

**Doktori Értekezés Tézisei
az MTA doktora cím elnyerésére**

**Védett lepkék populációinak
genetikai diverzitása**

Pecsenye Katalin

Debrecen

2017

Munkám előzményei (Irodalmi áttekintés)

Evolúciós szempontból a természetes populációk legfontosabb jellemzője genetikai változatosságuk (Futuyma, 2005). Ez biztosítja egyrészt az aktuális környezethez való alkalmazkodást; másrészt pedig ezen alapul a populációk hosszú távú fennmaradása is (Soulé, 1987). A környezet folyamatos változásához ugyanis egy populáció csakis úgy képes alkalmazkodni, ha variábilis, vagyis számos genetikai lokuszon vannak alternatív alléljai. Ezért nem túlzás azt állítani, hogy a populációk változatossága meghatározza evolúciós potenciáljukat.

A molekuláris szintű változatosság tanulmányozása az enzimpolimorfizmus vizsgálatával kezdődött az 1960-as évek végén (Lewontin & Hubby, 1966). Már az első eredmények is azt mutatták, hogy a lokuszok jelentős hányadán (~30%) vannak jelen alternatív allélok, és magas a populációk átlagos heterozigóta gyakorisága (~10%) (Nevo, Beiles, & Ben-Shlomo, 1984). Bár az utóbbi 10-15 évben a DNS technikák széleskörű elterjedése háttérbe szorította az enzimek alkalmazását, a lepkefajok vizsgálata során még mindig széles körben használják ezt a markert. Ennek az is oka lehet, hogy a rovarok között a lepkénél figyelhető meg az egyik legmagasabb szintű variabilitás az enzim lokuszokon. Az irodalmi adatok (74 faj 104 tanulmány) összesítése alapján megállapítottam, hogy a Lepidoptera rend fajaiban a lokuszokon tapasztalt átlagos allélszám $n_A=2,06$; a heterozigóták átlagosan várt gyakorisága $H_e=0,166$; míg a polimorf lokuszok aránya $P_{95}=0,453$. Ezek az értékek magasabbak, mint a Nevo *et al.* (1984) által publikált adatokból a rovarfajokra számított átlagok: $H_e=0,095$ és $P_{95}=0,378$. Úgy tűnik tehát, hogy a lepkefajokra valóban magasabb szintű enzimpolimorfizmus jellemző, mint átlagosan az élővilágra, vagy a rovarokra.

A módszer fontos előnye, hogy az enzimpolimorfizmusra vonatkozóan nagy mennyiségű adat áll a rendelkezésünkre. További előny, hogy komoly statisztikai módszeregyüttes van a birtokunkban, melyekkel részletesen tanulmányozható a populációk genetikai struktúrája. Egy másik fontos előny a módszer olcsósága, amely lehetővé teszi sok enzim lokusz és számos minta párhuzamos vizsgálatát.

Az enzimpolimorfizmus tanulmányozásának a hátrányai két pontban foglalhatók össze (Lowe, Harris & Ashton, 2009).

(a) A vizsgálatokhoz viszonylag nagy mennyiségű szövetmintára van szükség, amiből az következik, hogy a mintavételezés destruktív. A rovarpopulációkban azonban, különösen a nem átfedő generációjú, mérsékeltövi fajoknál a mintavétel rendszerint megvalósítható a populációk veszélyeztetése nélkül is (Meglécz *et al.*, 1997; Bereczki *et al.*, 2005).

(b) Az enzimpolimorfizmus vizsgálatának egy további korlátja a lokuszok viszonylag alacsony szintű variabilitása. Ennek a háttérében az áll, hogy a DNS szintjén meglévő teljes diverzitásnak mindössze 22%-a mutatható ki az enzimek elektroforetikus vizsgálatával (Nei, 1987). Ugyanakkor a rovarok, de különösen a lepkék esetében meglehetősen magas szintű variabilitást tapasztalható az enzim lokuszokon (lásd fenn).

A genetikai variabilitást az evolúció nyersanyagának tekinthetjük, melyet a különböző evolúciós folyamatok szüntelenül alakítanak (Futuyma, 2005). Tulajdonképpen ezekkel a hatásokkal foglalkozik a populációgenetika. Ugyanakkor a populációgenetikai kutatások napjainkban egyre inkább elmozdulnak a természetvédelmi szempontú kérdésfelvetés irányába. A konzervációgenetika egy új tudományterület, ami a természetvédelmi szempontból jelentős folyamatok genetikai háttérét és következményeit elemzi (Allendorf & Luikart, 2009).

A konzervációgenetika számos kutatási területet foglal magába (Frankham *et al.*, 2002). Ezek között szerepel azoknak az egységeknek (populációk, vagy taxonok: ökotípusok, alfajok, fajok) a definiálása, amiknek a védelme és megőrzése kardinális kérdés a gyakorlati természetvédelmi munkában. A konzervációgenetikában ezeknek az egységeknek két alaptípusát definiálták: az evolúciósan szignifikáns egységet (ESU: Crandall *et al.*, 2000) és a funkcionális konzervációs egységet (FCU) vagy természetvédelmi egységet (MU) (Allendorf & Luikart, 2009). Sem az ESU, sem pedig az FCU fogalmának a használata nem egyértelmű a konzervációgenetikai szakirodalomban. Meghatározásuk akkor válik világossá, ha a közöttük lévő hierarchikus kapcsolat alapján közelítjük meg őket (Funk *et al.*, 2012).

Célkitűzések

Munkásságom második felében, a 90-es évek közepétől kezdve, a természetvédelmi szempontból jelentős Lepidoptera fajok genetikai variabilitását kezdtem tanulmányozni.

Az egyik első felismerésem az volt, hogy a genetikai változatosság mintázatára erősen hat a fajok életmenete és szaporodási stratégiája. Ezért az egyik célkitűzésem az volt, hogy néhány olyan esettanulmányt mutassak be, melyeknek eredményei egyértelműen alátámasztják azt a hipotézist, hogy a genetikai differenciálódás mintázatának a kialakulásában jelentős szerepet játszanak a fajok biológiai jellemzői (életmenet, szaporodási stratégia, stb.).

A fajok speciális szaporodási stratégiája előidézhetheti a beltenyészet fokozódását is. A dolgozat egyik esettanulmányának éppen az volt a célkitűzése, hogy bemutassa az ok-okozati összefüggést a szaporodási stratégia, a sztochasztikus hatások ebből adódó felerősödése és az egyedek magas rokonsági foka között egy *Euphydryas maturna* populációban.

