

Állatorvostudományi Egyetem  
Ökológia Tanszék

## Délkelet-ázsiai denevérek bioakusztikai vizsgálata

Készítette: Szabadi Kriszta Lilla

Témavezető: Dr. Görföl Tamás  
Magyar Természettudományi Múzeum

Belső konzulens: Dr. Kövér Szilvia  
Állatorvostudományi Egyetem Ökológiai Tanszék,  
Tudományos munkatárs

BUDAPEST, 2020

# Tartalom

Rövidítés jegyzék .....	2
1. Bevezetés.....	3
1.1. Délkelet-ázsiai denevérek ökológiai helyzete és természetvédelmi jelentősége ....	3
1.2. A denevérkutatás eszközei.....	5
1.2.1. Megfigyeléses és befogásos mintavétel.....	5
1.2.2. Akusztikus mintavétel .....	5
1.3. Denevérkutatás Vietnamban .....	9
2. Célkitűzések .....	10
3. Anyag és módszer .....	11
3.1. Terepi mintavétel .....	11
3.2. Hangelemzés .....	11
3.3. Laboratóriumi módszerek .....	12
4. Eredmények.....	13
4.1. A hangelemző program kiválasztása .....	13
4.2. Hangparaméterek .....	14
4.3. A vizsgált fajok hangjainak bemutatása .....	15
4.4. DNS barcode szekvenciák .....	22
5. Értékelés és következtetések .....	23
6. Összefoglalás.....	26
7. Abstract .....	27
8. Irodalomjegyzék.....	28
9. Köszönetnyilvánítás .....	31
10. Témavezetői ellenjegyzés.....	32
11. Belső konzulensi ellenjegyzés .....	33

## Rövidítés jegyzék

### Általános rövidítések:

- COI: citokróm C oxidáz I. alegység, mitokondriális gén
- IUCN: (International Union for Conservation of Nature) Természetvédelmi Világszövetség
- MTM: Magyar Természettudományi Múzeum

### Akusztikai vizsgálatok:

- BW: bandwidth - denevérhang átfogott frekvencia tartománya (legmagasabb és a legalacsonyabb frekvencia különbsége)
- cDFM: checked downward FM - a hang egy felfelé modulált komponenssel kezdődik majd egy lefelé irányuló szakaszba fordul át
- CF: constant frequency - hosszabb ideig egy frekvencián szóló hangszakasz
- CF-FM: egy hosszabb konstans frekvenciájú résszel kezdődő hang, mely végül egy FM résszel zárul
- D: duration - hangimpulzus hossza
- DCF: konstans frekvenciájú rész hossza
- EF: end frequency - denevérhang magasság a hangimpulzus végén
- FCF: a konstans szakasz frekvenciája
- FM: frequency modulated - időben rövid, széles frekvenciasávot átfogó szonogram típus
- FM-CF-FM: időben rövid, szélesebb frekvenciasávot átfogó résszel induló, majd egy hosszabb konstans frekvenciájú résszel folytatódó, végül egy újabb FM résszel záruló hangtípus
- F-QCF: frequency of quasi constant part - a QCF rész utolsó két milliszekundumában az  $F_{maxE}$  érték
- FM-QCF: frekvenciamodulált résszel kezdődő és egy rövid kvázi konstans résszel záruló hangtípus
- $F_{maxE}$ : frequency of maximum energy - a denevérhang legnagyobb energiájú frekvenciája
- HF: highest frequency - a legmagasabb frekvencia, amit a denevérhang elér
- IPI: inter-pulse interval - az egyik hang kezdetétől a követő hang kezdetéig eltelt idő
- LF: lowest frequency - a legalacsonyabb frekvencia, amit a denevérhang elér
- MF: middle frequency - a hang közepénél mérhető frekvencia érték
- SF: start frequency - a denevérhang kezdeti magassága
- QCF: quasi constant frequency - csak nagyon lassú frekvencia csökkenést mutató, időben hosszabb hangszakasz
- QCF-FM: kvázi konstans résszel kezdődő és FM résszel záruló hang

# 1. Bevezetés

## 1.1. Délkelet-ázsiai denevérek ökológiai helyzete és természetvédelmi jelentősége

Az emberek teljesen átalakították a globális ökoszisztémákat. Néhány faj ezt képes tolerálni, a túlnyomó többség esetében viszont drámai populációcsökkenést tapasztalhatunk (Myers és Knoll, 2001). A veszélyeztetett fajok védelme külön-külön nehezen vagy egyáltalán nem kivitelezhető, azonban alternatív módszert jelent az úgynevezett biodiverzitási forrópontok meghatározása és védelme. Ezek olyan területek, ahol nagy a fajgazdagság és kiemelkedően magas az endemikus fajok száma (Myers és mtsai., 2000). A délkelet-ázsiai esőerdő régió a 25 biodiverzitási forrópont egyike. A trópusi erdők a Föld legveszélyeztetettebb élőhelyei közé tartoznak (Myers és mtsai., 2000; Sodhi és mtsai., 2004; Furey és mtsai., 2010), pl. a szingapúri természetes erdők 95%-a eltűnt az utóbbi két évszázadban (Lane és mtsai., 2006). Becslések szerint az intenzív fakitermelés és gazdasági átalakítások miatt az erdőterületek háromnegyede elveszhet, a globális biodiverzitás pedig 42%-kal csökkenhet a század végéig (Sodhi és mtsai., 2004). Az esőerdők védelme kiemelkedően fontos, ugyanis a fajgazdagság és az endemizmusok száma itt a legmagasabb a világon (Furey és mtsai., 2009). A denevérek kritikus alkotóelemei ennek a sokféleségnek, mivel Délkelet-Ázsia emlősfajainak közel egyharmadát adják, Kingston (2010, 2013) kutatása szerint 2010-ig több mint 330 fajt írtak le a régióból (ami a világ akkor ismert denevérfajainak kb. egyharmada), melyből 197 endemikus. A trópusi fajok többségéhez hasonlóan a denevérek is súlyosan veszélyeztetettek. Az IUCN adatai alapján jelenleg csupán a denevérfajok 18%-a rendelkezik stabilnak tartott populációval (Kingston, 2013). Számítások szerint az évszázad végéig a denevérfajok mintegy 40%-a kipusztulhat, ha az erdőirtások üteme nem lassul (Lane és mtsai., 2006; Kingston, 2010). Számos denevérfaj esetében meghatározó az erdőterületek érintetlensége, ugyanis szárnymorfológiájukkal és echolokációs hangjaikkal a sűrű növényzetben való tájékozódáshoz és vadászathoz adaptálódtak, így az emberi beavatkozások miatt nyíltabbá vált területeken kevésbé sikeresek (Kingston és mtsai., 2003; Meijaard és mtsai., 2005). Különösen igaz ez a Hipposideridae, Rhinolophidae, Murinae és Kerivoulinae (al)családok fajaira (Lane és mtsai., 2006; Struebig és mtsai., 2008; Kingston, 2010). A trópusi denevérek kulcsfontosságú ökoszisztéma-szolgáltatásokat nyújtanak. Kiemelkedő szerepük van a növények beporzásában és magjainak terjesztésében (Fleming és mtsai., 2009; Lobova és mtsai., 2009; Kunz és mtsai., 2011). Több mint 500 olyan termék ismert, mely

„denevérfüggő” növényekből származik (Fleming és mtsai., 2009; Voigt és Kingston, 2016). A rovarevő denevérek fontos szerepet játszanak az ízeltlábúak állományának szabályozásában is, jelenlétükben mérhetően kevesebb peszticid felhasználása szükséges (Cleveland és mtsai., 2006; Boyles és mtsai., 2011; Kunz és mtsai., 2011). Ezen felül a nagy denevércolonizációk fontos guanó-forrást jelenthetnek a helyi embereknek (Kingston, 2010). A trópusi esőerdők és a denevérek védelme tehát ökológiai és gazdasági szempontból is nagy jelentőséggel bír (Furey és mtsai., 2009; Kingston, 2010), ezért a denevérpopulációk kutatása és nyomon követése rendkívül fontos. Ennek ellenére a denevérek jelenleg Délkelet-Ázsia legkevésbé ismert gerincesei közé tartoznak (Kingston, 2010).

A taxonómiai tanulmányok a XVIII. század közepén kezdődtek meg a térségben, kilenc faj leírásával. A XIX. században a fajleírások száma drámai növekedést mutatott, 1950-ig több mint 250 fajt írtak le a területről. 2010-re az ismert fajok száma 330 fölé emelkedett (Kingston, 2010, 2013). Az új fajok mellett számos kriptikus taxont is találtak (Bates és mtsai., 2004). A múzeumi gyűjtemények részletes átvizsgálása és a molekuláris technikák együttes alkalmazása szintén számos fajkomplex és faj kapcsolatát és rendszertani helyzetét tisztázta (Bates és mtsai., 2007; Voigt és Kingston, 2016; Görföl és mtsai., 2020). Ezek az eredmények felhívták a figyelmet a fajok nagyfokú morfológiai hasonlóságából következő terepi határozások pontatlanságára és a molekuláris módszerek alkalmazásának jelentőségére (Dubois, 2003; Mace, 2004; Voigt és Kingston, 2016). Ebből kifolyólag az utóbbi években széles körben alkalmaztak genetikai vizsgálatokat a régióban. A DNS „vonalkódolás” (barcoding) kezdeményezésnek köszönhetően pedig több mint 165 délkelet-ázsiai denevérfaj citokróm C oxidáz I. alegység génje (655 bázispáros standard régió) került fel nyilvános adatbázisba. Sok faj taxonómiai helyzete azonban továbbra is bizonytalan (Voigt és Kingston, 2016). A pontos fajhatározás alapvető jelentőségű a biodiverzitás értékelésében, az egyes fajokat fenyegető veszélyek felmérésében (pl. az IUCN vörös listája) és védelmi stratégiáik kialakításában (Struebig és mtsai., 2008). A vizsgálatokhoz tehát szükséges egy egységes, megbízható módszertan kidolgozása és folyamatos fejlesztése (Furey és mtsai., 2009).

## **1.2. A denevérkutatás eszközei**

### **1.2.1. Megfigyelés és befogásos mintavétel**

A mintavétel módja és módszere a szükséges adatok típusától függ, az alkalmazott módszer ugyanis meghatározza, milyen kérdésekre tudunk választ adni. A denevéreket közvetlen megfigyeléssel nehéz tanulmányozni éjszakai, rejtett életmódjuk miatt. Megfigyeléses tanulmányokat a denevérek nappali búvóhelyein végezhetünk, illetve sötétedéskor, mikor elhagyják azokat. Ilyenkor a kolóniák méretéről és az utódok számáról nyerhetünk információt (Barlow, 1999). Sok esetben azonban a denevérek befogása nélkülözhetetlen a kutatás szempontjából. A kézben tartott egyedek faját ugyanis pontosan meg lehet határozni, valamint képet kaphatunk az egyedek koráról, ivaráról és reprodukzív állapotáról, emellett az állatok parazitáltságáról is információt szerezhetünk (Barlow, 1999). Terepi mintavételek során, élő egyedek szárnymembránjából könnyen vehetünk kisméretű biopsziát, melyek alkalmasak taxonómiai és populációgenetikai vizsgálatokra (Voigt és Kingston, 2016). A hálók és húrcsapdák a denevérek befogására alkalmas, széles körben alkalmazott eszközök (Furey és mtsai., 2009). Ezek az eszközök – elsősorban a húrcsapdák – csak a talaj feletti néhány méteres magasságban alkalmasak denevérek befogására, így a mintában alulreprezentáltak szerepelnek a lombkorona szinten vagy a felett repülő denevérfajok (pl. *Taphozous*, *Chaerephon*, *Miniopterus* stb.). Ezen felül számos faj rendelkezik különösen érzékeny echolokációs rendszerrel, mely segítségével könnyen érzékelik és elkerülik ezeket az eszközöket (Furey és mtsai., 2009). Nappali szálláshelyeiken vagy kis nyílású menedék bejáratánál a denevérek kézi hálóval is befoghatók, azonban a denevérek kifejezetten érzékenyek a zavarásra, így az ilyen módszereket nagy körültekintéssel kell alkalmazni (Barlow, 1999; Furey és mtsai., 2009).

