M. K., Pilgrim, K. L., Lowell, R. E., Valkenburg, P. (2011): Integrating motion-detection cameras and hair snags for wolverine identification. *The Journal of Wildlife Management* 75(3): 731-739.
- Markov, G., Lanszki, J. (2012): Diet composition of the golden jackal, *Canis aureus* in an agricultural environment. *Folia Zoologica* 61(1): 44-48.
- Márton, M., Patkó, L., Szemethy, L., Gubányi, A., Heltai, M. (2014): Recent Experience of Bioregio Carpathians project: IUCN categorization of species species occurring in the Carpathian region of Hungary. *Review on Agriculture and Rural Development* 3(1): 43-48.
- Matthew, B. T. (2012): *A Comparison of Noninvasive Survey Methods for Monitoring Mesocarnivore Populations in Kentucky*. Master Thesis. University of Kentucky. Kentucky. 140 pp.
- McDaniel, G. W., McKelvey, K. S., Squires, J. R., Ruggiero, L. F. (2000): Efficacy of lures and hair snares to detect lynx. *Wildlife Society Bulletin* 28(1): 119-123.
- McDonald, M. A., Fox, C. G. (1999): Passive acoustic methods applied to fin whale population density estimation. *The Journal of the Acoustical Society of America* 105(5): 2643-2651.
- McDonald, P. G., Griffith, S. C. (2011): To pluck or not to pluck: the hidden ethical and scientific costs of relying on feathers as a primary source of DNA. *Journal of Avian Biology* 42(3): 197-203.
- McElwee, K. J., Sinclair, R. (2008): Hair physiology and its disorders. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 5(2): 163-171.
- Meek P., Fleming, P., Ballard, G., Banks, P., Claridge, A., Sanderson, J. & Swann D. (2014): *Cara Trapping*. CSIRO Publishing. Clayton. 392 pp.
- Melton, T., Holland, C. (2007): Routine Forensic Use of the Mitochondrial 12S Ribosomal RNA Gene for Species Identification. *Journal of Forensic Sciences* 52(6): 1305-1307.
- Monterroso, P., Castro, D., Silva, T. L., Ferreras, P., Godinho, R., Alves, P. C. (2013): Factors affecting the (in)accuracy of mammalian mesocarnivore scat identification in South-western Europe: Accuracy of carnivore scat identification. *Journal of Zoology* 289(4): 243-250.
- Mowat, G., Paetkau, D. (2002): Estimating marten *Martes americana* population size using hair capture and genetic tagging. *Wildlife Biology* 8: 201-209.
- Mullins, J., Statham, M. J., Roche, T., Turner, P. D., O'Reilly, C. (2010): Remotely plucked hair genotyping: a reliable and non-invasive method for censusing pine marten (*Martes martes*, L. 1758) populations. *European Journal of Wildlife Research* 56(3): 443-453.
- Murakami, T., Uruguchi, K., Abe, G. (2016): Individual Identification of Mesocarnivores Using Photos of Noseprint Patterns. *Mammal Study* 41(1): 9-15.

- Murphy, M. A., Kendall, K. C., Robinson, A., Waits, L. P. (2007): The impact of time and field conditions on brown bear (*Ursus arctos*) faecal DNA amplification. *Conservation Genetics* 8(5): 1219-1224.
- Nichols, R. V., KöNigsson, H., Danell, K., Spong, G. (2012): Browsed twig environmental DNA: diagnostic PCR to identify ungulate species. *Molecular Ecology Resources* 12(6): 983-989.
- Novák, M. (1999): Genetikai variabilitás a növénynevelésben. Mezőgazda kiadó. Budapest. 142 pp.
- Olson, L. E., Sauder, J. D., Albrecht, N. M., Vinkey, R. S., Cushman, S. A., Schwartz, M. K. (2014): Modeling the effects of dispersal and patch size on predicted fisher (*Pekania* [Martes] pennanti) distribution in the U.S. Rocky Mountains. *Biological Conservation* 169: 89-98.
- Ondrušová, K., Adamík, P. (2013): Characterizing the mammalian hair present in Great Tit (*Parus major*) nests. *Bird Study* 60(3): 428-431.
- Oosthuizen, I. B. (2004): Bone marrow and kidney fat indices in male and female (gravid and non-gravid) springbok in the Northern Cape. *South African Journal of Animal Science* 34(6): 41-43.
- Passilongo, D., Mattioli, L., Bassi, E., Szabó, L., Apollonio, M. (2015): Visualizing sound: counting wolves by using a spectral view of the chorus howling. *Frontiers in Zoology* 12: 22
- Patkó, L. (2012): Hair Collection-Szörgyűjtés. Képesítő fordítás. Szent István Egyetem. 58 pp.
- Patkó, L., Ujhegyi, N., Heltai, M. (2014): A madárfészek-analízis alkalmazásának tesztelése városi élőhelyen. *Tájökológiai Lapok* 12(1): 197-205.
- Patkó, L., Szabó, L., Szemethy, L., Heltai, M. (2015): Sneaky felids, smelly scents: a small scale survey for attracting cats. *The Wild Felid Monitor* 8(1): 21-24.
- Patko, L., Ujhegyi, N., Szabo, L., Peter, F., Schally, G., Toth, M., Lanszki, J., Nagy, Z., Szemethy, L., Heltai, M. (2016a): Even a hair casts its shadow: review and testing of noninvasive hair collecting methods of carnivore species. *North-Western Journal of Zoology* 12(1): 130-140.
- Patkó, L., Ujhegyi, N., Heltai, M. (2016b): More Hair than Wit: A Review on Carnivore Related Hair Collecting Methods. *Acta Zoologica Bulgarica* 68(1): 5-13.
- Pauli, J. N., Hamilton, M. B., Crain, E. B., Buskirk, S. W. (2008): A Single-Sampling Hair Trap for Mesocarnivores. *The Journal of Wildlife Management* 72(7): 1650-1652.
- Pebsworth, P. A., Bardi, M., Huffman, M. A. (2012): Geophagy in chacma baboons: patterns of soil consumption by age class, sex, and reproductive state. *American Journal of Primatology* 74(1): 48-57.
- Pérez, T., Vázquez, F., Naves, J., Fernández, A., Corao, A., Albornoz, J., Domínguez, A. (2009): Non-invasive genetic study of the endangered Cantabrian brown bear (*Ursus arctos*). *Conservation Genetics* 10(2): 291-301.
- Phillott, A. D., Skerratt, L. F., McDonald, K. R., Lemckert, F. L., Hines, H. B., Clarke, J. M., Alford, R. A., Speare, R. (2007): Toe-clipping as an acceptable method of identifying individual anurans in mark recapture studies. *Herpetological Review* 38: 305-308.
- Pilliod, D. S., Goldberg, C. S., Arkle, R. S., Waits, L. P., Richardson, J. (2013): Estimating occupancy and abundance of stream amphibians using environmental DNA from filtered water samples. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 70(8): 1123-1130.
- Poole, K. G., Mowat, G., Fear, D. A. (2001): DNA-based population estimate for grizzly bears *Ursus arctos* in northeastern British Columbia, Canada. *Wildlife Biology* 7(2): 105-115.
- Portella, T. P., Bilski, D. R., Passos, F. C., Pie, M. R. (2013): Assessing the efficacy of hair snares as a method for noninvasive sampling of Neotropical felids. *Zoologia (Curitiba)* 30(1): 49-54.
- Quekett, J. (1844): Observations on the Structure of Bats' Hair. *Transactions of the Microscopical Society of London* 1(1): 58-62.