A fajok genetikai struktúrájának a kialakításában jelentős szerepet játszanak ökológiai jellemzőik is. A *Maculinea* fajok esetében például ilyen a lárvális tápnövény és a hangyagazda. Esettanulmányomban azt mutatom be, hogy a *Maculinea alcon* (pneumonanthe ökotípus) Kárpát-medencei populációiban tapasztalt differenciálódási mintázatot a lokális adaptáció feltételezésével lehetett a legjobban értelmezni.

A fajok genetikai változatosságának a szerkezetére számottevően hatnak a földtörténeti közelmúlt eseményei, mindenekelőtt a nagy klimatikus változások által befolyásolt áradinamikai folyamatok. Ezeknek az eseményeknek az idősíkjá azonban eltér a jelenben és a közelmúltban ható evolúciós folyamatoktól. Ezért két esettanulmányban (*Parnassius mnemosyne* és *Euphydryas aurinia*) is azt tűztük ki célul, hogy összehasonlítsuk a különböző idősíkokon zajló evolúciós folyamatok hatását a fajok jelenlegi genetikai struktúrájára.

A konzervációgenetikai kutatások eredményeinek egyik közvetlen hasznosulása a gyakorlati természetvédelmi munkában az, hogy alapul szolgálnak a természetvédelmi egységek (ESU és FCU/MU) kijelölésére. A *Maculinea* fajok esetében ESU-kat, míg az *M. nausithous* populációkban mind ESU-kat, mind pedig FCU-kat detektáltunk a genetikai variabilitás struktúrája alapján. Egy Európa-

szerte veszélyeztetett faj (*E. maturna*) esetében azonban a vizsgálatok közvetlen célja az volt, hogy a populációk genetikai differenciálódásának a mintázata alapján meghatározzuk a faj konzervációs egységeit a Kárpát-medencében.

Esettanulmányok

1. A kis populációkban érvényesülő evolúciós hatások tanulmányozása

1.1. Genetikai sodródás

1.1.1. A szaporodási stratégia hatása a populációk genetikai szerkezetére: az *Euphydryas maturna* és a *Parnassius mnemosyne* populációk enzimpolimorfizmusának összehasonlítása

Az 1.1.1. fejezet a következő cikkek, illetve könyvfejezetek alapján készült:

Meglécz, E., Neve, G., Pecsenye, K. and Varga, Z. 1999. Genetic variations in space and time in *Parnassius mnemosyne* (Lepidoptera) populations in northeast Hungary. *Biological Conservation* **89** (3): 251-259.

Pecsenye, K., Meglécz, E., Kenyeres, Á. and Varga, Z. 2006. Population structure and enzyme polymorphism in three protected butterfly species in the Carpathian Basin (*Parnassius mnemosyne*, *Euphydryas maturna*, *Aricia artaxerxes*). pp. 217-229. In: I. Láng (ed.) *Environmental Science and Technology in Hungary*. Műszaki Kiadó, Budapest.

Pecsenye K., Bereczki J., Tóth A., Meglécz E., Peregovits L., Juhász E. és Varga Z. 2007. A populációstruktúra és a genetikai variabilitás kapcsolata védett nappalilepke-fajainknál. pp. 1-20. In Forró L. és Ronkay L. (szerk.) *A Kárpát-medence állatvilágának kialakulása*. Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest

Vizsgálatunk célja az volt, hogy összehasonlítsuk a genetikai variabilitás szintjét és a genetikai differenciálódás mintázatát a díszes tarkalepke és a kis apollólepke hazai populációiban. Bár a két faj rendszertanilag más családokba tartozik, ökológiai igényeik meglepően hasonlóak. Mindkét faj strukturált habitatban él, erdőszéleken, tisztásokkal vagy írtásokkal tagolt üde erdőkben. A két faj szaporodási stratégiájában azonban jelentős eltérések vannak: a *P. mnemosyne* relatív K-stratégistának tekinthető az r-K kontinuumban, míg az *E. maturna* tipikus r-stratégista. Így azt vártuk, hogy szaporodási

stratégiaik különbségének következményeként komoly eltérés lesz a két faj populációira ható drift intenzitásában. Azt feltételeztük, hogy a sztochasztikus hatásoknak erősebben kitett *E. matura* populációkban alacsony lesz a genetikai variabilitás, ami párosul a populációk közötti differenciálódás magas szintjével. Ezzel szemben a *P. mnemosyne* vizsgálata során azt vártuk, hogy a populációk variabilitása magas szintű lesz, és mérsékelt differenciálódás mellett megjelenik a variabilitás földrajzi mintázata.

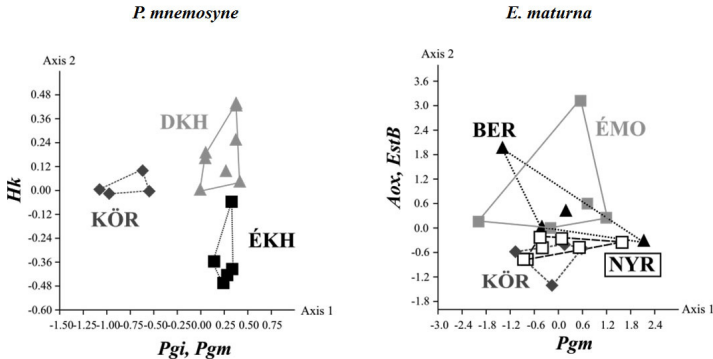
A két faj mintáit hasonló földrajzi léptékben vettük. A genetikai variabilitás vizsgálatához az enzimpolimorfizmust használtuk. Az *E. matura* mintákban 18 lokuszt, míg a *P. mnemosyne* mintákban 14-et elemeztünk.

Eredmények

A vizsgálatok eredményei nagyrészt alátámasztották a két faj szaporodási stratégiájának különbségei alapján felállított hipotéziseinket:

- a. A *P. mnemosyne* populációk variabilitása szignifikánsan magasabb volt, mint az *E. matura* populációké, ami a drift erőteljes hatására utal a díszes tarkalepke populációkban.
- b. Ugyanakkor nem tapasztaltunk számottevő különbséget a két faj között a differenciálódás mértékében akkor, amikor azt hasonló földrajzi léptékben, a régiókon belül vizsgáltuk.
- c. A genetikai differenciálódás mintázata azonban a várakozásunknak megfelelő különbséget mutatta a két faj között. Az *E. matura* populációk esetében a differenciálódásnak nem volt földrajzi mintázata. A *P. mnemosyne* populációk differenciálódását viszont egyértelműen a regionális mintázat jellemezte (E.1.1.1. ábra).