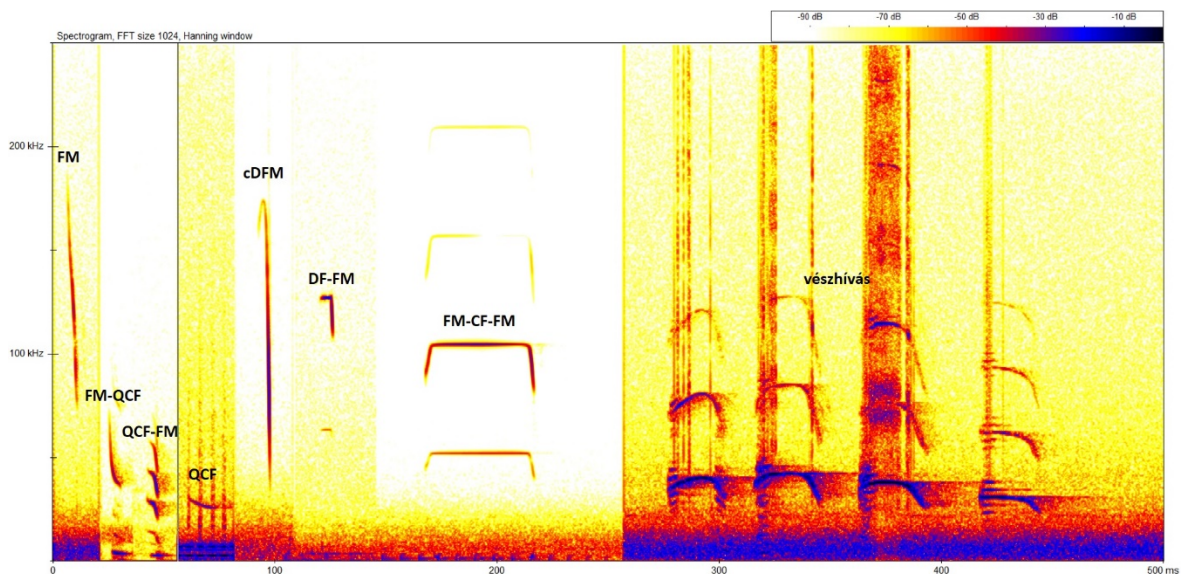
### **1.2.2. Akusztikus mintavétel**

A denevérek életében fontos szerepet töltenek be az akusztikus jelek. A repülőkuttyák (Pteropodidae család) kivételével az összes denevérfaj ultrahangok segítségével tájékozódik és vadászik a sötétben (Jones és Holderied, 2007). Az echolokációs impulzusok előállításánál mellett sok denevér úgynevezett szociális hangokat is közöl, kizárólag kommunikációs céllal (Pfalzer és Kusch, 2003, Russo és mtsai., 2009). A kommunikációs hangoknak egyaránt kell fajspecifikusnak és sokszínűnek lennie. Sokszínűnek, hogy minél többféle információ átadását tegye lehetővé. Denevérek esetében megkülönböztetnek pl.: agressziót kifejező

hangokat, párosodási hívásokat, figyelmeztető és vészhangokat, illetve elszigeteltséget jelző hangokat (Pfalzer és Kusch, 2003). A specificitás a faj- és kolóniatársak egyértelmű felismerését szolgálja, a párosodási hívások egyedi jellege segíti a fajtársak felismerését és csökkenti a más fajba tartozó egyedekhez való vonzódás kockázatát (Russo és mtsai., 2009). Az egyértelmű kommunikáció biztosítása érdekében a különféle funkciót betöltő kommunikációs hangok felépítése gyakran különbözik, az ilyen különbségek még a közel rokon taxonok esetében is megfigyelhetők (Russo és mtsai., 2009). A szociális hangok frekvenciája gyakran alacsonyabb, mint az echológiai hangoké, így biztosítva, hogy messzebbre terjedjenek és minél több egyedet érjenek el (Pfalzer és Kusch, 2003). Szociális hangokat a denevérek leginkább fajtársaik jelenlétében, szálláshelyeiken bocsátanak ki (így ritkán kerülnek rögzítésre), míg echológiai hangokat repülés közben folyamatosan generálnak (Pfalzer és Kusch, 2003). A denevérek echológiai hangjai család-, illetve faj-specifikusak és jellemzőek a fajok életmódjára. A denevérek echológiai hangjai adaptálódtak a környezethez és a zsákmányhoz, ugyanis elsődleges céljuk, hogy a különböző táplálkozási helyeken biztosítsák a megfelelő érzékenységet (Jones és mtsai., 2000; Parsons and Jones, 2000; Russo és Jones, 2002; Pfalzer és Kusch, 2003; Schnitzler és mtsai., 2003; Jones and Holderied, 2007).

A denevérdetektorok képesek rögzíteni a denevérek ultrahangjait és kommunikációs hangjait, ennek köszönhetően alternatív megoldást jelentenek a denevérek vizsgálatára. Az akusztikus adatgyűjtés előnye, hogy rövid idő alatt sok adat gyűjthető a denevérek zavarása nélkül (Flaquer és mtsai., 2007). Ezen felül a denevérdetektorok segítségével szimultán több helyen is mintázhatunk, valamint pont és transzekt mintavételre is alkalmasak. Detektorok segítségével kimutatható a denevérek jelenléte, megbecsülhető a populációk mérete és változásuk tendenciája, vizsgálható viselkedésük és élőhelypreferenciájuk (Russo és Voigt 2016). MacSwiney és mtsai. (2008) munkája szerint akusztikus és befogósos mintavétel együttes alkalmazásával 30%-kal több denevérfaj jelenléte mutatható ki, mintha csak befogósos módszerekre támaszkodnak. A bioakusztikus kutatások és a denevérhangok jellemzőinek leírása ebből kifolyólag nagy jelentőséggel bír (Russo és Jones, 2002, 2003; Hughes és mtsai., 2010). A detektorok által rögzített hangokat számítógépen hangelemző szoftverek (pl.: BatSound, Raven, Kaleidoscope) segítségével vizsgálhatjuk. A hangok szonogram formájában jeleníthetők meg és alak, hangmagasság, valamint a legerősebb frekvenciaérték alapján kategorizálhatjuk, határozhatjuk őket (Schnitzler és mtsai., 2003), (1. ábra). Minden denevérhang esetében mérendő paraméterek a kezdő és végfrekvencia, a legalacsonyabb és legmagasabb frekvencia és a legnagyobb energiájú frekvencia (Russo és

Jones 1999, Pfalzer és Kusch, 2003). Echológiai hangok esetében fontos lehet az impulzusok hossza és a köztük eltelt idő, míg szociális hangok vizsgálatánál a teljes hossz mérhető. A denevérek körében leggyakrabban előforduló echológiai hang típusok: FM, FM-QCF, QCF, FM-CF-FM, CF-FM és cDFM. Az FM hangok időben rövidek és általában széles frekvenciasávot fognak át. Ilyen hangot adnak ki például az egérfülű denevérek (*Myotis* spp.). A széles frekvenciasávot átfogó hangtípusok különösen alkalmasak a sűrű növényzetben való vadászathoz. Az FM-QCF hangok egy rövidebb frekvenciamodulált (FM) résszel kezdődnek, majd egy kvázi konstans frekvenciájú (QCF) résszel végződnek, ilyen hangokat használnak pl.: a *Nyctalus* és *Hypsugo* nemzetség fajai amelyek főleg erdőszegélyekben, felnyíló erdőterületeken táplálkoznak. A QCF típusú hangok egy kvázi konstans szakaszból állnak, ezt a hangtípust gyakran megfigyelhetjük a *Nyctalus* fajok esetében, ha nyitott területeken vadásznak. FM-CF-FM típusú hangokat bocsátanak ki a *Rhinolophus*-fajok, ezek a hangok rövid, frekvenciamodulált (FM) résszel kezdődnek, majd egy hosszú, konstans frekvenciájú (CF) résszel folytatódnak, végül egy újabb FM szakasszal zárulnak. Hasonló hangokat bocsátanak ki a Hipposideridae család tagjai is, de esetükben az első FM szakasz hiányzik, így az ő hangjaikat a CF-FM típusba soroljuk. Az ilyen CF részt tartalmazó hangok nagyon érzékenyek, alkalmasak a zárt élőhelyeken mozgó zsákmány észlelésére. A *Murina* és *Kerivoula* fajok hangjai a cDFM kategóriába tartoznak (Jones és Teeling, 2006; Barataud, 2015; Lin és mtsai., 2015; Dietz és Kiefer, 2016).



1. ábra Denevérhangok típusai: FM - *Phoniscus* sp., FM-QCF - *H. pulveratus*, QCF-FM - *T. melanopogon*, QCF- *M. joffrei*, cDFM - *M. annamitica*, FM-CF-FM - *R. pusillus*, vészhang - *R. pusillus*



Az akusztikus mintavételek azonban hátrányokkal is rendelkeznek. Sok esetben hang alapján a denevérek csak fajcsoport szinten határozhatók, ezen felül nem kapunk pontos információt az egyedek kondíciójáról, koráról és ivaráról. Széles körben leírták, hogy az echológiai hangok hasonlóak lehetnek akár nemzetségek között is, pl.: *Miniopterus* és *Pipistrellus* fajok (Russo és Jones, 2002; Jones és Holderied, 2007; Russo és Voigt, 2016; Rydell és mstai., 2017). A denevérhangokat így sok esetben csak fajpár vagy fajcsoport szintig lehet határozni. Egy faj hangjai nagy változatosságot mutatnak a földrajzi elhelyezkedés, élőhelyszerkezet, repülési magasság és egyéb környezeti hatások miatt (Jones, 2000; O’Farell és mtsai., 2000; Russo, 2002, Schnitzler és mtsai., 2003). Ezen felül egy fajon belül különbséget okozhat a testméret, az ivar és a kor eltérése (Barclay és mtsai., 1999, Sun és mtsai., 2013). Sun és mtsai. (2013) Kínában vizsgálták a *Rhinolophus ferrumequinum* echológiai hangjait és eredményeik azt mutatták, hogy az ivar és a mintázott populáció szignifikánsan befolyásolja az echológiai hangok magasságát. Az ország északi részén elhelyezkedő populációban használták a denevérek a legalacsonyabb frekvenciájú hangokat, míg az ország középső területein a legmagasabbat, a déli populáció egyedei a kettő közti átmenetet képviselték. A regionális bioakusztikus vizsgálatok és adatbázisok így kiemelkedő jelentőségűek. Számos denevérfaj eltérő echológiai hangokat alkalmaz, az élőhely szerkezetéhez vagy táplálkozás módjához igazítva. A *Nyctalus noctula* nyílt területeken alacsony frekvenciájú (16-20 kHz), FM-QCF típusú, míg zártabb részeken (sűrű fás, bokros) FM-esedő (QCF-rész rövidülése esetleges eltűnése miatt) magasabb frekvenciájú (22-32 kHz) hangokat használ (Pfalzer és Kusch, 2003; Van de Sijpe, 2011). Tehát az echológiai hangok alakja és frekvenciája fajon belül is flexibilitást mutat. A denevérek repülés közben módosítják hangjaikat a teljesítmény optimalizálása érdekében. Nyílt térben elegendő ritkábban, alacsonyabb frekvenciájú hangokat kibocsátani, amik messzebbre hatolnak, míg zárt élőhelyen vagy zsákmány közelében gyakrabban szükséges kiadniuk a hangokat a célpontok pontos lokalizálása érdekében (Russo és Jones 2002, Pfalzer és Kusch, 2003; Russo és mtsai., 2009). Russo és mtsai. (2001) *Rhinolophus euryale* és *R. mehelyi* echológiai hangjait hasonlította össze és azt találták, hogy a fiatal egyedek mindkét faj esetében alacsonyabb frekvenciájú hangokat adnak ki, mint az adult példányok.