- Real, R., (1999): Tables of significant values of Jaccard's index of similarity. *Misc. Zool.*, 22(1): 29-40.
- Jones R., Cable, J., Bruford, M. W. (2008): An evaluation of non-invasive sampling for genetic analysis in northern European reptiles. *Herpetological Journal* 18: 32-39.
- Rigg, R., Skrbinšek, T., Linnell, J. (2014): A Pilot Study of Wolves in Slovakia Using Noninvasive Genetic Sampling. Final Report. Liptovský Hrádok. 38 pp.
- Ripple, W. J., Estes, J. A., Beschta, R. L., Wilmers, C. C., Ritchie, E. G., Hebblewhite, M., Berger, J., Elmhagen, B., Letnic, M., Nelson, M. P., Schmitz, O. J., Smith, D. W., Wallach, A. D., Wirsing, A. J. (2014): Status and Ecological Effects of the World's Largest Carnivores. *Science* 343(6167): 151-161.
- Rosenzweig, M. L. (1973): Exploitation in Three Trophic Levels. *American Naturalist* 107(954): 275-294.
- Rovang, S., Nielsen, S. E., Stenhouse, G. (2015): In the trap: detectability of fixed hair trap DNA methods in grizzly bear population monitoring. *Wildlife Biology* 21(2): 68-79.
- Rovie-Ryan, J. J., Zainuddin, Z. Z., Marni, W., Ahmad, A. H., Ambu, L. N., Payne, J. (2013): Blood meal analysis of tabanid fly after it biting the rare Sumatran rhinoceros. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3(2): 95-99.
- Röhlich, P. (2006): Szövevény. Semmelweis Kiadó és Multimédia Stúdió. Budapest. 532 pp.
- Ruell, E. W., Crooks, K. R. (2007): Evaluation of Noninvasive Genetic Sampling Methods for Felid and Canid Populations. *The Journal of Wildlife Management* 71(5): 1690-1694.
- Sahajpal, V., Goyal, S. P., Jayapal, R., Yoganand, K., Thakar, M. K. (2008): Hair characteristics of four Indian bear species. *Science & Justice* 48(1): 8-15.
- Sargeant, G. A., Johnson, D. H., Berg, W. E. (2003): Sampling designs for carnivore scent-station surveys. *The Journal of Wildlife Management* 67(2): 289-298
- Sawaya, M. A., Clevenger, A. P., Kalinowski, S. T. (2013): Demographic Connectivity for Ursid Populations at Wildlife Crossing Structures in Banff National Park: Wildlife Crossing Structures. *Conservation Biology* 27(4): 721-730.
- Sawaya, M. A., Ruth, T. K., Creel, S., Rotella, J. J., Stetz, J. B., Quigley, H. B., Kalinowski, S. T. (2011): Evaluation of noninvasive genetic sampling methods for cougars in Yellowstone National Park. *The Journal of Wildlife Management* 75(3): 612-622.
- Sawaya, M. A., Stetz, J. B., Clevenger, A. P., Gibeau, M. L., Kalinowski, S. T. (2012): Estimating Grizzly and Black Bear Population Abundance and Trend in Banff National Park Using Noninvasive Genetic Sampling. *PLoS ONE* 7(5): e34777.
- Scandura, M. (2005): Individual sexing and genotyping from blood spots on the snow: A reliable source of DNA for non-invasive genetic surveys. *Conservation Genetics* 6(5): 871-874.
- Schmidt, K., Kowalczyk, R. (2006): Using scent-marking stations to collect hair samples to monitor Eurasian lynx populations. *Wildlife Society Bulletin* 34(2): 462-466.
- Schwartz, M., K. & Monfort, S., L. (2008): Genetic and Endocrine Tools for Carnivore Surveys. In: Long, A., R., MacKay, P., Zielinsky, J., W. & Ray, C., J. (szerk.): *Noninvasive Survey Methods for Carnivores*, Island Press, Washington DC, 45-74.
- Scriven, J. J., Woodall, L. C., Goulson, D. (2013): Nondestructive DNA sampling from bumblebee faeces. *Molecular Ecology Resources* 13(2): 225-229.
- Segelbacher, G. (2002): Noninvasive genetic analysis in birds: testing reliability of feather samples: Technical Note. *Molecular Ecology Notes* 2(3): 367-369.
- Smith, D., A., Ralls, K., Davenport, B., Adams, B. & Maldonado, J., E. (2001): *Canine Assistants for Conservationists*. *Science* 291: 435 pp.
- Silva, T. L., Godinho, R., Castro, D., Abáigar, T., Brito, J. C., Alves, P. C. (2015): Genetic identification of endangered North African ungulates using noninvasive sampling. *Molecular Ecology Resources* 15(3): 652-661.
- Simons, N. D., Lorenz, J. G., Sheeran, L. K., Li, J. H., Xia, D. P., Wagner, R. S. (2012): Noninvasive Saliva Collection for DNA Analyses From Free-Ranging Tibetan Macaques