A differenciálódás mértékére és mintázatára kapott eredményeink ellentmondásosak voltak. Hipotézisünket lényegében a közeli múlt evolúciós folyamataira alapoztuk (genetikai sodródás). A populációk közötti genetikai különbségek azonban lehetnek a negyedidőszak eseményeinek a következményei is (pl. a kérdéses földrajzi régiók különböző refúgiumokból népesültek be az utolsó eljegesedés után). Ezeknek a folyamatoknak a feltárására azonban az enzimek, mint markerek csak korlátozott mértékben alkalmasak.



E.1.1.1. ábra: A *P. mnemosyne* és az *E. maturna* populációk allélfrekvencia adatai alapján végzett főkomponens analízis eredményei. A tengelyek mentén azok a lokuszok vannak feltüntetve, amelyek a leginkább hozzájárultak kialakításukhoz. ÉKH: Északi-középhegység; DKH: Dunántúli-középhegység; KÖR: Körösök vidéke; NYR: Nyírség; BER: Szatmár-Beregi-sík; ÉMO: Észak-Magyarország.

1.1.2. A fakultatív és az obligát mirmekofília genetikai következményei: az *Aricia artaxerxes* és a *Maculinea alcon* (cruciata ökotípus) genetikai változatosságának összevetése

Az 1.1.2. fejezet a következő cikkek alapján készült:

Pecsenye, K., Bereczki, J., Szilágyi, M. and Varga, Z. 2007. High level of genetic variation in *Aricia artaxerxes issekutzii* (Lepidoptera: Lycaenidae) populations in Northern Hungary. *Nota Lepideptorologica* **30**: 225-234.

Bereczki, J., Pecsenye, K. and Varga, Z. 2006. Geographical versus Food plant Differentiation in Alcon Blue Populations (Lepidoptera, Lycaenidae) in Northern Hungary. *European Journal of Entomology* **103**: 725-732.

Vizsgálataink célja az volt, hogy elemezzük a mirmekofília fakultatív és obligát típusának genetikai következményeit. Ennek érdekében összehasonlítottuk az *A. artaxerxes* és a *M. alcon* cruciata típusú populációinak genetikai struktúráját. A két faj ökológiai igényei hasonlóak, ezért populációik sokszor szüntopikusak. Feltételezésünk az volt, hogy az obligát mirmekofília következtében a *M. alcon* populációkban erős a genetikai sodródás. Ennek hatására várhatóan alacsony a variabilitás mértéke, miközben magas a genetikai

differentiálódás szintje. Intenzív differentiálódás mellett pedig a populációk genetikai struktúrája nem mutat földrajzi mintázatot. Ezzel szemben a fakultatív mirmekofíliával jellemezhető *Aricia* populációkban a genetikai sodródás jelentősen alacsonyabb intenzitású, aminek az a következménye, hogy a populációk variabilitása magas, míg a közöttük megjelenő differentiálódás alacsony szintű lesz. A kevésbé intenzív differentiálódás mellett pedig megjelenik a variabilitás földrajzi mintázata.

A két faj mintáit hasonló földrajzi léptékben vettük a Bükk-fennsíkon és a Gömör-Tornai-karszton. Az *Aricia* mintákban 19, míg a *Maculinea* mintákban 16 enzim lokuszt elemeztünk.

Eredmények

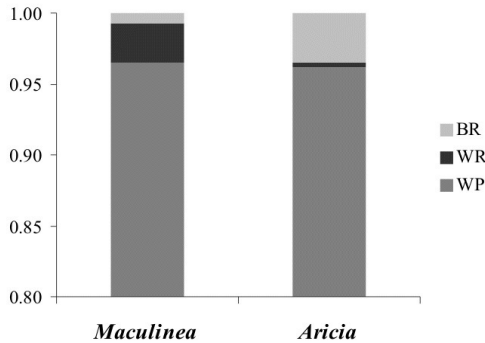
Megállapíthatjuk, hogy mind a variabilitás szintje, mind pedig a differentiálódás mértéke előzetes hipotézisünknek megfelelően alakult a két fajban.

a. A vizsgált *Aricia* populációkban szignifikánsan magasabb volt az enzimpolimorfizmus, mint a *Maculinea* populációkban. Az *Aricia* fajok variabilitásának az átlagos szintje más vizsgálatokban is magasnak mutatkozott (Habel & Schmitt, 2009). Ugyanakkor a *Maculinea* fajok polimorfizmusának a mértéke az egyik legalacsonyabbnak bizonyult a Lycaenidae családon belül (Pecsenye *et al.*, 2007b). Ehhez hasonló szintű változatosságot tapasztalt Nice & Shapiro (1999) az obligát mirmekofil *Lycaeides idas* és *L. melissa* populációkban.

b. A differentiálódás szintje kis mértékben alacsonyabb volt az *Aricia*, mint a *Maculinea* populációk között. Más tanulmányokban is alacsonyabb volt az átlagos fixációs index az *Aricia* (Habel & Schmitt, 2009), mint a *Maculinea* fajokban (Pecsenye *et al.*, 2007b). Nice & Shapiro (1999) szintén magas szintű differentiálódást detektált az obligát mirmekofil *Lycaeides idas* populációk között. Úgy tűnik tehát, hogy előzetes hipotézisünk nem csak az általunk vizsgált obligát és fakultatív mirmekofil fajok esetében helytálló, hanem más Lycaenidae fajoknál is igazolódni látszik.

c. A viszonylag magas szintű differentiálódással párhuzamosan azt is feltételeztük, hogy a *Maculinea* populációk genetikai struktúrája nem mutat földrajzi mintázatot. Az eredmények egyértelműen azt támasztották alá, hogy a differentiálódás az *A. artaxerxes* populációk

között kifejezett regionális mintázatot mutat, míg ez nem jellemző a *M.alcon* populációkra (E.1.1.2. ábra).



E.1.1.2. ábra: Az AMOVA eredménye a *M.alcon* és az *A. artaxerxes* populációkban. BR: régiók közötti variancia komponens; WR: a régiókon belüli populációk közötti variancia komponens; WP: a populációkon belüli variancia komponens.

1.1.3. A palacknyak hatás genetikai lenyomatának vizsgálata az *Aricia artaxerxes issekutzi* bükk-fennsíki és gömör-tornai-karszti populációiban

Az 1.1.3. fejezet az alábbi cikk alapján készült:

Pecsenye, K., Rácz, R., Bereczki, J. Bátori, E. and Varga, Z. 2014. Loss of genetic variation in declining populations of *Aricia artaxerxes* in Northern Hungary. *Journal of Insect Conservation* **18**: 233–243.