A denevérdetektorok alkalmazása széles körben elterjedt a mérsékelt égövi területeken (Brigham és mtsai., 2004). Különösen hasznosak a lombkorona szint felett vagy nyitott területen vadászó denevérek észlelésére, melyek befogásos módszerrel csak ritkán észlelhetők (Furey és mtsai., 2009). Használhatók különböző területek denevér aktivitásának

összehasonlítására, ez által segítik a mintavételi helyek kiválasztását és kijelölhetőek azok a területek, melyek védelme kiemelkedően fontos a denevérek megóvása érdekében (Russo és Jones 2003). Számos fajpár esetében kimutatták, hogy bár morfológiailag nem lehet őket elkülöníteni, de a genetikai különbségek mellett akusztikus bélyegek is segítségünkre lehetnek a határozásukban, ezért a fajok echológiai hangjainak ismerete segíthet a délkelet-ázsiai denevér diverzitás pontosabb meghatározásában is (Russo és Jones, 2000; Kingston és mtsai., 2001, Hughes és mtsai 2010). A bioakusztikus kutatási programok azonban sok ázsiai országban csak nemrég kezdődtek meg (Furey és mtsai., 2009; Phauk és mtsai., 2013; Voigt és Kingston, 2016). Phauk és mtsai. (2013) tanulmánya az első, ami összetett módszerekkel vizsgálta Kambodzsa denevéreinek echológiai hangjait. A vizsgálat során 18 denevérfajt sikerült befogniuk. Minden hang esetében öt paramétert mértek. Eredményeik alapján arra következtettek, hogy az országon belüli FM-CF-FM és CF-FM denevérfajok akusztikus azonosítása megvalósítható a megfelelő hangparaméterek és denevérdetektor alkalmazásával. A vizsgálat során öt Rhinolophidae és Hipposideridae családba tartozó denevérfajt fogtak be, a vizsgált egyedek FmaxE értékei nem fedtek át a fajok között, így feltételezik, hogy ez a hangparaméter alkalmas lehet a fajok azonosítására. A többi befogott faj a Megadermatidae, Vespertilionidae és Miniopteridae családba tartozott és FM típusú hangokat bocsátott ki. Ezeknél a fajoknál az FmaxE és az impulzusok között eltelt idő mutatott olyan mértékű eltérést, ami alkalmas lehet határozásra. A vizsgálat során alkalmazott denevérdetektor típus a *Kerivoula hardwickii* magas hangjainak (itt FM típusú, akár 250 kHz is lehet) rögzítésére alkalmatlan volt, így az ő hangjaikat kizárták az elemzésből.

### **1.3. Denevérkutatás Vietnamban**

A karsztos ökoszisztémák Vietnamban (és a teljes délkelet-ázsiai régióban) fontos szerepet játszanak a biológiai sokféleség megőrzésében, azonban a gazdasági átalakítások és a nyersanyag kitermelések miatt jelentős degradációjuk figyelhető meg. A karszthegység Vietnam északi és középső részén terül el és az ország területének csaknem egyötödét (kb. 60 000 km<sup>2</sup>-t) teszi ki. Furey és mtsai. (2010) eredményei megerősítik, hogy a vietnami karszt természetes erdői kivételesen fontosak a biológiai sokféleség és a denevérek megőrzése szempontjából. Az erdőterületek táplálkozóhelyet, míg a hegység barlangja és sziklarepedései szálláshelyet biztosítanak a vietnami denevérfajok háromnegyede számára. A zavart, erősen leromlott erdők is számos denevérfajt (jellemzően a generalista fajokat) képesek fenntartani, de csak alacsony egyedszámban, azonban az további kutatást igényel,

hogy ezt hosszútávon is képesek-e fenntartani (Furey és mtsai. 2010). Az ország denevérfajainak pontos száma nem ismert, eddig 104 faj jelenlétét sikerült kimutatni az ország teljes területéről (Borissenko és Kruskop, 2003; Robinson és mtsai., 2003; Thong és mtsai., 2006; Csorba és mtsai., 2007; Furey és mtsai., 2009). Az utóbbi évtizedekben számos tudományra nézve új fajt írtak le (pl.: *Kerivoula titania*, *Murina tiensa*, *M. eleryi*, *M. beelzebub*, *M. cineracea*, *M. walstoni*, *M. annamitica*, *M. fionae* *Hipposideros griffini*) (Csorba és mtsai., 2007; Furey és mtsai., 2009, Csorba és mtsai., 2011; Francis és Eger, 2012; Thong és mtsai., 2012) és számos olyan faj előfordulását regisztrálták (pl.: *Rhinolophus yunanensis*, *M. formosus*, *M. altarium*), melyeket korábban nem ismerek Vietnam területéről (Furey és mtsai., 2010, Thong és mtsai., 2018). Az első bioakusztikus kutatási eredményeket 2009-ben publikálták Vietnam területéről, melyben öt denevércsalád tagjainak hangját vizsgálták. Furey és mtsai. 2009-es kutatásukban Petterson D980-as detektorral 31 denevérfaj hangjait rögzítette. Az echológiai hangokat struktúrájuk alapján két csoportba sorolták (CF és FM). A rögzített denevérhangokat BatSound szoftver (ver. 3.31 Petterson Elektronik AB) segítségével elemezték és minden hang esetében hat paramétert mértek le. Eredményeik alapján arra jutottak, hogy a megfelelő hangparaméterek használatával bizonyos denevérfajok határozása akusztikus bélyegek segítségével lehetséges (Furey és mtsai., 2009).

## 2. Célkitűzések

Kutatócsoportunk hosszútávú célja egy ingyenes, mindenki számára hozzáférhető, átfogó online hangadatbázis létrehozása, melybe első körben a Magyar Természettudományi Múzeum (MTM) szakemberei által gyűjtött délkelet-ázsiai denevérhangokat integráljuk, de később bárki más is hozzájárulhat adatokkal. Dolgozatom keretében a Vietnamban befogott denevérek hangjainak adatbázisba rendezése volt a cél.

Céljaim között szerepelt egy olyan egységes mérési módszertan kidolgozása a hangok jellemzésére, mely minden denevérhangtípusra alkalmazható és ingyenes programmal végezhető.

A kijelölt, az MTM taxonómusai által pontosan meghatározott referencia példányok barcoding szekvenciáját is meg kívántam határozni, hogy az esetlegesen mások által tévesen határozott és morfológiai vizsgálatra nem elérhető példányok is beazonosíthatóak legyenek a szekvenciák összehasonlítása alapján.

### **3. Anyag és módszer**

#### **3.1. Terepi mintavétel**

A terepmunka és a denevérek vizsgálata a Sikes és Gannon (2011) által lefektetett állatvédelmi elveknek megfelelően történt, a Vietnami Mezőgazdasági és Vidékfejlesztési Minisztérium engedélyével (Vietnam, Hanoi). A mintavételeket 2014-ben és 2016-ban végezték, 12 mintavételi helyen, négy vietnami tartomány területén: Cao Bang Province (4), Thanh Hoa Province (6), Yen Bai Province (1), Hoa Binh Province (1). A denevérek befogása függőhálók és húrscapdák segítségével történt. Terepen meghatározásra került a befogott egyedek faja (amennyiben lehetséges volt), ivara és életkora, valamint lemérték az egyedek alkarhosszát és tömegét. A mintavételek során 5 család (Emballonuridae, Hipposideridae, Miniopteridae, Rhinolophidae és Vespertilionidae) 42 fajt sikerült befogni.

Az egyedek hangjai repsátorban (3x5x15 m) való reptetés, illetve kézből való elengedés közben kerültek rögzítésre Pettersson D1000X denevérdetektor (Pettersson Elektronik AB, Uppsala, Svédország) segítségével, manuális módban, 500 kHz-es mintavételezési frekvenciával. A professzionális készülék használata lehetővé tette, hogy a legmagasabb frekvenciával rendelkező denevérfajok hangjait is elemezni tudjuk.

A szövetmintavétel a szabadon engedett egyedek szárnyának öregvitorla részéből 3 mm átmérőjű mintavevővel történt. A kimetszett bőrdarab helye kb. két hét alatt begyógyul, maga a folyamat pedig nem jár fájdalommal vagy fertőzésveszéllyel. A viszonylag kis számú, valamilyen szempontból érdekes (pl. terepen nem határozható) egyedek elaltatásra kerültek és belőlük máj vagy mellizom minta lett eltéve, melyekből nagyobb mennyiségű DNS nyerhető. A minták a Magyar Természettudományi Múzeum Molekuláris Taxonómiai Laboratóriumában kerültek elhelyezésre -80°C-on.

#### **3.2. Hangelemzés**

A dolgozat egyik célja a megfelelő hangelemző program kiválasztása volt. A rendelkezésre álló szoftverek tulajdonságainak összevetése után a Sonic Visualiser (v.3.2.1) programot választottuk a hangparaméterek megjelenítésére és a különböző paraméterek mérésére a következő beállításokkal történt: FFT size=512, overlap=96%, Hanning-window.

Az eredeti, több perc hosszúságú felvételekből kivágtunk tipikus impulzusokat tartalmazó rövid szakaszokat. Egy egyedtől három egymást követő impulzust mértünk le a kivágott szakaszokból. Saját tapasztalataink, illetve az irodalomban leggyakrabban

alkalmazott és a határozás során a fajok elkülönítéséhez leginkább alkalmazható paramétereket választottuk ki mérésre (Jones és mtsai., 2000; Russo és Jones, 2002; Papadatou, 2008; Barataud, 2015; Görföl és mtsai., 2020). A kiválasztott hangokon így hat paramétert mértünk le: a hang hosszát (D, ms); a hangimpulzusok között eltelt időt (IPI, ms); a kezdő frekvenciát (SF, kHz), a végfrekvenciát (EF, kHz), az átfogott frekvenciatartományt (BW, kHz), és a csúcsfrekvenciát (FmaxE, kHz). Az FM-CF-FM és a CF-FM fajok esetében lemérésre került a CF szakaszok frekvenciája (kHz) és hossza (ms) is.

### 3.3. Laboratóriumi módszerek

A szövetminták feldolgozása a Magyar Természettudományi Múzeum Molekuláris Taxonómiai Laboratóriumában történt. A mintákból QIAGEN DNeasy Blood és Tissue Kit (Qiagen) alkalmazásával vontuk ki a DNS-t, a gyártó javaslatait követve. A mitokondriális Citokróm c oxidáz I (COI) szakaszok felerősítéséhez a VF1d és a VR1d primereket használtuk Ivanova és mtsai. (2006, 2007) munkája alapján. A PCR reakciókat 25 µl-es végtérfogaton végeztük egy Techne Prime G (Staffordshire, UK) gépben, az 1. táblázatban látható program szerint. A reakcióelegy 12,5 µl DreamTaq Green PCR Master Mixet (Thermo Fisher Scientific), 9,5 µl steril Milli-Q vizet, 1 µl DNS templátot és 1-1 µl primert (10 mM) tartalmazott.

1. táblázat PCR program a COI szakasz felsokszorozására

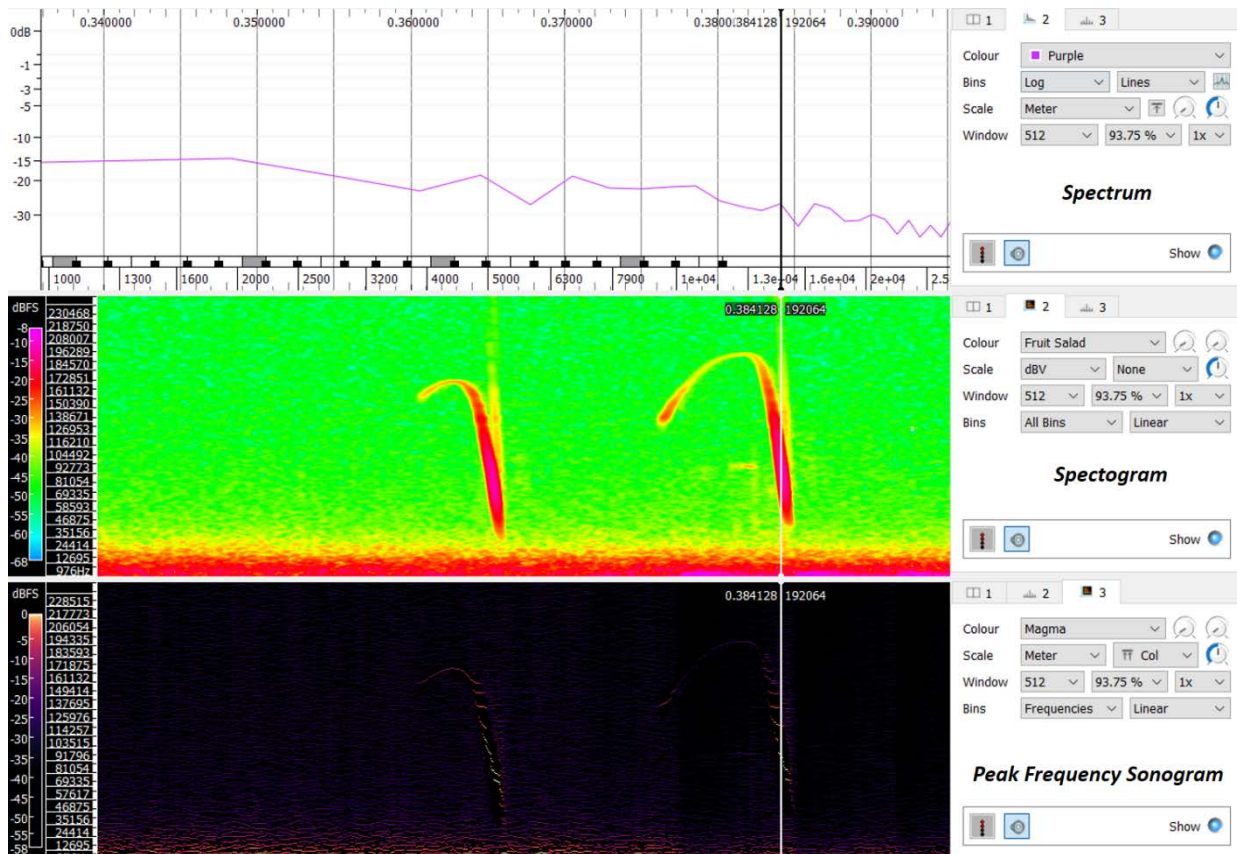
Szakasz	Beállítás	
kezdeti denaturáció	94°C 3 p	
denaturáció	94°C 45 mp	
primer tapadás	50°C 45 mp	5 ciklus
szintézis	72°C 90 mp	
denaturáció	94°C 45 mp	
primer tapadás	45°C 45 mp	35 ciklus
szintézis	72°C 90 mp	
végző szintézis	72°C 5 p	