- (*Macaca thibetana*): Saliva Collection from Tibetan Macaques. *American Journal of Primatology* 74(11): 1064-1070.
- Solberg, K. H., Bellemain, E., Drageset, O.-M., Taberlet, P., Swenson, J. E. (2006): An evaluation of field and non-invasive genetic methods to estimate brown bear (*Ursus arctos*) population size. *Biological Conservation* 128(2): 158-168.
- Spaulding, R., Krausman, P. R., Ballard, W. B. (2000): Observer bias and analysis of gray wolf diets from scats. *Wildlife Society Bulletin* 28(4): 947-950
- Stander, P., E. (1998): Spoor counts as indices of large carnivore populations: the relationship between spoor frequency, sampling effort and true density. *Journal of Applied Ecology* 35(3): 378-385.
- Stetz, J. B., Kendall, K. C., Servheen, C. (2010): Evaluation of Bear Rub Surveys to Monitor Grizzly Bear Population Trends. *Journal of Wildlife Management* 74(4): 860-870.
- Steyer, K., Simon, O., Kraus, R. H. S., Haase, P., Nowak, C. (2013): Hair trapping with valerian-treated lure sticks as a tool for genetic wildcat monitoring in low-density habitats. *European Journal of Wildlife Research* 59(1): 39-46.
- Swanson, B. J., Kelly, B. P., Maddox, C. K., Moran, J. R. (2006): Shed skin as a source of DNA for genotyping seals: Technical Note. *Molecular Ecology Notes* 6(4): 1006-1009.
- Szabó, L., Heltai, M., Szűcs, E., Lanszki, J., Lehoczki, R. (2009): Expansion range of the golden jackal in Hungary between 1997 and 2006. *Mammalia* 73(4): 307-311.
- Szemethy, L. (szerk.) (2004): *Hiúz (Lynx lynx)*. Fajmegőrzési TervKvVM Természetvédelmi Hivatal. Budapest. 18 pp.
- Szemethy, L., Biró, Zs. & Heltai, M. 2005. *Vadászati állattan és etológia. Emlősök. Egyetemi jegyzet. Szent István Egyetem. Gödöllő.* 103 pp.
- Taberlet, P., Waits, L. P., Luikart, G. (1999): Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *TREE* 14: 323-327.
- Taru, P., Backwell, L. R. (2014): Hair morphology of some artiodactyls from southern Africa. *Annals of the Ditsong National Museum of Natural History* 4(1): 26-32.
- Taupin, J. M. (2004): Forensic hair morphology comparison—a dying art or junk science? *Science & Justice* 44(2): 95-100.
- Teerink, B. J. (1991): *Hair of West-European Mammals*, Cambridge University Press, Cambridge, 224 pp.
- Terborgh, J. & Estes, J. A. (2010): *Trophic Cascades*. Island Press. Washington, D.C. 488 pp.
- Thomsen, R., Voigt, C. C. (2006): Non-invasive blood sampling from primates using laboratory-bred blood-sucking bugs (*Dipetalogaster maximus*; Reduviidae, Heteroptera). *Primates* 47(4): 397-400.
- Tobler, M. W., Carrillo-Percastegui, S. E., Leite Pitman, R., Mares, R., Powell, G. (2008): An evaluation of camera traps for inventorying large- and medium-sized terrestrial rainforest mammals. *Animal Conservation* 11(3): 169-178.
- Toland, J., Jones, W., Eldridge, J., Thorpe, E., Hudson, T., Thévignot, C., Pedro Silva, J., Bacchereti, S., Nottingham, S., Demeter, A., (2013): *LIFE and Human Coexistence with Large Carnivores*. Publications Office. Luxembourg. 73 pp.
- Tóth, M. (2002): Identification of Hungarian Mustelidae and other Small Carnivores using Guard Hair Analysis. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 48(3): 237-250.
- Tóth, M. (2003): *Az emlősök szőrmintáinak információtartalma, a szőrhatározás módszertana és a módszer gyakorlati alkalmazása. Doktori értekezés. Eötvös Loránd Tudományegyetem, Állattrendszertani és Ökológiai Tanszék. Budapest.* 141 pp.
- Tóth, M. (2008): A New Noninvasive Method for Detecting Mammals From Birds' Nests. *Journal of Wildlife Management* 72(5): 1237-1240.
- Tóth, M. & Heltai, M. (szerk) (2010): *Esettanulmányok*. In: Heltai M. (szerk): *Emlős ragadozók Magyarországon*. Mezőgazda kiadó. Budapest. 165-292. pp.
- Tóth, M. (2015): *A magyar emlősfauna szőrtani kézikönyve*. Magyar Természettudományi Múzeum. Budapest. 208 pp.