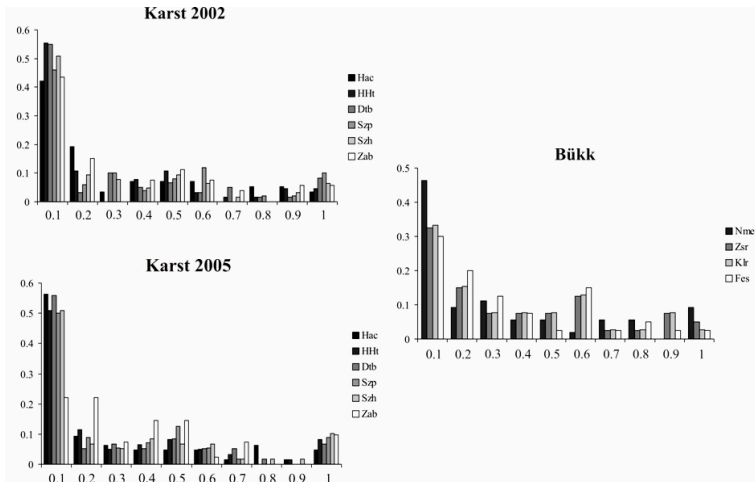
A vizsgálatok célkitűzése az volt, hogy az új statisztikai módszerek alkalmazásával, a jelen populációk genetikai adatai alapján mutassuk ki a közelmúltban lezajlott palacknyak hatást az *A. artaxerxes issekutzi* bükk-fennsíki populációiban. A Bükk-fennsíkon az *A. artaxerxes issekutzi* populációk feldarabolódtak, és néhány habitat folton egyedszámuk jelentősen lecsökkent. Ugyanakkor a Gömör-Tornai-karszton az *A. artaxerxes issekutzi* populációk napjainkban is stabilan, nagy egyedszámban maradtak meg. Ezért azt vártuk, hogy a bükki populációkban az allélok átlagos száma alacsonyabb lesz, mint a

karsztiakban. Valószínűnek tartottuk, hogy kimutatható lesz az allélok gyakorisági osztályok közötti eloszlásának a különbsége a bükki és a karszti populációk között. Nem számoltunk viszont jelentősen alacsonyabb heterozigóta gyakorisággal a bükki populációkban a karsztiakhoz képest. Így azt vártuk, hogy a palacknyak után jelentkező átmeneti heterozigóta többlet kimutatható lesz a bükk-fennsíki populációkban.

A mintákat több nagy *A. artaxerxes issekutzi* populációból gyűjtöttük a Gömör-Tornai-karszton, míg 4 populációból a Bükk-fennsíkon. A genetikai variabilitást 19 enzim lokuszon elemeztük.

Eredmények

a. A palacknyak hatás genetikai következményei közül az allélok eloszlásának a megváltozását sikerült kimutatni az egyik karszti (Zab05) és három bükki (Zsr, Klr és Fes) mintában. A ritka allélok aránya lecsökkent, miközben a közepes gyakoriságúaké megnőtt ebben a négy populációban (E.1.1.3. ábra). Az átmeneti heterozigóta



E.1.1.3. ábra: Az összes vizsgált lokusz alléljainak eloszlása a gyakorisági osztályok között az egyes mintákban. A különböző szürke árnyalatok a különböző mintákat reprezentálják.

többlet azonban csak tendenciájában érvényesült ezekben, a feltehetően palacknyak hatásnak kitett populációkban.

b. Eredményeink alapján viszont pontosítani kellett hipotézisünket, mivel a Nagymezőn (Bükk-fennsík) élő *A. artaxerxes issekutzi* populációban nem tapasztaltuk a palacknyak hatás genetikai következményeit (E.1.1.3. ábra). Ez a populáció számos habitat folton él, melyek között intenzív a migráció. Összességében tehát viszonylag nagyak és stabilnak tekinthető. Ugyanakkor a Zabanyik populáció 2005-ös mintájában (Gömör-Tornai-karszt) mutatkozott a palacknyak esetén várható változás az allélok eloszlásában (E.1.1.3. ábra). Ez a habitat a karszt régió egyik legmelegebb és legszárazabb területe, ami feltehetően a faj toleranciájának a határán van. Aszályos periódusban tehát a Zabanyik populációban komoly egyedszám csökkenés valószínűsíthető.

1.2. Beltenyészet

1.2.1. A finom genetikai struktúra tanulmányozása az *Euphydryas maturna* egyik nyírségi populációjában

A fejezet a következő cikk alapján készült:

Pecsenye, K., Tóth, A., Bereczki, J., Tóth, J.P., Varga, Z. 2017. A possible genetic basis for vulnerability in *Euphydryas maturna* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Genetica* **145**(2): 151–161.

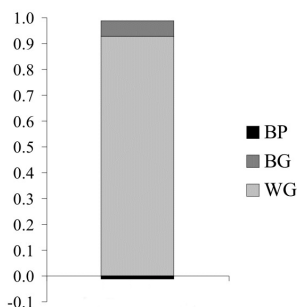
Célkitűzésünk az volt, hogy elemezzük egy *E. maturna* populáció finom genetikai struktúráját. A faj szaporodási stratégiája speciális. A nőtények egy-két csomóban rakják le petéiket a tápnövényre. A fiatal lárvák fészket szőnek, és abban közösen táplálkoznak, majd hibernálnak (Freese *et al.*, 2006). A diapauza előtti lárvák mortalitása magas, és nagy a fészkek közötti variancia (Dolek *et al.*, 2007). Ezért azt vártuk, hogy alacsony effektív méret és magas beltenyészet jellemzi a populációt, aminek eredményeként intenzív a genetikai sodródás, vagyis a generációk között nagyok a genetikai különbségek. Feltételezésünk szerint az alacsony effektív populációméret hátterében az áll, hogy a különböző nőtények utódainak a túlélése között komoly különbségek vannak. Ebből adódóan a populáció jelentős hányadát tehetik ki egyetlen nőtény utódai (testvérek). Ezért a kutatás célkitűzése az ilyen testvérek keresése volt a díszes tarkalepke egyik populációjában.

A mintákat a Fényi-erdő két szubpopulációjából vettük 4 egymást követő évben/generációban, és 17 enzim lokuszon elemeztük.

Eredmények

Minden előzetes hipotézisünk helytállónak bizonyult.

- Igazolódott az a feltevés, hogy a szubpopulációk effektív mérete alacsony, és jelentős mértékű bennük a beltenyészet.
- Feltártuk, hogy a generációk közötti genetikai különbségek messze meghaladják a két szubpopuláció közötti differenciálódás mértékét, ami erőteljes drift hatásra utal (E.1.2.1. ábra).



E.1.2.1. ábra: Az AMOVA eredménye az *E. maturna* két szubpopulációjában. BP: szubpopulációk közötti variancia komponens; BG: a szubpopulációkon belüli minták/generációk közötti variancia komponens; WG: a mintákon/generációkon belüli variancia komponens.

- Minden mintában sikerült kimutatni a családok (teljes testvérek) jelenlétét.