Gélelektroforézissel (1%-os agaróz gélen) ellenőriztük a PCR termékek meglétét, majd elküldtük a Macrogen Europe B.V.-hez szekvenálni. A DNS kivonása és a PCR reakcióelegy összemérése, UV fényel sterilizált elszívófülkék alatt, steril eszközökkel, a legnagyobb körültekintés mellett történt.

## 4. Eredmények

### 4.1. A hangelemző program kiválasztása

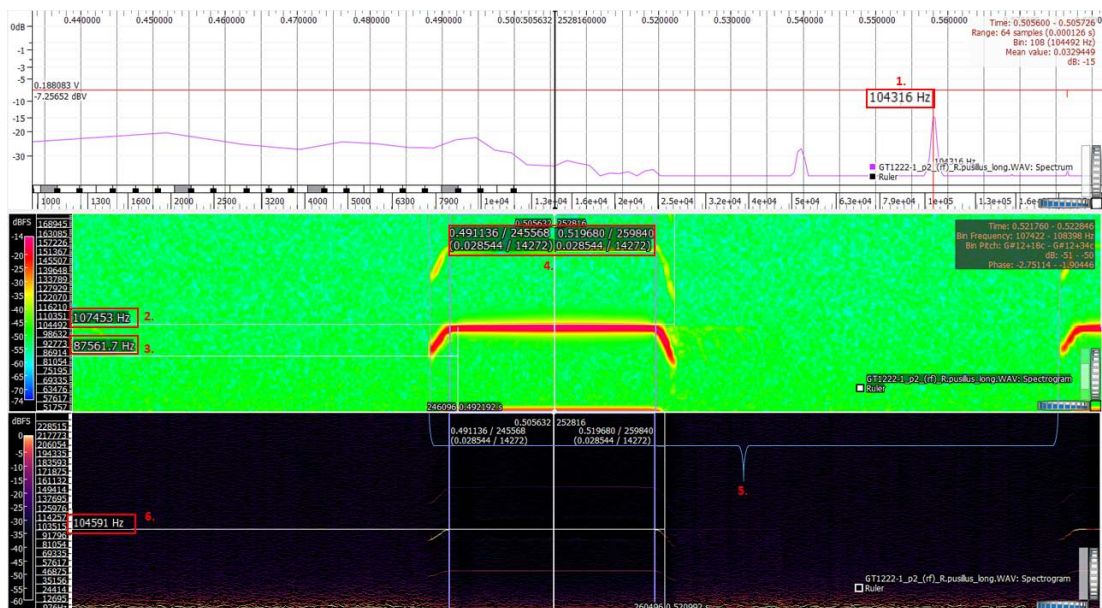
Egy olyan hangelemző program kiválasztása volt a célunk, mely könnyen kezelhető, a megjelenítés tiszta és részletgazdag. Végső körben öt programot teszteltünk: Adobe Audition 3.0, BatSound 4.2, Raven Pro 1.5, Raven Lite 2.0, valamint Sonic Visualiser 3.21. Az Adobe Auditiont eddigi kutatásaink során gyakran alkalmaztuk, ugyanis adatelemzésnél kedvező, egyszerre több hangot tölthetünk be vele, így a szelektálás (pl. automatikusan rögzített felvételek esetén, amikor sok az olyan felvétel amin nincs denevérhang rögzítve) gyorsan működik. A szonogramok képe rendkívül tiszta és szép. Hátránya azonban, hogy egyes hangparaméterek mérésénél (pl.: peak frequency) kevésbé érzékeny, emellett fizetős és bioakusztikus vizsgálatokra való felhasználása kevésbé ismert. A Raven általános bioakusztikai elemző program. Kezelése viszonylag bonyolult, a hangokra való ráközelítés nehézkes, ha több hangimpluzust hívunk be egyszerre, mindet külön ablakba nyitja meg és a köztük való váltás nem kézre álló. Ezen felül a Pro verzió hátránya, hogy fizetős. A BatSound kifejezetten denevérhangok vizsgálatára fejlesztett program, így denevércutatók körében az alkalmazása széles körben elterjedt. A szonogramok képe egyszerűsített, de tiszta (az összehasonlító ábrák elkészítéséhez ezért ezt választottuk). Kezelése kevésbé felhasználóbarát, az impulzusokra való közelítés nehézkes és durva léptékű, ezen felül ez sem ingyenes. A választásunk végül a Sonic Visualiser-re esett, mert ez a program ingyenes, konfigurálható és az alapbeállítások elmenthetők, így későbbi ismétléseknél ugyanazzal a beállítással lehet dolgozni. A hangokra való ráközelítés egyszerű. Hátránya, hogy kevésbé ismert, viszonylag új program. A mérésekhez három ablakot használtunk a képen látható beállításokkal (2. ábra). A felső un. spektrum ablakot az FmaxE megállapításához használtuk. A CF részek és a QCF frekvenciájának (FQCF) megállapítására az alsó ablakot, az un. peak frequency spectogramot használtuk. Ebben az ablakban a hangimpulzus egyszerűsített képe látható, csak azt a frekvenciaértéket mutatva, ahol a legerősebb a hangnyomás. A többi rögzítendő paramétert a középső ablakban látható szonogramokról olvastuk le.



2. ábra Sonic Visualiser méréshez használt ablakai és beállításai. A Spectrum nézetet az FmaxE értékek, míg a Peak frequency sonogram nézetet a CF és a QCF frekvencia értékek mérésénél használtuk. A hang többi paraméterét a Spectrogram nézeten mértük le.

## 4.2. Hangparaméterek

Minden hangimpulzus esetében hat paramétert mértünk le: a kezdő frekvenciát (SF - start frequency - a hangimpulzus kezdeti frekvenciaértéke), a végfrekvenciát (EF - end frequency: a hangimpulzus végső frekvenciaértéke), a hang azon frekvenciáját, ahol a legnagyobb a decibel érték (FmaxE - frequency of maximum energy), a hangimpulzus által átfogott frekvenciatartományt (BW - bandwidth), a hangimpulzus hosszát (D - duration), valamint két egymást követő hangimpulzus eleje között eltelt időt (IPI - inter-pulse interval). A CF szakaszt tartalmazó hangok esetén lemértük ezen szakasz hosszát és frekvenciáját is. Ezeket a paramétereket irodalmi adatok alapján (valamint saját tapasztalataink alapján) választottuk ki, mivel egyszerűen mérhetők, és nagy különbséget mutatnak az egyes denevérfajok között. Ezen felül minden esetben rögzítettük a felvételen belül a mért hangimpulzus kezdetének és végének idejét. Feljegyeztük a hangok típusát (pl.: FM, FM-QCF), valamint az állat viselkedését a felvétel alatt (pl. repül, pihen).



3. ábra Mérendő paraméterek: 1-FmaxE: denevérhang legnagyobb energiájú frekvenciája, 2-HF: legmagasabb elért frekvencia, 3-SF: hang kezdeti magassága, 4-DCF: konstans rész hossza, 5-IPI: hangimpulzusok között eltelt idő, 6-FCF: konstans rész frekvenciája

### 4.3. A vizsgált fajok hangjainak bemutatása

A terepi munka során öt család 218 egyedének echolokációs hangjait sikerült elemezhető minőségben rögzíteni. A vizsgált fajok egyedszámának gyakoriság eloszlását a 4. ábrán mutatjuk be.



4. ábra Vizsgált fajok egyedszámának gyakorisága

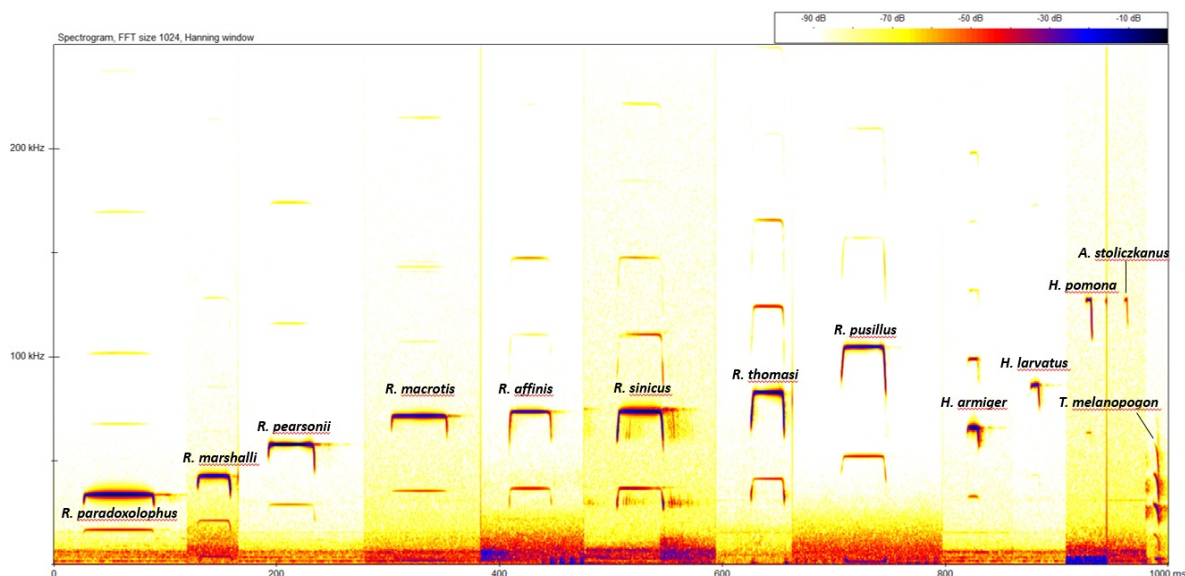
A Rhinolophidae (patkósdenevérek) családból nyolc faj egyedeitől származó hanganyag elemzésére nyílt lehetőség. A vizsgált fajok: *Rhinolophus affinis* (n=26, 13♀, 13♂), *R. sinicus* (n=13, 5♀, 8♂), *R. pusillus* (n=13, 7♀, 5♂, ezen felül egy szabadon repülő egyed, így az ivara nem került meghatározásra), *R. thomasi* (n=9, 7♀, 2♂), *R. pearsonii* (n=8, 2♀, 6♂), *R. paradoxolophus* (n=3, 1♀, 2♂), *R. marshalli* (n=1♂), *R. macrotis* (n=1♂).



A család tagjai hosszú, állandó frekvenciájú (CF) komponenst tartalmazó hangokat generáltak, amit egy rövid frekvenciamodulált (FM) komponens előzött meg és zárt le, és minden esetben a második harmonikus impulzusai tartalmazták a maximum energiát.

A Hipposideridae családból két nemzetség (*Aselliscus* és *Hipposideros*) négy fajainak hangjai kerültek mérésre: *A. stoliczkanus* (n=1♂); *H. armiger* (n=4, 2♀, 2♂), *H. larvatus* (n=5, 3♀, 2♂), *H. pomona* (n=1♀). A vizsgált hangimpulzusok ebben a családban kivétel nélkül CF-FM típusúak voltak és a legerősebbnek itt is minden esetben a második harmonikus bizonyult.