- Vila, C., Sundqvist, A.-K., Flagstad, O., Seddon, J., rnerfeldt, S. B., Kojola, I., Casulli, A., Sand, H., Wabakken, P., Ellegren, H. (2002): Rescue of a severely bottlenecked wolf (*Canis lupus*) population by a single immigrant. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270(1510): 91-97.
- Vili, N., Nemesházi, E., Kovács, S., Horváth, M., Kalmár, L., Szabó, K. (2013): Factors affecting DNA quality in feathers used for non-invasive sampling. *Journal of Ornithology* 154(2): 587-595.
- Wasser, S. K., Davenport, B., Ramage, E. R., Hunt, K. E., Parker, M., Clarke, C., Stenhouse, G. (2004): Scat detection dogs in wildlife research and management: application to grizzly and black bears in the Yellowhead Ecosystem, Alberta, Canada. *Canadian Journal of Zoology* 82(3): 475-492.
- Weaver, J. L., Wood, P., Paetkau, D., Laack, L. L. (2005): Use of scented hair snares to detect ocelots. *Wildlife Society Bulletin* 33(4): 1384-1391.
- Wegge, P., Pokheral, C. P., Jnawali, S. R. (2004): Effects of trapping effort and trap shyness on estimates of tiger abundance from camera trap studies. *Animal Conservation* 7(3): 251-256.
- Williams, B. W., Etter, D. R., Linden, D. W., Millenbah, K. F., Winterstein, S. R., Scribner, K. T. (2009): Noninvasive Hair Sampling and Genetic Tagging of Co-Distributed Fishers and American Martens. *Journal of Wildlife Management* 73(1): 26-34.
- Wilmers, C. C., Crabtree, R. L., Smith, D. W., Murphy, K. M., Getz, W. M. (2003): Trophic facilitation by introduced top predators: grey wolf subsidies to scavengers in Yellowstone National Park. *Journal of Animal Ecology* 72(6): 909-916.
- Woods, J., G., Paetkau, D., Lewis, D., McLellan, N. B., Proctor, M., Strobeck, C. (1999): Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. *Wildlife Society Bulletin* 27(3): 616-627.
- Xu, C. C. Y., Yen, I. J., Bowman, D., Turner, C. R. (2015): Spider Web DNA: A New Spin on Noninvasive Genetics of Predator and Prey. *PLoS ONE* 10(11): e0142503.
- Yasuda, M. (2004): Monitoring diversity and abundance of mammals with camera traps: a case study on mount Tsukuba, central Japan. *Mammal Study* 29: 37-46.
- Zagyvai, A. (2016): Mesterséges szőrgyűjtő eszközök tesztelése a Mátra SPA Natura 2000 területen. Szent István Egyetem, Vadvilág Megőrzési Intézet. Gödöllő. 58 pp.
- Zielinski, W. J. & Kucera, T. E. (1995): American marten, fisher, lynx, and wolverine: survey methods for their detection. United States Department of American, Agriculture Forest Service, Pacific Southwest Research Station. Albany, Kalifornia. 163 pp.
- Zielinski, W. J., Baldwin, J. A., Truex, R. L., Tucker, J. M., Flebbe, P. A. (2013): Estimating trend in occupancy for the southern Sierra fisher *Martes pennanti* population. *Journal of Fish and Wildlife Management* 4(1): 3-19.
- Zielinski, W. J., Schlexer, F. V., Pilgrim, K. L., Schwartz, M. K. (2006): The efficacy of wire and glue hair snares in identifying mesocarnivores. *Wildlife Society Bulletin* 34(4): 1152-1161.

Internetes hivatkozások

Google Scholar:

<https://scholar.google.hu/> (2017.06.10.)

KeepTracking2015:

<http://keepingtrack.org/> (2017.06.10.)

IUCN Red List:

<http://www.iucnredlist.org/#> (2017.06.10.)

GeneBank:

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch (2017.06.10.)