Ezt a három pontot összekapcsolva azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az intenzív genetikai sodródás hatása az *E. maturna* populációkban a nőtények speciális reprodukzív stratégiájára vezethető vissza. A hernyók közös táplálkozása és hibernációja azt eredményezi, hogy a lárvális túlélés varianciájának egy jelentős hányada nem az egyedek, hanem a hernyófészkek (családok) között jelentkezik (Vrabec & Jindra, 1998). Ebből adódik, hogy a következő generáció egyedeinek akár számottevő hányada is származhat csupán néhány nőténnytől, ami erős beltenyészetet okoz. Mindezek következményeként pedig alacsony lesz a populációk effektív mérete.

2. A variabilitás mértékére és szerkezetére ható ökológiai faktork

2.1. A lokális adaptáció vizsgálata a *Maculinea alcon* és *M. teleius* populációkban

A 2.1. fejezet a következő cikk alapján készült:

Pecsenye, K., Bereczki, J., Juhász, E., Tartally, A., Varga, Z. 2015. Contrasting genetic structure in cuckoo and predatory *Maculinea* butterflies. *Conservation Genetics* **16**: 939–954.

A *M. alcon* (pneumonanthé ökotípus) és *M. teleius* életmenete két fontos mozzanatban különbözik:

(a) A vérfű hangyaboglárka (*M. teleius*) petéi többé-kevésbé egyenletesen oszlanak el a habitatban (Ebert & Rennwald, 1991). A szürkés hangyaboglárka (*M. alcon* pneumonanthé ökotípus) petéinek viszont meglehetősen egyenlőtlen az eloszlása (Fürst & Nash, 2010). A peték eloszlása befolyásolja annak az esélyét, hogy a kipotyogó hernyókat megtalálják-e a hangyadolgozók.

(b) A *M. alcon* hernyók kakukk-stratégiát folytatnak a hangyagazda fészében (Elmes & Thomas, 1992). Ezzel szemben a *M. teleius* lárvák ragadozók (Thomas & Wardlaw, 1992). A lárvák fészékbeli stratégiája a kémiai mimikri szempontjából jelentős. A kakukk-stratégia sikere ugyanis nagyon precíz mimikrit igényel (Nash *et al.*, 2008).

Az volt a célunk, hogy elemezzük ezeknek az ökológiai különbségeknek a genetikai lenyomatait a populációk variabilitásának a struktúrájában. Két alternatív hipotézisünk volt:

1. A populációk genetikai struktúráját a genetikai sodródás határozza meg. A peték eloszlásának a különbsége alapján az várható, hogy a *M. alcon* populációkban intenzívebb a drift, ezért alacsonyabb a variabilitás és magasabb szintű a differenciálódás, mint a *M. teleius* populációiban. Azt is feltételeztük, hogy az intenzív differenciálódásból adódóan egyik faj esetében sem tapasztalunk majd földrajzi mintázatot a genetikai variabilitás szerkezetében.

2. A populációk genetikai struktúrája alapvetően annak a lenyomatát tükrözi, hogy a lárvák stratégiája eltérő a hangyagazda fészében. Mivel a kakukk-stratégia nagyobb precizitású mimikrit igényel, azt feltételeztük, hogy különbségeket tapasztalunk majd a lokális adaptációban a két faj között. Azt vártuk, hogy ökológiai

differentiálódást tapasztalunk a kakukk-stratégiájú szürkés hangyaboglárka különböző hangyagazdát használó populációi között.

Mintáink a Kárpát-medence több *M. alcon* (pneumonanthe ökotípus) és *M. teleius* populációjából származtak, melyekben 16 lokuszon elemeztük az enzimpolimorfizmust.

Eredmények

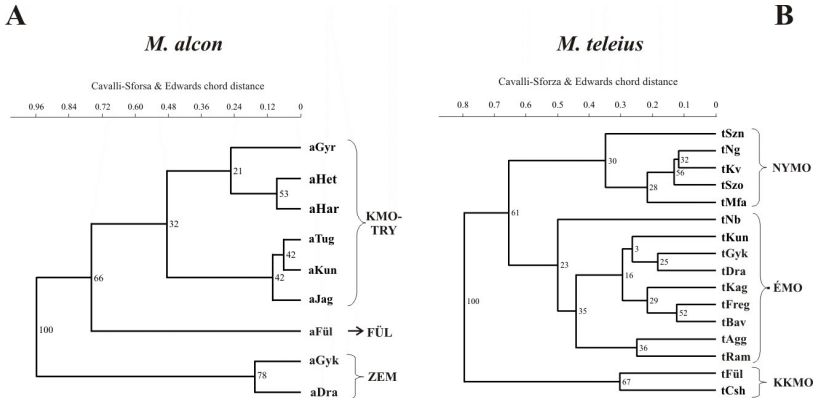
a. A variabilitás mértékében és a differentiálódás szintjében tapasztalt eltérések a drift intenzitásának a különbségét igazolták a két faj között. Munkahipotézisünk az volt, hogy a *M. teleius* populációkban magasabb szintű lesz az enzimpolimorfizmus, ami alacsonyabb mértékű differentiálódással párosul a populációk között. Eredményeink egy része megfelelt ennek a várakozásnak.

b. A drift alapján a *M. alcon* esetében azt tételeztük fel, hogy a magas szintű differentiálódás eredményeként nem tapasztalunk specifikus mintázatot a populációk genetikai struktúrájában. A Bayes-féle klaszteranalízis segítségével azonban egyértelműen differentiálódott klaszter régiókat azonosítottunk a *M. alcon* populációkban (E.2.1.1. ábra).

c. A klaszter régiók azonban csak részben tükrözték a fajok populációinak földrajzi elhelyezkedését. Ezért előzetes alternatív hipotézisünknek (ökológiai differentiálódás) megfelelően összehasonlítottuk a klaszter régiók populációiban elsődlegesen használt hangyagazdákat. A *M. alcon* három klaszter régiójának populációi három különböző hangyagazdát parazitálnak: a zempléni populációkban (ZEM) a *Myrmica vandeli*, míg a fülesdiben (FÜL) a *My. slovac*a az elsődleges gazdafaj. A többi populációban (KMO-TRY) pedig a *My. scabrinodis* a domináns hangyagazda (Tartally *et al.*, 2008). A *M. alcon* esetében tehát a klaszter régiók közötti genetikai differentiálódás magyarázható a hangyagazdák szerinti ökológiai differentiálódással. A *M. teleius* populációkban azonban a differentiálódás regionális mintázata kevésbé volt határozott. A három klaszter régió populációinak elsődleges hangyagazdái sem különböztek egyértelműen.

d. A sztochasztikus hatások tehát mindkét *Maculinea* fajnál jelentősek a populációk variabilitásának a formálásában. A *M. alcon* populációk

genetikai struktúrájának a kialakításában azonban az ökológiai differenciálódás is fontos szerepet játszik.