Az Emballonuridae családból egy faj, a *Taphozous melanopogon* egyetlen egyedét (n=1♀) vizsgáltuk. Az egyed echológiai hangjai QCF-FM típusúak voltak, azaz egy rövid kvázi konstans résszel kezdődtek, majd frekvenciamodulált résszel végződtek. A hangok esetében mindig megfigyelhető volt két erősebb és számos esetben egy gyengébb felharmonikus is. A Rhinolophidae, Hipposideridae és Emballonuridae család hangjainak mérési eredményét átlag±szórás formában a 2. táblázat tartalmazza, az 5. ábrán pedig a fajok szonogramjait ábrázoltuk. A *R. marshalli* és *R. macrotis* esetében az alacsony mintaelemszám miatt a CF rész frekvenciájára nem tudunk szórást számolni. A legmagasabb frekvenciaérték ezeknél a hangtípusoknál a CF részen mérhető, a legalacsonyabb érték pedig egybeesik a start- vagy végfrekvencia értékével; ezek különbségéből kapjuk a táblázatban feltüntetett BW értéket. A CF szakasz, illetve a *T. melanopogon* esetében a QCF rész frekvenciaértékét a Peak Frequency Spectrogram-on mértük, a leghosszabb egybefüggő szakaszon.

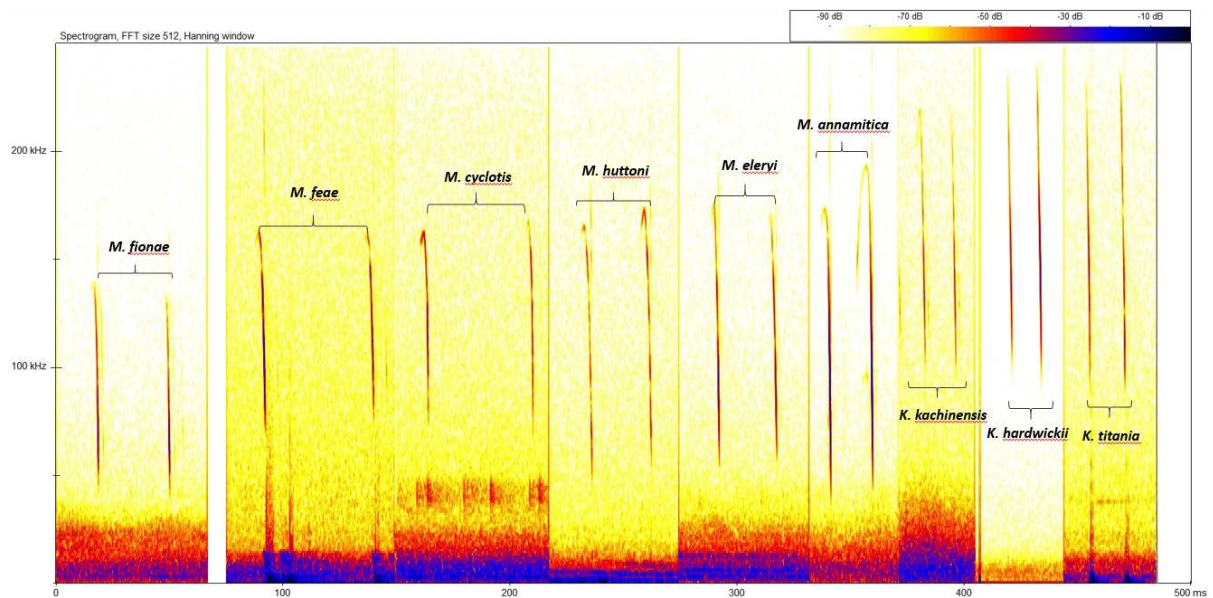


5. ábra A Rhinolophidae, Hipposideridae és Emballonuridae család hangjainak összehasonlító ábrája

2. táblázat A Rhinolophidae, Hipposideridae és Emballonuridae család tagjainak mérési eredményei

BW	IPI	D	DCF	FCF	FmaxE	EF	SF	Faj
<i>RHINOLOPHIDAE</i>								
11,18±4,72	107,08±90,18	39,85±20,22	0,036±0,02	33,48±0,54	33,49±0,5	25,93±1,63	28,98±1,27	<i>R. paradoxolophus</i>
12,93±0,66	46,61±15,32	28,91±2,89	0,025±0,003	42,77	42,72±0,29	32,49±0,45	37,66±2,79	<i>R. marshalli</i>
14,89±3,64	74,62±29,19	36,22±7,71	0,033±0,008	54,69±2,13	54,88±1,92	42,64±2,99	47,49±2,94	<i>R. pearsonii</i>
15,13±3,77	73,76±23,85	40,17±11,86	0,037±0,012	71,5	71,24	58,94±3,54	63,49±3,59	<i>R. macrotis</i>
22,63±4,14	71,2±29,52	31,85±8,07	0,031±0,031	74,27±4,32	74,08±4,3	55,09±4,54	61,2±6,33	<i>R. affinis</i>
19,29±2,19	81,84±26,83	38,95±11,35	0,035±0,008	77,27±3,07	77,03±3,08	61,13±3,45	62,47±3,24	<i>R. sinicus</i>
18,75±5,89	63,13±24,98	34,7±11,16	0,032±0,052	79,78±2,52	79,64±2,43	67,79±5,81	67,79±5,81	<i>R. thomasi</i>
24,93±3,92	65,37±32,84	30,65±10,17	0,032±0,041	104,47±1,37	104,14±1,39	82,84±4,29	87,93±4,06	<i>R. pusillus</i>
<i>HIPPOSIDERIDAE</i>								
11,34±1,48	45,84±19,69	10,69±2,47	0,009±0,002	65,06±1,35	65,08±1,29	56,13±1,21	62,21±1,49	<i>H. armiger</i>
14,95±2,05	36,43±13,89	7,98±0,55	0,005±0,0006	87,13±0,9	86,97±0,92	74,51±1,99	84,95±1,04	<i>H. larvatus</i>
21,22±1,7	25,58±10,67	6,75±0,77	0,005±0,0004	126,97±0,28	126,76±0,19	108,24±1,41	125,74±0,56	<i>H. pomona</i>
14,82±0,22	18,69±1,07	3,26±0,2	0,002±0,0002	127,81±0,5	127,76±0,27	115,38±0,49	126,06±0,53	<i>A. stoliczkanus</i>
<i>EMBALLONURIDA</i>								
9,72±0,75	28,55±0,5	3,98±0,84	-	28,55±0,5	26,33±0,06	20,56±0,77	30,28±0,02	<i>T. melanopogon</i>

Vizsgálatunkban a Vespertilionidae család hangjai bizonyultak a legváltozatosabbnak. A családból tizenkét nemzetség egyedeinek hangját vizsgálva három hangtípust detektáltunk. A *Murina* és *Kerivoula* nemzetség tagjai cDFM típusú hangokat adtak (6. ábra). Sok esetben a kezdeti szakaszok csak gyenge decibel értékkel szóltak, így ezekben az esetekben csak az FM struktúra értékei voltak pontosan mérhetőek. A *Murina* genusból az alábbi hat faj egyedeit vizsgáltuk: *M. annamitica* (n=6, 2♀, 4♀), *M. cyclotis* (n=14, 7♀, 7♂), *M. eleryi* (n=3, 1♀, 2♂), *M. fionae* (n=4, 3♀, 1♂), *M. huttoni* (n=4♀), *M. feae* (n=3, 1♀, 2♂). A *Kerivoula* nemzetségből három fajt vizsgáltunk: *K. hardwickii* (n=6, 2♀, 4♂), *K. kachinensis* (n=4♀), *K. titania* (n=3♀). A mérések eredményeit a 3. táblázat tartalmazza.

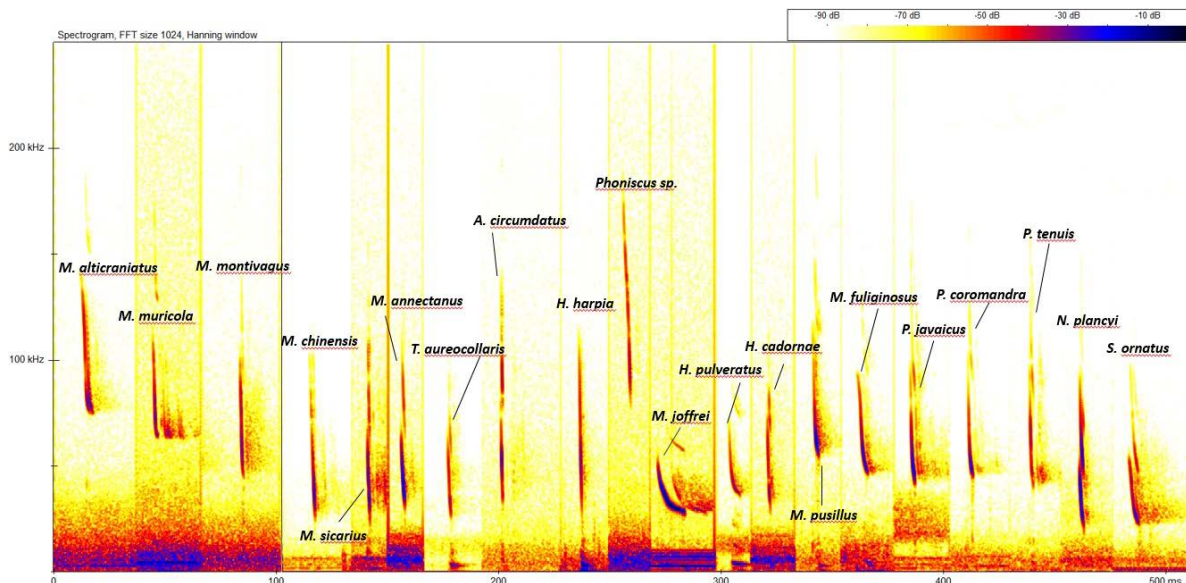


6. ábra A Vespertilionidae család: *Murina* és *Kerivoula* nemzetség hangjai

3. táblázat A Murina és Kerivoula nemzetség mérési eredményei

BW	IPI	D	HF	FmaxE	EF	SF	Faj
100,95±7,61	56,9±25,75	2,8±0,95	140,89±8,04	66,97±10,39	39,95±2,63	139,17±8,96	<i>M. fionae</i>
84,04±10,83	60,28±28,49	4,37±0,81	155,11±8,07	105,63±11,09	71,07±6,81	150,82±5,29	<i>M. feae</i>
111,16±19,95	43,04±22,18	3,45±1,26	169,87±21,44	98,78±21,57	58,71±10,04	166,51±19,37	<i>M. cyclotis</i>
116,6±9,87	47,44±14,96	4,74±0,89	168,47±4,94	112,74±24,49	51,87±4,94	166,59±6,96	<i>M. huttoni</i>
110,45±6,62	35,99±8,09	2,68±0,95	168,77±6,47	95,44±17,78	58,32±6,44	167,19±6,29	<i>M. eleryi</i>
113,13±22,89	36,2±17,78	5,1±1,6	171,21±13,82	94,58±15,43	58,08±11,84	161,33±13,85	<i>M. annamitica</i>
126,92±8,11	24,14±21,37	3,02±0,31	214,59±10,9	140,8±26,36	87,67±9,62	213,46±10,93	<i>K. kachinensis</i>
104,65±32,19	34,47±22,61	1,95±0,25	212,72±12,26	132,71±19,88	102,57±12,56	212,72±12,08	<i>K. hardwickii</i>
121,86±14,53	32,67±23,17	2,11±0,39	218,83±11,05	138,94±10,71	96,97±9,7	218,83±11,05	<i>K. titania</i>