- http1: <http://www.anp.hu/hu/medve-jar-a-karszton> (2017.06.10.)
- http2: <http://www.origo.hu/tudomany/elovilag/20150423-vigyazat-medve-a-kapuk-elott-ismet-honos-fajja-valhat-az-europai-barnamedve.html> (2017.06.10.)
- http3: http://index.hu/tudomany/2014/10/17/allandosult_a_medve_jelenlete_nogradban/ (2017.06.10.)
- http4: http://mttmuzeum.blog.hu/2016/03/30/gabon_erdei_oroszlanja (2017.06.10.)
- http5: <https://www.youtube.com/watch?v=KVf1cOLnUJA> (2017.06.10.)
- http6: <https://www.youtube.com/watch?v=9JX6cqME6Hw> (2017.06.10.)
- http7: <https://www.youtube.com/watch?v=zT48AYW72HY> (2017.06.10.)
- http8: <https://www.youtube.com/watch?v=2KoLnIwoZKU> (2017.06.10.)
- http9: <http://bnpi.hu/hir/hodok-a-bukki-nemzeti-park-igazgatosag-teruleten-26.html> (2017.06.10.)
- http10: <https://www.youtube.com/watch?v=qpMU5NaSy0E> (2017.06.10.)
- http11: <https://www.facebook.com/N%C3%B3gr%C3%A1d-megyei-medve-figyel%C5%91590856367727544/> (2017.06.10.)

11.2. A terepi szőrccsapdák kihelyezéséhez és elkészítéséhez használt eszközök és anyagok.

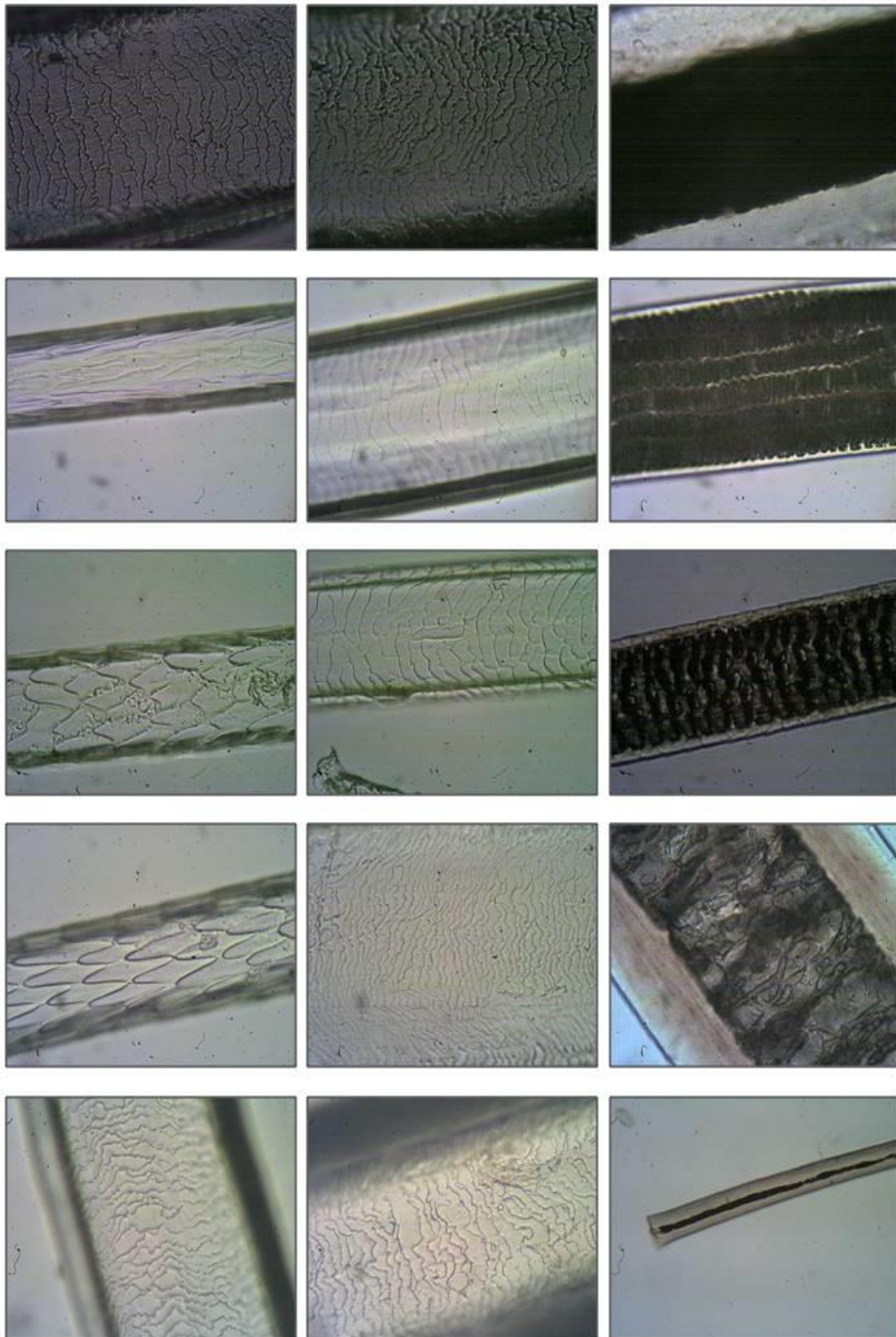
	<u>A-típus</u>		<u>B-típus</u>		<u>C-típus</u>		Megjegyzés
	Dörgölőzőpárna		Módosított ládacsapda		PVC csőcsapda		
	<i>Drótkefe</i>	<i>Drótkefe</i>	<i>Kétoldalú ragasztó</i>	<i>Drótkefe</i>	<i>Kétoldalú ragasztó</i>		
Drótkefe	1	1		2			Levágott nyéllel
Kétoldalú ragasztó			1		1		
Tépőzár csík	2						40x5 cm
Önmetsző facsar, kicsi	4						5x15 mm, tépőzár rögzítéshez
Önmetsző facsar, nagy	2			4			5x45 mm, drótkefe rögzítéshez
Polár/posztó darab	1						Attraktáns felvitatásához
Drótfonatos ládacsapda		1	1				
Műanyaglap			1		1		Ragasztószalag rögzítéséhez
Nyomórugó			1				Műanyaglap feszesen tartásához
Kötözőhuzal, vékony		1	1				Szőrgyűjtőfelületek rögzítéséhez
PVC cső				1	1		0,5 m; d=105, 125 mm
Szög, 130-as				1	1		Csali rögzítéséhez a csapdában, de stabilizáláshoz is jó
Csavarhúzó	1			1	1		
Attraktáns	1	1	1	1	1		
Csalifalat		1	1	1	1		