E.2.1.1. ábra: A populációk klaszter megoszlása alapján szerkesztett UPGMA dendrogramok.

A: A legvalószínűbb klaszter szám a *M. alcon* populációkban $K=3$. ZEM: Zemplén-hg.; KMO-TRY: Közép-Magyarország és Erdély; FÜL: a fülesdi populáció;

B: A klaszterek legvalószínűbb száma a *M. teleius* populációkban $K=5$ volt. ÉMO: Észak-Magyarország; KKMO: Közép-Magyarország keleti régiója; NYMO: Nyugat-Magyarország.

3. A populációk genetikai struktúráját alakító erők eltérő idősíkjai

3.1. A *Parnassius mnemosyne* populációk genetikai struktúrája

A 3.1. fejezet a következő cikk alapján készült:

Pecsenye, K., Bereczki, J., Tóth, J.P., Szolnoki, N., Varga, Z. 2016. Genetic structure of *Parnassius mnemosyne* (Lepidoptera: Papilionidae) populations in the Carpathian Basin. *Organisms, Diversity and Evolution* **16**(4): 809-819.

Vizsgálataink célja az volt, hogy összehasonlítsuk a két különböző idősíkból (felső Pleisztocén *versus* jelenkor) zajló evolúciós folyamatok hatását a *P. mnemosyne* Kárpát-medencei populációira. A Pleisztocén eseményeinek a genetikai következményeit Gratton, Konopiński & Sbordon (2008) nagyrészt feltárták, amikor európai

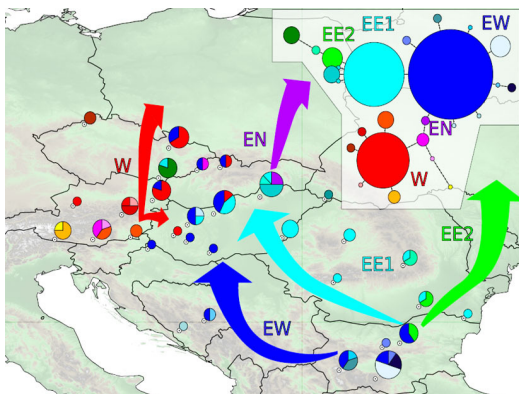
léptékben elemezték a *P. mnemosyne* filogeográfiáját. Két genetikai vonalat írtak le: a nyugati vonalat (W), melynek refúgiumai keleti perialpin területek lehettek; valamint a keleti vonalat (E), melynek refúgiumai valószínűleg a Balkánon voltak. Ez utóbbi vonal két kolonizációs úton jutott el Közép-Európába: a kelet-balkáni (EE ág) és a nyugat-balkáni (EW ág) úton. A Kárpát-medencét illetően azonban vizsgálataik felbontó képessége nem volt elég finom. Eredményeik alapján azt tételeztük fel, hogy mindkét vonal, illetve a keletinek mindkét ága (W, EW és EE) előfordul a magyar középhegységi régióban (Dunántúli- és Északi-középhegység). Nyitott kérdés maradt viszont a Kárpát-medence keleti populációinak a származása.

Amikor a közeli múlt eseményeinek a genetikai következményeit tanulmányoztuk, abból indultunk ki, hogy az erdők fragmentációja elsősorban a keményfás ártéri ligeterdőket érintette. Ezért azt tételeztük fel, hogy az itt élő populációk izolációja kifejezettebb lesz, mint a hegyvidéki erdőkben élőké, ami együtt járhat ezen populációk genetikai állományának a fokozott mértékű differenciálódásával.

Eltérő markereket alkalmaztunk a két különböző idősíkon ható evolúciós erők genetikai következményeinek a tanulmányozására. A történeti múlt eseményeinek elemzéséhez a haplotípusok leszármazási kapcsolatait és megoszlását vizsgáltuk a mitokondriális citokróm-oxidáz I-es alegységének (COI) egy 927 bp-ból álló szakaszán. A közeli múlt eseményeinek a tanulmányozására pedig nukleáris markert használtunk, és elemeztük az enzimpolimorfizmust 14 lokuszon.

Eredmények

- a. A *P. mnemosyne* populációk mind az enzim lokuszokon, mind pedig a mtDNS COI szekvencia alapján viszonylag magas szintű variabilitással jellemezhetők a Kárpát-medencében.
- b. A két marker sok tekintetben hasonló genetikai struktúrát tárt fel. Mind a mtDNS COI szekvencia, mind pedig az enzim adatok Bayes-féle klaszteranalízise 2 fő genetikai vonal jelenlétét igazolta. Mi több, mindkét marker esetében kimutatható volt az egyik genetikai vonal két további ágra történő tagolódása.
- c. A COI szekvencia elemzése révén árnyalni tudtuk a *P. mnemosyne* Gratton, Konopiński & Sbordon (2008) által felvázolt filogeográfiáját. Megállapítottuk, hogy a Kárpát-medence benépesülése elsősorban a



E.3.1.1. ábra: A *P. mnemosyne* mtDNS COI haplotípus hálózata és az egyes haplotípusok megoszlása a populációkban. A nyilak a feltételezett rekolonizációs utakat mutatják. W: nyugati vonal; EW: a keleti vonal nyugati ága (nyugat-balkáni ág); EE: a keleti vonal keleti ága (kelet-balkáni ág); EN: a keleti vonal északi ága.

balkáni refúgiumokból történt, a kelet- és a nyugat-balkáni kolonizációs útvonalon. A nyugat-balkáni ág a Dunántúl felől érhet el a medence nyugati területeit, míg a kelet-balkáni a medence keleti területeit kolonizálta. A két ág a középhegységi régióban találkozhatott (E.3.1.1. ábra). Mivel az Északi-középhegységet a haplotípusok relatíve magas diverzitása jellemzi, ezért valószínűsíthető, hogy ezen a területen a *P. mnemosyne* túlélhette a legutolsó eljegesedést egy másodlagos refúgiumban. A Dunántúli-középhegység COI szekvenciájának változatosságát a keleti vonal két ágának posztglaciális terjedésén túlmenően az is fokozta, hogy a nyugati ág is behatolt ebbe a régióba az Alpok keleti pereme felől. Így tehát 3 mtDNS vonal alakította ki a kis apollólepké Kárpát-medencei populációinak genetikai állományát.