Frekvenciamodulált hangokat bocsátottak ki a *Harpiocephalus*, *Arielulus*, *Phoniscus*, *Thainycteris* és *Myotis* nemzetségek tagjai. A *H. harpia* (n=5, 3♀, 2♂), az *A. circumdatus* (n=4♀), a *Phoniscus* sp. (n=1♀), a *T. aureocollaris* (n=1♀), a *M. annectans* (n=2♂), a *M. chinensis* (n=1♂), a *M. montivagus* (n=3, 1♀, 2♂), és a *M. sicarius* (n=1♂) fajok minden egyedének hangja FM típusú volt. A *M. alticraniatus* (n=3, 2♀, 1♂), *M. muricola* (n=8, 7♀, 1♂) azonban túlnyomó részt FM-QCF típusú hangokat bocsátott ki. A *Hypsugo*, *Pipistrellus*, *Nyctalus*, *Scotomanes* és *Mirostrellus* genusba tartozó egyedek hangjai FM-QCF típusúak voltak. A törpedenevérek (*Pipistrellus*) közül három faj hangjai kerültek mérésre: *P. coromandra* (n=7, 3♀, 4♂), *P. javanicus* (n=3, 1♀, 2♂), és *P. tenuis* (n=2♀), a *Hypsugo* genusból pedig kettő: *H. cadornae* (n=4, 3♀, 1♂), *H. pulveratus* (n=3, 1♀, 2♂). A *Nyctalus*, *Scotomanes* és *Mirostrellus* nemzetségek esetében egy-egy faj egyedét sikerült vizsgálni: *M. joffrei* (n=26, 4♀, 13♂, valamint 9 szabadon repülő melyek nemét így nem ismertük), *N. plancyi* (n=4, 1♀, 3♂), *S. ornatus* (n=3♀). A Miniopteridae családból két faj: a *M. pusillus* (n=1♀) és a *M. fuliginosus* (n=3, 1♀, 2♂) felvett hangjai kerültek mérésre. Az elemzett hangimpulzusok ebben a családban mind FM-QCF típusúak voltak. Az FM és FM-QCF hangokra (4. táblázat, 7. ábra) jellemző, hogy időben rövidek, a kezdő és a végfrekvencia egybeesik a legmagasabb, illetve legalacsonyabb frekvenciaértékkel. Ezeknél a hang típusoknál az alapharmonikus bizonyult a legerősebbnek, esetenként erős, az alapharmonikussal egybeolvadó második harmonikusokat találtunk a *M. montivagus*, *M. sicarius*, *M. annectans*, *A. circumdatus*, *H. cadornae*, és *N. plancyi* esetében.



**7. ábra** A Vespertilionidea család: *Myotis*, *Thainycteris*, *Arielulus*, *Harpiocephalus*, *Mirostrellus*, *Hypsugo*, *Pipistrellus*, *Nyctalus* és *Scotomanes* nemzetségek, valamint a Miniopteridae család hangjai

4. táblázat A Vespertilionidea család: *Myotis*, *Thainycteris*, *Arielulus*, *Harpiocephalus*, *Mirotrellus*, *Hypsugo*, *Pipistrellus*, *Nyctalus* és *Scotomanes* nemzetségek, valamint a Miniopteridae család mérésének eredményei

BW	IPI	D	FQCF	FmaxE	EF	SF	Faj
68,29±4,12	47,63±8,23	3,19±0,5	77,21±1,75	83,06±4,37	75,54±1,13	143,83±4,81	<i>M. alticraniatus</i>
58,58±14,73	78,87±17,93	2,93±0,86	60,58±2,44	66,39±3,09	59,68±2,9	119,24±7,54	<i>M. muricola</i>
59,93±8,73	52,23±25,01	1,96±0,55	-	55,79±2,08	44,68±1,29	97,13±8,62	<i>M. montivagus</i>
70,02±8,3	47,04±15,84	2,99±0,34	-	37,73±0,51	25,15±0,5	95,17±8,08	<i>M. chinensis</i>
42,52±1,57	137,25±24,95	1,62±0,06	-	36,61±0,57	36,61±0,57	79,13±1,02	<i>M. sicarius</i>
39,95±4,52	65,49±7,75	2,41±0,32	-	37,38±1,08	28,6±1,73	68,55±3,32	<i>M. annectans</i>
44,72±0,6	87,66±2,21	2,59±0,2	-	30,81±0,44	22,94±0,44	67,66±0,25	<i>T. aureocollaris</i>
49,38±5,53	88±37,93	2,23±0,74	-	45±5,8	32,67±2,03	82,05±5,24	<i>A. circumdatus</i>
86,69±12,08	40,31±13,95	2,4±0,68	-	55,36±8,49	27,75±1,16	114,45±16,16	<i>H. harpia</i>
102,28±3,02	52,08±24,79	3,71±0,19	-	100,42±3,25	78,74±0,95	181,02±3,86	<i>Phoniscus</i> sp.
40,27±9,69	83,96±45,12	4,01±2,95	34,93±11,78	37,38±3,74	29,55±1,67	69,82±9,79	<i>M. joffrei</i>
45,74±3,1	83,24±50,14	2,74±0,55	38,03±2,47	42,23±2,93	33,57±1,89	79,32±3,57	<i>H. puberatus</i>
45,57±7,89	45,77±15,22	1,93±0,39	33,79±3,66	41,27±19,98	28,19±2,67	73,76±9,3	<i>H. cadornae</i>
61,81±7,63	48,31±33,57	2,12±0,19	48,77±2,55	52,43±3,09	44,43±2,91	106,24±7,87	<i>P. javanicus</i>
52,48±6,44	49,16±2,89	1,84±0,31	44,93±2,99	49,52±2,89	40,89±2,59	93,38±6,39	<i>P. coromandra</i>
55,03±3,89	29,93±9,22	1,61±0,12	45,65±1,38	47,9±0,91	39,79±1,23	94,82±4,82	<i>P. tenuis</i>
34,67±4,98	65,68±32,22	1,94±0,41	25,21±2,55	35,31±7,57	23,41±2,22	58,08±3,99	<i>N. plancyi</i>
33,02±7,63	93,23±59,31	4,48±2,71	21,19±3,01	27,07±0,64	22,88±6,97	55,9±6,83	<i>S. ornatus</i>
68,29±1,36	45,13±4,92	3,07±0,05	56,7±0,87	62,09±2,81	53,53±0,54	121,82±1,12	<i>M. pusillus</i>
57,68±6,94	49,02±20,27	4,24±1,15	47,02±2,11	50,574,35	44,86±2,4	102,54±6,99	<i>M. fuliginosus</i>

A kutatásunkban szereplő fajok Vietnam denevérfaunájának csak egy részét képviselik, mégis itt került a legtöbb faj hangja vizsgálatra. A kapott eredmények a Rhinolophidae és Hipposideridae család echolokációs hangjai esetében biztatóak, ugyanis itt a legtöbb akusztikus paraméter alapján elkülönültek a vizsgált fajok egymástól. Kivételt képez ez alól a *R. macrotis*, *R. affinis*, *R. sinicus* és *R. thomasi* ugyanis ezeknél a fajoknál a mért hangparaméterek eredményei átfedtek. A vizsgálandó fajok számának, valamint a mintaelemszámok növelésével ezen családok esetében egyes fajok akár fajszinten is határozhatóak lehetnek. A Vespertilionidae és Miniopteridae családok esetében a hangok paraméterei néhány esetben átfedtek, de nagyobb mintaelemszámok esetén valószínűleg a *Pipistrellus*, *Hypsugo*, *Nyctalus*, *Arielulus*, *Scotophilus* és *Miniopterus* nemzetség egyes taxonjai elkölöníthetők lesznek.

#### 4.4. DNS barcode szekvenciák

A DNS barcode szekvenciák meghatározására irányuló labormunka során a COVID-19 járvánnyal kapcsolatos korlátozások kihirdetéséig az összes mintából sikerült DNS-t izolálnunk, a mintákat 14 faj esetében tudtuk elküldeni szekvenálni. A COI szakaszok szekvenálása tíz faj esetében egy irányból, nyolc esetében pedig két irányból történt (5. táblázat). A többi izolált DNS szakasz elküldésre kerül a Macrogen Europe B.V.-hez szekvenálni, amint a laboratóriumi munkára (újra) lehetőség nyílik. Az így elkészült barcode szekvenciák terveink szerint a korlátozások megszüntetése után kb. 2 hónappal feltöltésre kerülhetnek az adatbázisba.

5. táblázat COI szekvenálás

Kétirányú szekvenálás		Egy irányú szekvenálás	
Faj	Egyedszám	Faj	Egyedszám
<i>Myotis alticraniatus</i>	2	<i>Myotis alticraniatus</i>	1
<i>Myotis annectans</i>	1	<i>Myotis annectans</i>	1
<i>Myotis montivagus</i>	3	<i>Murina eleryi</i>	2
<i>Myotis muricola</i>	1	<i>Murina huttoni</i>	1
<i>Phoniscus sp.</i>	1	<i>Murina fionae</i>	3
<i>Aselliscus stoliczkanus</i>	1	<i>Pipistrellus tenuis</i>	2
<i>Pipistrellus javanicus</i>	1	<i>Pipistrellus javanicus</i>	2
<i>Pipistrellus coromandra</i>	2	<i>Pipistrellus coromandra</i>	5
<i>Hypsugo cadornae</i>	1		
<i>Mirostrellus joffrei</i>	3		

## 5. Értékelés és következtetések

A denevérek hangjait széleskörben vizsgálták a mérsékelt éghajlati övben, a trópusokon azonban csak nemrég kezdődtek meg a vizsgálatok (Brigham és mtsai., 2004; Furey és mtsai., 2009; Phauk és mtsai., 2013). Vizsgálatunkban 42 faj, 218 egyedének echolokációs hangjait vizsgáltuk. Több esetben először kerültek nagyobb számban elemzésre bizonyos fajok echolokációs hangjai, de pl. a *Mirostrellus joffrei* esetében a dolgozatban szereplők az első leírások a faj akusztikus sajátosságait illetően. Mintáink alapján a vizsgált Hipposideridae és Rhinolophidae fajok akár fajszinten is határozhatóak lehetnek, ezt a feltételezést Furey és mtsai. 2009-ben publikált eredményei is alátámasztják. Furey és mtsai. (2009) vietnami denevérek hangjait vizsgálták, az elemzések során a denevérhang felénél mérhető frekvencia értéket (MF) is rögzítették, ez a patkós denevérek esetében az CF részre esik. Az általuk mért MF érték a *R. pearsonii*, *R. pusillus*, *R. sinicus*, *H. armiger*, *H. pomona* és *H. larvatus* esetében mindössze 1 kHz különbséget mutatott az általunk mért FCF értékhez képest, ami beleesik a becsült szórás tartományokba. A mért MF (127,4 kHz) és FCF (127,8 kHz) értékek az *A. stoliczkanus* esetében mutatták a legnagyobb hasonlóságot. A *R. paradoxolophus* és *R. macrotis* esetében pedig a legnagyobb különbséget, ugyanis az általunk mért FCF értékek 5 kHz-el voltak magasabbak a Furey és mtsai. (2009) által mért MF értékeknél. Ez utóbbi két faj valószínűleg valójában két fajkomplex, így elképzelhető, hogy taxonómiai következményekkel is járhatnak majd eredményeink. A *R. affinis* estében 3 kHz-el mértünk magasabb FCF értéket. Mindkét kutatásban mérésre került az FmaxE vagyis a hang legerősebb decibellel szóló frekvencia értéke. Ez a paraméter egyezést mutatott a *H. armiger*, a *H. larvatus* és az *A. stoliczkanus* esetében (5. táblázat).

6. táblázat Összehasonlítás a Furey és mtsai. (2009) és a saját kutatásunkban mért FmaxE (maximum energiájú frekvencia) értékekre

<i>H. armiger</i>		<i>H. larvatus</i>		<i>A. stoliczkanus</i>	
Furey és mtsai. (2009)	saját mérés	Furey és mtsai. (2009)	saját mérés	Furey és mtsai. (2009)	saját mérés
65,0±1,1	65,08±1,29	86,5±1,8	86,97±0,92	127,5±2,6	127,76±0,27

A *R. pearsonii*, a *R. sinicus* és a *H. pomona* esetében az általunk mért FmaxE értékek 1 kHz-el voltak magasabbak, míg a *R. pusillus* esetében 1 kHz-el alacsonyabbak. A *R. affinis* esetében ennél a hangparaméternél is 3 kHz-el magasabb átlagos frekvenciát mértünk. A



legnagyobb eltérést ennél a hangparaméternél is a *R. paradoxolophus* és a *R. macrotis* esetében tapasztaltuk, ugyanis mindkét fajnál 5 kHz-el magasabb FmaxE frekvenciát mértünk. A start és végfrekvencia értékek már változatosabbnak bizonyultak: a legnagyobb különbség, azonban itt sem haladta meg a 7 kHz-et. A hangok hossza és a hangimpulzusok közt eltelt idő között tapasztaltuk a legnagyobb eltéréseket. A két vizsgálat eredményei alapján a két család legtöbb tagja faji szinten is határozható lehet, ugyanis a FCF, FmaxE, SF és EF frekvenciák alapján jól elkülönülnek egymástól. Mintámban ez alól négy faj képez kivételt, a *R. macrotis*, *R. sinicus*, *R. affinis* és *R. thomasi* hangparamétereit ugyanis átfednek.