11.3. Mesterséges szőrgyűjtőeszközök ellenőrzése során használt jegyzőkönyv (példa).


Recski Hegyes-hegy (HUBN20044)


Felmérést végző(k):				
Dátum:				
Felmérés kezdete:				
Felmérés vége:				
Attraktáns:				
Csapaszám	Szőr (db)		Közvetett jelek	Megjegyzés
	Pehelyszőr (UH)	Fedőszőr (GH)		
R1				
R2				
R3				
R4				
R5				

11.4. Néhány példa a morfológiai referenciamunkákból összeállított gyűjteményből



Bal: kutikula alnyélen, közepén: kutikula felnyélen, jobb: medulla felnyélen). Fentről lefelé: borz, mezei nyúl, vándorpatkány, vidra és ember (400x és 100x nagyítás).

11.5. A mitokondriális DNS alapú vizsgálatok PCR protokolljai, primerei és multiplex reagensei

98°C	0:30	1×
98°C	0:10	
62,5°C	0:10	35×
72°C	2:00	
72°C	5:00	1×

Reagens	Koncentráció	Mennyiség 1 reakcióra
Templát DNS	15 µg/µl	4,0 µl
Forward primer	10 µM	0,5 µl
Reverse primer	10 µM	0,5 µl
Phusion HS puffer	5 x	5,0 µl
Phusion HS II. enzim	1 U/µl	0,2 µl
dNTP	2,5 µM	2,0 µl
Desztillált víz	-	12,8 µl
Végtérfogat		25,0 µl

283_F	ACTGGGATTAGATACCCCACTATG	univerzális 12SF
283_R	ATCGATTATAGAACAGGCTCCTC	univerzális 12SR
284_F	AATTGACCTTCCCCTGAAGAGG	macska 16S
284_R	CCTAGGGTAACTTGTTCCTTG	macska 16S

11.6. Különböző attraktánsok használata egyes ragadozó fajok esetén

	Hód- kastórium	Macska- menta	Száraz macska- menta	Hód- kastórium + macskamenta	Hód- kastórium + mesterséges macskamenta	Macska- gyökér	Kereskedelmi attraktáns	Kutyaféle feromon	Macska- vizelet	Hal- olaj	Hús- darab	Lekvár	Marhavér, rothadó hal, ánizs	Nincs csali vagy attraktáns	Irodalom
<i>Hiúz</i>					+										Schmidt & Kowalczyk 2006 Long et al. 2007 Ruell & Crooks 2007 Tóth 2008 Heaurich et al. 2012 Matthew 2012 Comer et al. 2011 Davoli et al. 2013
<i>Kistestű macskafélék</i>							+							+	Anile et al. 2012 Tóth 2008 Steyer et al. 2013 Kéry et al. 2010 Hanke & Dickman 2013
<i>Kutyafélék</i>	+							+							Matthew 2012 Ruell & Crooks 2007 Tóth 2008 Ausband et al. 2011 Patkó et al. 2014
<i>Medvék</i>														+	Pérez et al. 2009 Karamanlidis et al. 2010

	Hód- kasztorium	Macska- menta	Száraz macska- menta	Hód- kasztorium + macskamenta	Hód- kasztorium + mesterséges macskamenta	Macska- gyökér	Kereskedelmi attraktáns	Kutyaféle feromon	Macska- vizelet	Hal- olaj	Hús- darab	Lekvár	Marhavér, rothadó hal, ánizs	Nincs csali vagy attraktáns	Irodalom
													+		Stetz et al. 2010 Sawaya et al. 2012 Frosch et al. 2014
<i>Vidrák</i>							+							+	Depue & Ben- David 2007 Patkó et al. 2014
<i>Borz</i>														+	Tóth 2008 Balestrieri et al. 2010 Ondrušová & Adamík 2013
<i>Menyétfélék</i>			+				+					+		+	Long et al. 2007 Ondrušová & Adamík 2013 Zielinski et al. 2013 Pauli et al. 2008 Tóth 2008 Williams et al. 2009 Mullins et al. 2010
							+				+	+		+	