d. A két marker eredményeinek a hasonlósága mellett néhány ellentmondás is mutatkozott az általuk leírt genetikai struktúrában. A mtDNS szekvencia alapján a Körösök vidéke (KÖR), a Szatmár-Beregi-sík – Erdélyi-szigethegység – Keleti-Kárpátok (BSZK) és az Északi-középhegység (ÉKH) régiókat egyértelműen a balkáni vonal keleti ága (EE1) kolonizálta. Ugyanakkor az enzim adatokon végzett Bayes-féle klaszteranalízis eredménye világos regionális struktúrát mutatott ($K=3$): a KÖR és az ÉKH régiókra egy-egy önálló klaszter volt

jellemező, míg a BSZK régió genetikai állományában ez a két klaszter keveredett. A különbségek valószínű magyarázata az, hogy a két markerre ható evolúciós erők idősíkjá eltérő. A mtDNS szekvencia adatok azt tárták fel, hogy a három régió közös kolonizációs útvonalon népesült be. A nukleáris markerek viszont azt jelezték, hogy a 3 régióban eltérő evolúciós hatások érvényesültek. A Körös régióban a kis apollólepke ártéri ligeterdők maradvány foltjaiban él, míg az ÉKH és a BSZK régiókban középhegységi erdőkben. Így a Körös régió populációi földrajzi és ökológiai értelemben is peremhelyzetű izolátumok. Ezt támasztják alá a Körös régióban és a középhegységi erdőkben élő populációk között detektált kiugró differenciálódást mutató lokuszok.

3.2 Az *Euphydryas aurinia* populációk genetikai struktúrája

A 3.2. fejezet az alábbi könyvfejezet és kézirat alapján készült:

Pecsenye K., Bereczki J., Tóth A., Meglécz E., Peregovits L., Juhász E. és Varga Z. 2007. A populációstruktúra és a genetikai variabilitás kapcsolata védett nappalilepke-fajainknál. pp. 1-20. In Forró L. és Ronkay L. (szerk.) *A Kárpát-medence állatvilágának kialakulása*. Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest

Pecsenye, K., Tóth, A., Tóth, J.P., Bereczki, J., Katona, G. and Varga, Z. 2017. Allozyme polymorphism, mtDNA sequence diversity and morphometric variation in Marsh Fritillary populations (kézirat)

Az *E. aurinia* diszjunkt áréája Európában két nagy, összefüggő részre tagolódik: a nyugat- és a kelet-európai területre (Kudrna, 2002). Az elterjedési terület két része között északkelet-délnyugat irányú hiátus figyelhető meg, amely Nyugat-Lengyelországon, Szlovákia és Magyarország keleti térségein keresztül, Románia és Szerbia legnagyobb részén át húzódik. Jelenlegi ismereteink szerint tehát az área nyugati felének a keleti pereme a Dunántúl középső részén található.

Az *E. aurinia* populációk genetikai variabilitását Junker *et al.* (2015) európai léptékben elemezték, de a Kárpát-medence nyugati területeiről nem voltak mintáik. Ezért az volt a célunk, hogy teljes képet kapjunk a medence populációinak genetikai struktúrájáról. A Junker *et al.* (2015) által alkalmazott molekuláris markerek (enzim lokuszok és mtDNS COI szekvencia) vizsgálata mellett a fenotípusos változatosság

szerkezetét is tanulmányoztuk. Alapvető kérdésünk az volt, hogy milyen mértékű a differenciálódás a medence nyugati és keleti populációi között. Azt feltételeztük, hogy magas szintű lesz a differenciálódás az erdélyi és a nyugati populációk között, különösen a molekuláris markerek analízise során.

A közép-dunántúli populációk a lápi tarkalepke nyugat-európai elterjedési területének a keleti peremén találhatók. Ezért ezekben a populációkban azt tanulmányoztuk, hogyan hat a periferikus elhelyezkedés a variabilitás különböző típusaira. Azt tételeztük fel, hogy az elterjedési terület peremén található populációkban a szelekciós hatások lokálisan változatosak, aminek a genetikai lenyomatát az enzim lokuszokon vártuk megjeleníteni. Azt is feltételeztük, hogy a periférikus helyzetű habitatokban a populációk erőteljesen ki vannak téve a környezeti stressznek. A nagyobb környezeti stressz viszont csökkentheti az egyedfejlődés stabilitását, és így növelheti a fluktuáló aszimmetria szintjét.

A mintákat a lápi tarkalepke több Kárpát-medencei populációjából gyűjtöttük, és vizsgáltuk az enzimpolimorfizmust 18 lokuszon, elemeztük a szekvencia változatokat a mtDNS COI génjének 616 bázispárnyi szakaszán, és tanulmányoztuk a morfológiai változatosságot 13 szárnyjelleg esetében.

Eredmények

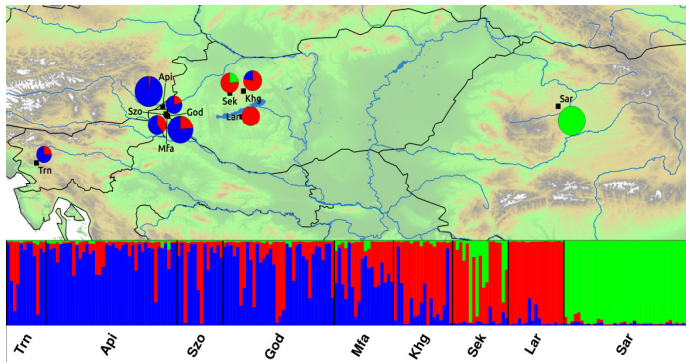
a. Az *E. aurinia* populációkban átlagos szintű enzimpolimorfizmust tapasztaltunk, ami jó egyezésben van Junker *et al.* (2015) eredményeivel, akik hasonló mértékű variabilitást detektáltak 46 európai populációban.

b. A Kárpát-medencei populációk genetikai struktúrája kelet-nyugat irányú differenciálódást mutatott. Mind az enzimpolimorfizmus, mind pedig a COI szekvencia adatok alapján azt tapasztaltuk, hogy az erdélyi populáció elkülönül a nyugatiaktól.

c. Ugyanakkor az eredmények mindkét marker esetében arra is rámutattak, hogy a nyugati populációk két világosan differenciálódott régiót alkotnak (Szlovénia és Órség: SLOR, valamint Közép-Dunántúl: KDT) (E.3.2.1. ábra).

d. Junker *et al.* (2015) azt feltételezték, hogy a Kárpát-medence nyugati területei perialpin refúgiumokból népesültek be, míg Erdélyben önálló

refúgiumot valószínűsítettek. Eredményeink nem támasztják alá a dunántúli populációk perialpin eredetét, mivel az itt detektált haplotípusok más európai területen, így az Alpok keleti peremén sem jelennek meg. A Kárpát-medence nyugati területei tehát vagy maguk is önálló refúgiumok lehettek az utolsó eljegesedés során, vagy pedig a Balkán felől népesültek be. Adataink alapján bizonyos, hogy a Kárpát-medence nyugati és keleti populációi más refúgiumokból és/vagy más útvonalon érték el jelenlegi elterjedésüket.