Hughes és mtsai. (2010) Thaiföldön vizsgálták a Rhinolopidae és a Hipposideridae család több tagját. A vizsgálat a denevérek FmaxE értéke és a testméreteik között keresett összefüggést. A thaiföldi vizsgálat során mért FmaxE értékek már nagyobb különbséget mutattak a vietnami denevéreken végzett mérésünkhöz képest. A legnagyobb különbséget a *H. pomona* esetében mutatkozott Thaiföldön, ennek a denevérnek az FmaxE értéke 11 kHz-el magasabb. Thaiföldön magasabbnak bizonyult még a *H. larvatus* és a *R. pusillus* hangja 8 kHz-el, a *R. pearsonii* hangja 6 kHz-el, a *H. armiger* hangja pedig 5 kHz-el. A thaiföldi minták nagyobb eltérését okozhatja a vizsgált egyedek száma közti különbség, az eltérő detektor alkalmazása a hangok rögzítése során, az eltérő program alkalmazása a mérések során vagy a földrajzi különbség (Jones és mtsai., 2000; O'Farrell és mtsai., 2000; Russo és Jones, 2002). A thaiföldi hangok rögzítésénél Pettersson D240X denevérdetektort alkalmaztak, míg a vietnami hangfelvételeink Pettersson D1000X denevérdetektossal készültek. A két detektor mintavételi aránya (D1000X esetében már állítható), frekvenciatartománya (D240X: 10-120 kHz; D1000X: 5-235 kHz) és felbontása különbözik. Ezen különbségek miatt például a *Murina* és *Kerivoula* nemzetség magas hangjai Pettersson D240X denevérdetektossal nem rögzíthetők. Így Hughes és mtsai. (2010) mintáiban szereplő *K. hardwickii* hangok start frekvenciája 47 kHz-el volt alacsonyabb az általunk mért értékhez képest. Ezen felül a hangok teljes struktúrája sem látszódott az általunk készített felvételeken. A *Murina* és *Kerivoula* család tagjainál megfigyelhető cDFM hangtípust ők nem mutatták ki.

A Furey és mtsai. (2009) által publikált tanulmányban is vizsgáltak a Vespertilionidae családba tartozó denevérfajokat. Dolgozatunkban és Furey és mtsai. (2009) vizsgálatában is elemzésre kerültek a *Myotis chinensis*, *M. muricola*, *Pipistrellus javanicus*, *Hypsugo pulveratus* és *H. cadornae* hangjai. Az FmaxE értékek itt is nagy hasonlóságokat

mutattak: a *M. muricola* és a *H. pulveratus* esetében egyeztek, a *P. javanicus* esetében 1 kHz, a *H. cadornae* esetében pedig 4 kHz különbséget mutattak. A *M. chinensis* esetében találtuk a legnagyobb eltérést: az általunk mért FmaxE érték ugyanis 12 kHz-el alacsonyabbnak bizonyult. Ezt a nagy különbséget valószínűleg a mintaelemszámok közötti eltérés okozta, ugyanis vizsgálatunk során mindössze egy példány hangjait tudtuk felvenni és elemezni. A faj vagy fajcsoport szintű határozókulcsok elkészítéséhez tehát a Vespertilionidae és Miniopteridae család tagjainak esetében mindenképp szükséges a mintaelemszámok növelése. Az általunk építendő adatbázis ennek megfelelő alapot biztosít. Az adatbázis ugyanis saját mintáikon felül együttműködő partnerek által is bővíthető lesz. Az adatbázisba első körben a kutatócsoport tagjai által gyűjtött, biztosan határozott fajoktól származó hangok (Vietnam 2014, 2016; Malajzia 2015; Kína 2016, 2017, 2019) kerülnek feltöltésre, fotókkal és lehetőség szerint DNS barcode szekvenciával együtt. Ezen felül feltüntetésre kerül a hangok rögzítésének helye (ország, tartomány), módja (pl.: kézből való elengedés, repsátorban reptetés, szabadon repülés) és a felvételhez használt eszköz típusa (pl.: Pettersson D1000X, Pettersson D240X stb.), így a felhasználók által határozni kívánt hanganyaghoz a megfelelő referenciák kikereshetők. A szakdolgozatom keretében az 2014-es és 2016-os vietnami expedíciós hangok kerültek feldolgozásra és rögzítésre az adatbázisban.

Az elvégzett munka számos új eredményt hozott. Kidolgoztunk egy olyan mérési módszert, ami standard paraméterek mérésével lehetővé teszi a térség hangjainak elemzését. A módszer kidolgozásánál a legtöbb jelentős denevércsoport hangjait megvizsgálva választottuk ki a megfelelő mérendő hangparamétereket, így a világ bármely pontján rögzített denevérhangok elemzésére is alkalmasak. Az elemzések elvégzéséhez választott program a Sonic Visualiser, mely szinte minden tekintetben felülmúlta a konkurens szoftvereket, hiszen tudományos színvonalú elemzések elvégzésére is alkalmas és ingyenes. A szonogramok megjelenítése pontos és részletgazdag, a peak frequency ablak pedig nagy segítséget jelent a CF részt tartalmazó denevérhangok mérésénél. Ez a módszer jelentősen hozzájárulhat az akusztikai kutatások és felmérések felfutásához, mely elengedhetetlen ennek a nagyfokú biodiverzitásnak a felméréséhez és megőrzéséhez. Ezen felül vizsgálatunk jelentősége, hogy az általunk épített adatbázisban a vizsgált hangok mellé az MTM taxonómusai által pontosan meghatározott referencia példányok barcoding szekvenciáját is meghatározzuk és feltöltjük.

## 6. Összefoglalás

A denevérek Délkelet-Ázsia emlősdiverzitásának körülbelül egyharmadát teszik ki, ennek ellenére mégis a legkevésbé ismert gerincesek közé tartoznak a régióban. Rejtett, éjszakai életmódjuk miatt a denevéreket nehéz megfigyelni és befogni. Repülésük közben azonban a repülőkuttyák kivételével az összes faj echológiai hangokkal tájékozódik, mely denevérdetektorokkal észlelhető. A rögzített hangok aztán számítógépen elemezhetőek és számos faj, fajcsoport határozását lehetővé teszik az állatok befogása nélkül is.

Dolgozatom egyik legfőbb célja egy olyan program kiválasztása volt, ami akár tudományos színvonalú elemzések elvégzésére is alkalmas és bárki számára elérhető (ingyenes). Több program alapos tesztelése után választásunk a Sonic Visualiser nevű hangelemző programra esett, mely szinte minden tekintetben felülmúlta a konkurens szoftvereket.

Másik céloom egy olyan mérési módszertan kidolgozása volt, mely standard paraméterek felvételével teszi lehetővé a hangok lehető legjobb határozását az egyes taxonok esetén. A módszer kialakítása során a legtöbb denevércsoport hangjait megvizsgálva választottuk ki a megfelelő mérendő paramétereket, így a világ bármely pontján rögzített denevérhangok elemzésére alkalmasak.

Harmadik fő céloom két vietnami expedíció során rögzített hangok fenti módszerrel történő mérése és elemzése volt. A 2014-ben és 2016-ban 12 mintavételi helyen gyűjtött minták 42 faj, 218 egyedének echológiai hangjait tartalmazták. Vizsgálatunk során összesen 727 hangimpulzus került lemérésre. Több esetben először vizsgáltunk nagyobb számban bizonyos fajokat, de pl. a *Mirostrellus joffrei* esetében a dolgozatban szereplők az első leírások a faj hangjait illetően.

A referencia barcode szekvenciák meghatározása is megkezdődött a taxonómiailag fontos példányoknál. A COVID-19 járvány miatti veszélyhelyzet kihirdetéséig 13 faj, 33 példányának DNS barcode szekvenciáját határoztuk meg részben vagy egészben.

További eredménye dolgozatomnak, hogy kivágásra, feldolgozásra és rögzítésre kerültek a két vietnami kutatóút során rögzített hangok egy denevérhang adatbázisban, melynek szerkezetét e hangok rögzítése során alakítottuk ki.

Munkám remélhetőleg hozzájárul az akusztikai vizsgálatok minél egységesebb kivitelezéséhez, a térség denevérfajainak jobb megismeréséhez és ezáltal a felmérésük és védelmük eredményesebbé válásához.

## 7. Abstract

Bats account for about one-third of the mammal diversity of Southeast Asia, even so, they are among the least known vertebrates in the region. Bats are elusive species because of their hidden and nocturnal lifestyle so it is difficult to observe and capture them. However, all species, with the exception of Pteropodids, generate echolocation calls during flight that can be easily recorded with bat detectors. Then the recorded sounds can be analysed on computer and thus allowing for identification of many species and groups of species without capturing the animals.

One of the main goals of my dissertation was to select a program which is applicable for scientific analysis and available to anyone (free). After testing several programs, we chose a sound analyser program called Sonic Visualiser which surpassed the all concurrent software almost in every aspect.

My other aim was to develop a measurement methodology which allows the best possibility for determination of each taxon by including standard parameters. During the development of the protocol, we selected the appropriate parameters to be measured by examining the sounds of the most significant bat groups, so they are suitable for the analysis of bat sounds recorded anywhere in the world.

My third main goal was to measure and analyse the bat sounds which were recorded during two expeditions in Vietnam. Samples were collected in 2014 and 2016 at 12 sampling sites containing echolocation sounds from 42 species from 218 individuals. Altogether 727 sound impulses were measured during our study. In many respects, our study was the first to examine a larger number from certain species, for example *Mirostrellus joffrei*. This dissertation is the first to describe the sounds of this species.

Determination of reference barcode sequences has also begun for taxonomically important specimens. Until the onset of the COVID-19 pandemic, the DNA barcode sequences of 33 individuals from 13 species were determined in part or in whole.

Another result of my dissertation is that the sounds which were recorded during the two Vietnamese research trips were cut out and metadata was compiled and uploaded to a database, whose structure was developed during the analysis of these sounds.

My work will hopefully contribute to the standard implementation of acoustic analysis, to a better understanding of the bat species in the area and thus to their more effective assessment and protection.