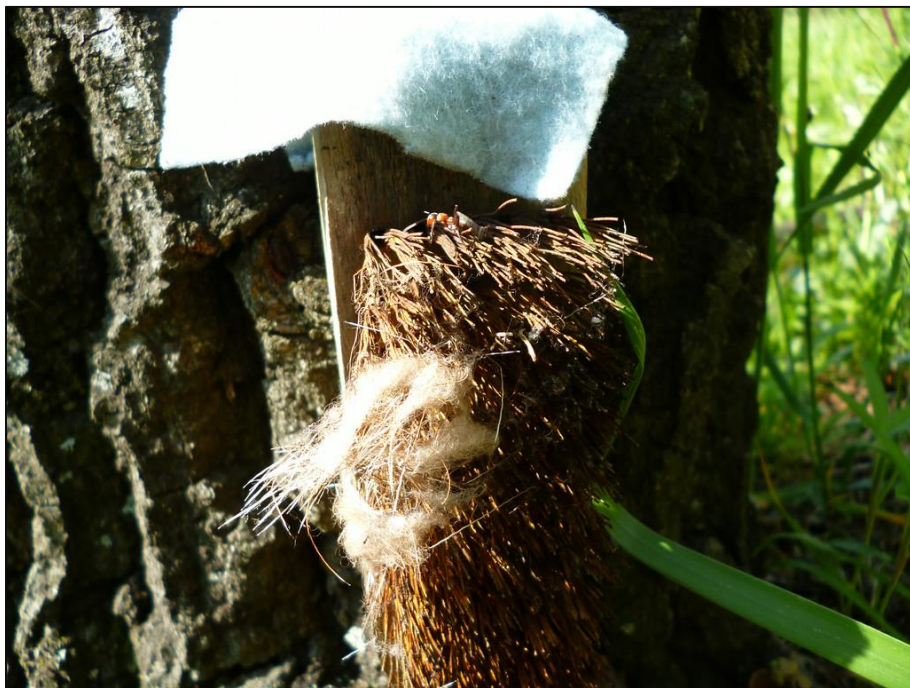
11.7. A morfológiai és genetikai szőrhatározás megbízhatósága

Lab ID	Mennyiség		DNS		Határozás				
	Hagyma (db)	Szórészál (db)	Koncentráció (µg/µl)	Minőség (A260/A280)	Morfológia alapján	12S rRNS alapján (BLAST)	Pont (Score)	16S rRNS alapján (BLAST)	Pont (Score)
1953	3	10	3,66	0,87	<i>Vulpes vulpes</i>	<i>Vulpes vulpes</i>	271	<i>Canis spp.</i>	423
1954	7	0	4,19	0,93	<i>Ovis orientalis</i>	<i>Lynx lynx</i>	259	B	
1955	16	0	58,81	2,04	<i>Sus scrofa</i>	<i>Sus scrofa</i>	269	<i>Sus scrofa</i>	452
1956	uk	10-15	5,51	1,15	ui	B		<i>Canis spp.</i>	443
1958	uk	9	1,61	7,75	<i>Mustela nivalis-</i> <i>Mustela erminea</i>	B		<i>Mustela nivalis</i>	412
1959	20	20	38,25	2,03	<i>Felis catus/Felis silvestris</i>	<i>Felis catus</i>	264	B	
1964	uk	8 ^{UH}	4,03	0,99	ui	<i>Martes foina</i>	242	<i>Martes foina</i>	414
1962	0	uk			<i>Vulpes vulpes</i>				
1977	0	2			<i>Martes foina/Martes martes</i>				
1975	17	0	10,25	1,75	<i>Lepus europaeus</i>	<i>Lepus spp.</i>	268	<i>Lepus europaeus</i>	417
1974	0	uk			<i>Felis catus/Felis silvestris</i>				
1976	uk	uk			<i>Felis catus/Felis silvestris</i>				
1966	3	10	3,64	3,73	<i>Felis catus/Felis silvestris</i>	B		B	
1979	17	0	9,33	1,34	<i>Mustela eversmannii</i>	<i>Mustela spp.</i>	273	<i>Mustela nigripes</i>	461
1980	0	uk			ui				
1981	1	19	2,91	1,10	<i>Mustela eversmannii</i>	<i>Mustela spp.</i>	266	<i>Mustela nigripes</i>	459
1982	0	uk			ui				
1983	11	0	10,34	1,36	ui	<i>Mustela spp.</i>	259	<i>Mustela nigripes</i>	464
1984	0	uk			ui				
1985	0	18	5,93	1,50	<i>Mustela putorius</i>	<i>Mustela spp.</i>	260	<i>Mustela nigripes</i>	466
1986	15	0	4,37	1,56	<i>Ursus arctos</i>	B		<i>Ursus arctos</i>	118
1987	13	0	5,71	1,15	<i>Canis lupus, C. aureus, C. familiaris</i>	<i>Canis spp.</i>	273	<i>Canis spp.</i>	475
4	A	A			ui	<i>Sus scrofa</i>	271	<i>Sus scrofa</i>	452
1146	A	A			<i>Cervus elaphus</i>	<i>Cervus elaphus</i>	275	<i>Cervus elaphus, Rusa spp.</i>	453