## 8. Irodalomjegyzék

- Barataud, M., 2015. Acoustic ecology of European bats: species identification, study of their habitats and foraging behaviour, Inventaires et Biodiversité series. Biotope Éditions, Mèze, National Museum of Natural History, Paris, p 340.
- Barclay, R.M., Fullard, J.H., Jacobs, D.S., 1999. Variation in the echolocation calls of the hoary bat (*Lasiurus cinereus*): influence of body size, habitat structure, and geographic location. *Canadian Journal of Zoology* 77, 530–534.
- Barlow, K., 1999: Expedition Field Techniques: Bats. London, Expedition Advisory Centre, p 68.
- Bates, P.J.J., Rossiter, S.J., Suyanto, A., Kingston, T., 2007. A new species of *Hipposideros* (Chiroptera: Hipposideridae) from Sulawesi. *Acta Chiropterologica* 9, 13–26.
- Bates, P.J.J., Struebig, M.J., Rossiter, S.J., Kingston, T., Oo, S.S.L., Mya, K.M., 2004. A New Species of *Kerivoula* (Chiroptera: Vespertilionidae) from Myanmar (Burma). *Acta Chiropterologica* 6, 219–226.
- Borissenko A.V., Kruskop S.V., 2003. Bats of Vietnam and adjacent territories: an identification manual. Russian Vietnamese Science and Technological Tropical Centre, Hanoi, Vietnam and the Zoological Museum of Moscow, M.V. Lomonosov State University
- Boyles, J.G., Cryan, P.M., McCracken, G.F., Kunz, T.H., 2011. Economic Importance of Bats in Agriculture. *Science* 332, 41–42.
- Brigham, R.M., Kalko E.K.V., Jones, G., Parsons, S. Limpens, H.J.G.A. (eds.), 2004. Bat echolocation research. Tools, techniques and analysis. Bat Conservation International, Austin, Texas, 167 p.
- Cleveland, C.J., Betke, M., Federico, P., Frank, J.D., Hallam, T.G., Horn, J., López, J.D., McCracken, G.F., Medellín, R.A., Moreno-Valdez, A., Sansone, C.G., Westbrook, J.K., Kunz, T.H., 2006. Economic value of the pest control service provided by Brazilian free-tailed bats in south-central Texas. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4, 238–243.
- Csorba, G., Son, N.T., Saveng, I., Furey, N.M., 2011. Revealing cryptic bat diversity: three new *Murina* and redescription of *M. tubinaris* from Southeast Asia. *Journal of Mammalogy* 92, 891–904.
- Csorba, G., Thong, V.D., Bates, P.J.J., Furey, N.M., 2007. Description of a new species of *Murina* from Vietnam (Chiroptera: Vespertilionidae: Murininae). *Museum of Texas Tech University, Occasional Papers No. 268*.
- Dietz, C., Kiefer, A. (eds) 2016. Bats of Britain and Europe. Bloomsbury Publishing, London, p 400
- Dubois, A., 2003. The relationships between taxonomy and conservation biology in the century of extinctions. *Comptes Rendus Biologies* 326, 9–21.
- Flaquer, C., Torre, I., Arrizabalaga, A., 2007. Comparison of Sampling Methods for Inventory of Bat Communities. *Journal of Mammalogy* 88, 526–533.
- Fleming, T.H., Geiselman, C., Kress, W.J., 2009. The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany* 104, 1017–1043.
- Francis, C.M., Eger, J.L., 2012. A Review of Tube-Nosed Bats (*Murina*) from Laos with a Description of Two New Species. *Acta Chiropterologica* 14, 15–38.
- Furey, N.M., Mackie, I.J., Racey, P.A., 2010. Bat diversity in Vietnamese limestone karst areas and the implications of forest degradation. *Biodiversity and Conservation* 19, 1821–1838.
- Furey, N.M., Mackie, I.J., Racey, P.A., 2009. The role of ultrasonic bat detectors in improving inventory and monitoring surveys in Vietnamese karst bat assemblages. *Current Zoology* 55, 327–341.
- Görföl, T., Kruskop, S.V., Tu, V.T., Estók, P., Son, N.T., Csorba, G., 2020. A new genus of vespertilionid bat: the end of a long journey for Joffre's Pipistrelle (Chiroptera: Vespertilionidae). *Journal of Mammalogy* gyz202.
- Hughes, A.C., Satasook, C., Bates, P.J.J., Soisook, P., Sritongchuay, T., Jones, G., Bumrungsri, S., 2010. Echolocation Call Analysis and Presence-Only Modelling as Conservation Monitoring Tools for Rhinolophoid Bats in Thailand. *Acta Chiropterologica* 12, 311–327.
- Ivanova, N.V., Dewaard, J.R., Hebert, P.D.N., 2006. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes* 6, 998–1002.

- Ivanova, N.V., Zemplak, T.S., Hanner, R.H., Hebert, P.D.N., 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes* 7, 544–548.
- Jones, G., Vaughan, N., Parsons, S., 2000. Acoustic identification of bats from directly sampled and time expanded recordings of vocalizations. *Acta Chiropterologica* 2, 155–170.
- Jones, G., Teeling, E., 2006. The evolution of echolocation in bats. *Trends in Ecology and Evolution* 21, 149–156.
- Jones, G., Holderied, M.W., 2007. Bat echolocation calls: adaptation and convergent evolution. *Proceedings of the Royal Society B* 274, 905–912.
- Kingston, T., 2013. Response of Bat Diversity to Forest Disturbance in Southeast Asia: Insights from Long-Term Research in Malaysia, in: Adams, R.A., Pedersen, S.C. (Eds.), *Bat Evolution, Ecology, and Conservation*. Springer New York, New York, NY, pp. 169–185.
- Kingston, T., 2008. Research priorities for bat conservation in Southeast Asia: a consensus approach. *Biodiversity and Conservation* 19, 471–484.
- Kingston, T., Francis, C.M., Akbar, Z., Kunz, T.H., 2003. Species richness in an insectivorous bat assemblage from Malaysia. *Journal of Tropical Ecology* 19, 67–79.
- Kingston, T., Jones, G., Akbar, Z., Kunz, T.H., 1999. Echolocation signal design in Kerivoulineae and Murininae (Chiroptera: Vespertilionidae) from Malaysia. *Journal of Zoology* 249, 359–374.
- Kunz, T.H., Braun de Torrez, E., Bauer, D., Lobova, T., Fleming, T.H., 2011. Ecosystem services provided by bats. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1223, 1–38.
- Lane, D.J.W., Kingston, T., Lee, B.P.Y.-H., 2006. Dramatic decline in bat species richness in Singapore, with implications for Southeast Asia. *Biological Conservation* 131, 584–593.
- Lin, H.J., Kanwal, J.S., Jiang, T.L., Liu, Y., Feng, J., 2015. Social and vocal behavior in adult greater tube-nosed bats (*Murina leucogaster*). *Zoology* 118, 192–202.
- Lobova, T.A., Geiselman, C.K., Mori, S.A., 2009. Seed dispersal by bats in the neotropics, *Memoirs of the New York Botanical Garden*. New York Botanical Garden, Bronx, N.Y.
- Mace, G.M., 2004. The role of taxonomy in species conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 359, 711–719.
- MacSwiney G., M.C., Clarke, F.M., Racey, P.A., 2008. What you see is not what you get: the role of ultrasonic detectors in increasing inventory completeness in Neotropical bat assemblages. *Journal of Applied Ecology* 45, 1364–1371.
- Meijaard, E., Center for International Forestry Research (Eds.), 2005. *Life after logging: reconciling wildlife conservation and production forestry in Indonesian Borneo*. Center for International Forestry Research, Sindang Barang, Bogor, Indonesia.
- Myers, N., Knoll, A.H., 2001. The biotic crisis and the future of evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, 5389–5392.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858.
- O'Farrell, M.J., Corben, C., Gannon, W.L., 2000. Geographic variation in the echolocation calls of the hoary bat (*Lasiurus cinereus*). *Acta Chiropterologica*, 2: 185–196.
- Papadatou, E., Butlin, R.K., Altringham, J.D., 2008. Identification of bat species in Greece from their echolocation calls. *Acta Chiropterologica* 10, 127–143.
- Parsons, S., Jones, G., 2000. Acoustic identification of twelve species of echolocating bat by discriminant function analysis and artificial neural networks. *J. Exp. Biol.* 203, 2641–2656.
- Pfalzer, G., Kusch, J., 2003. Structure and variability of bat social calls: implications for specificity and individual recognition. *J. Zoology* 261, 21–33.
- Phauk S., Phen S., Furey, N.M., 2013. Cambodian bat echolocation: a first description of assemblage call parameters and assessment of their utility for species identification. *Cambodian Journal of Natural History*, 2013,1, 16–26.,
- Robinson, M.F., Jenkins, P.D., Francis, C.M., Fulford, A.J.C., 2003. A New Species of the *Hipposideros pratti* Group (Chiroptera, Hipposideridae) from Lao PDR and Vietnam. *Acta Chiropterologica* 5, 31–48.
- Russo, D., Voigt, C.C., 2016. The use of automated identification of bat echolocation calls in acoustic monitoring: A cautionary note for a sound analysis. *Ecological Indicators* 66, 598–602.

- Russo, D., Teixeira, S., Cistrone, L., Jesus, J., Teixeira, D., Freitas, T., Jones, G., 2009. Social calls are subject to stabilizing selection in insular bats. *Journal of Biogeography* 36, 2212–2221.
- Russo, D., Jones, G., 2003. Use of foraging habitats by bats in a Mediterranean area determined by acoustic surveys: conservation implications. *Ecography* 26, 197–209.
- Russo, D., Jones, G., 2002. Identification of twenty-two bat species (Mammalia: Chiroptera) from Italy by analysis of time-expanded recordings of echolocation calls. *J. Zoology* 258, 91–103.
- Russo, D., Jones, G., 2000. The two cryptic species of *Pipistrellus pipistrellus* (Chiroptera: Vespertilionidae) occur in Italy: evidence from echolocation and social calls. *Mammalia* 64.
- Russo, D., Jones, G., Mucedda, M., 2001. Influence of age, sex and body size on echolocation calls of Mediterranean and Mehely's horseshoe bats, *Rhinolophus euryale* and *R. mehelyi* (Chiroptera: Rhinolophidae). *Mammalia* 65.
- Russo, D., Voigt, C.C., 2016. The use of automated identification of bat echolocation calls in acoustic monitoring: A cautionary note for a sound analysis. *Ecological Indicators* 66, 598–602.
- Rydell, J., Nyman, S., Eklöf, J., Jones, G., Russo, D., 2017. Testing the performances of automated identification of bat echolocation calls: A request for prudence. *Ecological Indicators* 78, 416–420.
- Schnitzler, H.U., Moss, C.F., Denzinger, A., 2003. From spatial orientation to food acquisition in echolocating bats. *Trends in Ecology and Evolution* 18, 386–394.
- Sikes, R.S., Gannon, W.L., 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy* 92, 235–253.
- Sodhi, N.S., Koh, L.P., Brook, B.W., Ng, P.K.L., 2004. Southeast Asian biodiversity: an impending disaster. *Trends in Ecology és Evolution* 19, 654–660.
- Struebig, M.J., Kingston, T., Zubaid, A., Mohd-Adnan, A., Rossiter, S.J., 2008. Conservation value of forest fragments to Palaeotropical bats. *Biological Conservation* 141, 2112–2126.
- Sun, K., Luo, L., Kimball, R.T., Wei, X., Jin, L., Jiang, T., Li, G., Feng, J., 2013. Geographic Variation in the Acoustic Traits of Greater Horseshoe Bats: Testing the Importance of Drift and Ecological Selection in Evolutionary Processes. *PLoS ONE* 8, e70368.
- Thong, V.D., Mao, X., Csorba, G., Bates, P., Ruedi, M., Viet, N.V., Loi, D.N., Nha, P.V., Chachula, O., Tuan, T.A., Son, N.T., Fukui, D., Tu, V.T., Saikia, U., 2018. First Records of *Myotis altarium* (Chiroptera: Vespertilionidae) from India and Vietnam. *Mammal Study* 43, 1–7.
- Thong, V.D., Puechmaille, S.J., Denzinger, A., Dietz, C., Csorba, G., Bates, P.J.J., Teeling, E.C., Schnitzler, H.-U., 2012. A new species of *Hipposideros* (Chiroptera: Hipposideridae) from Vietnam. *J Mammal* 93, 1–11.
- Thong, V.D., Bumrungsri, S., Harrison, D.L., Pearch, M.J., Helgen, K.M., Bates, P.J.J., 2006. New records of Microchiroptera (Rhinolophidae and Kerivoulinae) from Vietnam and Thailand. *Acta Chiropterologica* 8, 83–93.
- Van de Sijpe, M., 2011: Time-expansion and sound analysis, identification of bats in flight, Workshop Romania 2011
- Voigt, C.C., Kingston, T. (Eds.), 2016. *Bats in the Anthropocene: Conservation of Bats in a Changing World*. Springer International Publishing, Cham.

## **9. Köszönetnyilvánítás**

Köszönettel tartozom Dr. Görföl Tamásnak, hogy lehetőséget biztosított a kutatás kivitelezésére, valamint a minták begyűjtését és a segítséget a munkák koordinálása során. Továbbá szeretném megköszönni Dr. Estók Péternek és Dr. Csorba Gábornak a minták begyűjtését, illetve a kép és hangfelvételek elkészítést. Hálával tartozom Győrössi Dorottyanak a hangok kivágása során nyújtott segítségéért. Köszönöm belső konzulensemnek, Dr. Kövér Szilviának a diplomamunka elkészítése során nyújtott segítségét, javaslatait és észrevételeit.


A dolgozat az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-2-1 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.



## 10. Témavezetői ellenjegyzés

Alulírott Dr. Görföl Tamás igazolom, hogy Szabadi Kriszta Lilla „Délkelet-ázsiai denevérek bioakusztikai vizsgálata” című szakdolgozatát ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2020. április 15.

DR. GÖRFÖL TAMÁS   
.....  
a témavezető neve és aláírása

## 11. Belső konzulensi ellenjegyzés

Alulírott Dr. Kövér Szilvia igazolom, hogy Szabadi Kriszta Lilla biológus MSc hallgató "Délkelet-ázsiai denevérek bioakusztikai vizsgálata" című szakdolgozatát ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2020.04.23.



Kövér Szilvia

ÁTE Biológia Intézet, Ökológiai  
Tanszék