Lab ID	Mennyiség DNS				Határozás				
	Hagyma (db)	Szőrszál (db)	Koncentráció (µg/µl)	Minőség (A260/A280)	Morfológia alapján	12S rRNS alapján (BLAST)	Pont (Score)	16S rRNS alapján (BLAST)	Pont (Score)
1148	5	0	21,17	1,74	<i>Cervus elaphus</i>	<i>Cervus elaphus</i>	275	<i>Cervus elaphus, Rusa spp.</i>	453
1288	5	0	42,49	1,81	ui	<i>Sus scrofa</i>	271	<i>Sus scrofa</i>	452
1330	15	0	28,63	1,44	<i>Canis lupus</i>				
1332	12	0	22,54	2,03	ui	<i>Canis spp.</i>	273	<i>Canis spp.</i>	475
1335	uk	uk	12,3	3,54	<i>Lynx lynx</i>				
1335	12	0	19,07	2,27	<i>Lynx lynx</i>	<i>Felidae</i>	269	<i>Lynx lynx</i>	448
1336	12	0	8,42	2,51	<i>Felis catus/Felis silvestris</i>	<i>Felis catus</i>	273	<i>Felis spp.</i>	464
1341	15	0	8,71	1,15	<i>Felis catus</i>	<i>Felis catus</i>	275	<i>Felis catus</i>	423
1342	12	0	22,51	1,96	<i>Felis catus, F. silvestris, Lynx lynx</i>	<i>Felis catus</i>	273	<i>Felis catus</i>	426
1343	12	0	13,02	2,86	ui	<i>Canis spp.</i>	273	<i>Canis spp.</i>	475
1347	12	0	6,65	1,43	<i>Felis catus, F. silvestris, Lynx lynx</i>	<i>Felis catus</i>	232	<i>Felis catus</i>	441
1348	5	9	7,27	1,34	<i>Felis catus</i>	<i>Felis catus</i>	277	<i>Felis catus</i>	452

Jelmagyarázat: uk=ismeretlen, ui=azonosítatlan, uh=pehelyszőr, A=rossz minőségű DNS minta, B=kevert DNS minta, vastag kettősvonal felett: terepi minták, vastag kettősvonal alatt: ismert fajok mintái

11.8. Terepi mintagyűjtés a mátrai és kiskunsági mintaterületeken





Képek: Szabó László, Patkó László

12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A konzervációbiológia multidiszciplináris tudományterület. Ez a dolgozat sem jöhetett volna létre kollégáim, hallgatóim, barátaim és családom segítségével nélkül. Mindenek előtt szeretném köszönetemet kifejezni Heltai Miklós konzulensemnek, akivel idestova 6 éve dolgozunk már együtt. Hozzá mindig nyugodtan fordulhattam kérdéseimmel, ha szakmailag elbizonytalanodtam vagy lemorzsolódtam az egyetemi adminisztráció örlőmalmában. Megelőlegezett bizalma és pozitív hozzáállása nagyban hozzájárult a dolgozat létrejöttéhez. A Vadvilág Megőrzési Intézet összes többi kollégájának is köszönöm a segítségét, de közülük is ki szeretném emelni Szabó Lászlót, aki a vizsgálatok előkészületeiben és a terepmunkában is jelentős részt vállalt.

Hallgatóimnak, Láng László Dávidnak, Fehér Péternek, Zagyvai Annamáriának, Dombi Eszternek, Elekes Henriettának, Fülöp Zitának, Daria Bezgachevanak és Kovács Patriknak köszönöm, hogy mindig őszintén érdeklődtek az általuk választott tudományterület iránt és terep- vagy labormunkáimban lelkesen segítettek.

Köszönöm a külsős kollégák hozzájárulását is. Tóth Mária és Lanszki József építő kritikája miatt jöhetett létre több publikációm. A Budakeszi Vadaspark munkatársai (Szabó Péter, Szilágyi Zsolt) biztosították számomra a lehetőséget az előzetes vizsgálatok elvégzésére. Köszönöm Stéger Viktornak, Frank Krisztiánnak, valamint a teljes Mezőgazdasági Genomikai és Bioinformatikai Csoportnak (NAIK-MBK), hogy a nem invazívan gyűjtött szőrminták alapján történő faj- és egyedszintű azonosítás rögzös útján közösen indulhattunk el. Hasonló köszönet illeti Raquel Godinho és Carolina Pacheco (CIBIO) kutatókat, amiért bevezettek a nem invazív labor kialakításának és használatának protokolljában.

Köszönöm a családomnak és barátaimnak, amiért biztattak és hittek abban, hogy véghez tudom vinni, amit elkezdtem. Külön köszönet illeti Ujhegyi Nikolettet, aki magán- és szakmai életemben egyaránt támogatott az elmúlt 9 évben.

Az elmúlt években több pályázat is hozzájárult az egyes részkutatások létrejöttéhez. A pályázati ötletekért és megvalósításukban nyújtott segítségért Szemethy Lászlónak tartozom köszönettel. E források közül a legfontosabbak: „Fenntartható természetvédelem a magyarországi Natura 2000 területeken” (SH/4/8), Nemzeti Tehetség Program (NTP-EFÖ-P-15-0669-A) és Kutató Kari Kiválósági Támogatás (9878- 3/2015/FEKUT). Köszönöm a Kansas együttesnek a Carry On My Wayward Son c. nótát.

Külön köszönetet szeretnék mondani az Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskolának és az Egyetemi Doktori és Habilitációs Tanács titkárságának: Törökné Hajdú Mónikának, Kamenszki Anitának és Simáné Dolányi Editnek.