E.3.2.1. ábra: A Bayes-féle klaszteranalízis eredményei az *E. aurinia* populációkban. Az ábra alsó részén az egyedek klaszter besorolási koefficienseinek oszlopdiaagramjai láthatók ($K=3$). A térképen a kördiagramok a koefficiensek átlagos megoszlását mutatják a vizsgált populációkban. A színek a három klasztert jelképezik.

e. A két marker által feltárt genetikai struktúra annak ellenére is hasonló volt, hogy a rájuk ható evolúciós erők idősíkjá eltérő. A Balkán északnyugati területeiről származó COI szekvenciák hiányában jelenleg nem tudjuk megállapítani a két dunántúli régió közötti differenciálódás történeti hátterét. Az enzim lokuszokon tapasztalt regionális mintázatot (E.3.2.1. ábra) viszont értelmezni tudjuk a diverzifikáló szelekció feltételezésével, amit egyértelműen jeleztek a kiugró differenciálódást mutató lokuszok a két régió között. A két régió habitatjai között elsősorban klimatikus különbségek vannak, a SLOR régió klímája kissé hűvösebb, és humidabb, mint a KDT régióé. Az *E. aurinia* szárazabb és üde nedves réteken egyaránt előfordul. Úgy tűnik tehát, hogy az eltérő

klimatikus sajátosságok különböző adaptív stratégiák kialakulásához vezettek a két régióban.

f. A fenotípusos változatosság elemzése során nem tapasztaltunk regionális mintázatot a medence nyugati populációiban. A dunántúli és a szlovén populációkban egy világos földrajzi klint detektáltunk, vagyis a nyugati elterjedési terület keleti pereme felé haladva egyre csökkent az egyedek szárnymérete. Ezzel párhuzamosan pedig egyre nőtt az egyedek hátulsó szárnyának az aszimmetriája.

4. Konzervációgenetikai egységek

4.1. *Evolúciósan szignifikáns egység (ESU)*

4.1.1. *Maculinea* fajok

A 4.1.1. fejezet alapvetően a következő cikk alapján készült:

Pecsenye, K., Bereczki, J., Tihanyi, B., Tóth, A., Peregovits, L. and Varga, Z. 2007. Genetic differentiation among the *Maculinea* species (Lepidoptera, Lycaenidae) in eastern Central Europe. *Biological Journal of the Linnean Society* **91**: 11-21.

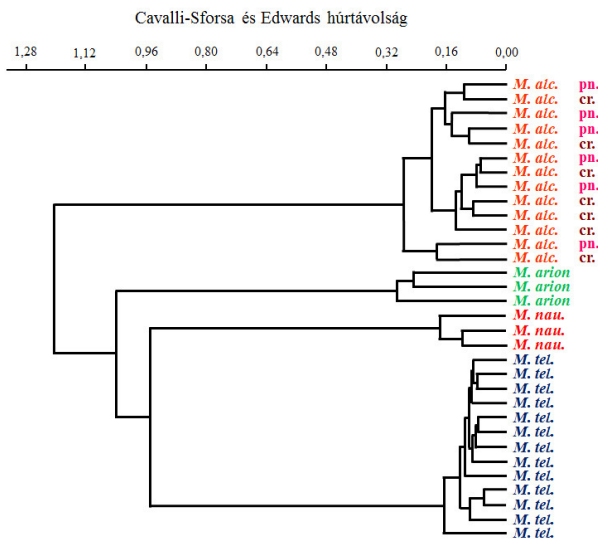
Korábban öt *Maculinea* fajt különítettek el Európában elsősorban ökológiai jellemzőik, illetve fenotípusos megjelenésük alapján: *M.alcon*, *M.rebeli* (helyesen *M.alcon* f. *xerophila*), *M.arion*, *M.nausithous* és *M.teleius* (Thomas *et al.*, 1989). A molekuláris technikák alkalmazásának eredményei azonban megkérdőjelezték a *Maculinea* fajok taxonómiai helyzetét. Als *et al.* (2004) két mtDNS és egy nukleáris szekvencia analízise során azt tapasztalta, hogy a *M.alcon* (pneumonanthe típus) és a *M.alcon* f. *xerophila* (cruciata típus) egyedek azonos ágba klasztereződtek a törzsfán. Az enzimpolimorfizmus vizsgálata során Bereczki *et al.* (2005) is a két faj közötti genetikai differenciálódás hiányát tapasztalta a közép-európai populációkban.

Munkánk célkitűzése az volt, hogy megállapítsuk a genetikailag differenciálódott, kölcsönösen monofiletikus taxonok, vagyis az ESU-k számát a *Maculinea* genuszon belül. Azt vártuk, hogy a mi vizsgálataink is 4 *Maculinea* faj genetikai differenciálódását igazolják, vagyis nem találunk majd világos elkülönülést a *M.alcon* pneumonanthe és cruciata típusának populációi között.

Mintáinkat az öt faj 32 közép-európai populációjából gyűjtöttük és 14 lokuszon elemeztük bennük az enzimpolimorfizmust.

Eredmények

a. A Kárpát-medencei *Maculinea* fajok enzimpolimorfizmusa jelentősen alacsonyabb, mint a Polyommatae alcsalád eddig tanulmányozott fajainak átlaga. Ez a relatíve alacsony változatosság jó egyezésben van más kutatók *Maculinea* fajok populációiban tapasztalt eredményeivel.



E.4.1.1. ábra: A vizsgált *Maculinea* populációkban tapasztalt Cavalli-Sforza és Edwards hűrtávolságok alapján szerkesztett UPGMA dendrogram. *M. alc. pn.*: a *M. alcon* pneumonanthé típusa; *M. alc. cr.*: a *M. alcon* cruciata típusa; *M. tel.*: *M. teleius*; *M. nau.*: *M. nausithous*.

b. Minden analízis eredménye azt mutatta, hogy a *Maculinea* genuszon belül 4 fajt különíthetünk el a Kárpát-medencében. Vizsgálataink tehát alátámasztották azokat a korábbi eredményeket, melyeket DNS szekvencia (Als *et al.*, 2004), illetve morfológiai és ökológiai (Pech *et al.*, 2004) adatok elemzésekor kaptak a kutatók.

c. A genetikai differenciálódás alapján megállapíthatjuk tehát, hogy a Kárpát-medencében a *Maculinea* fajok 4 ESU-t képviselnek, a 4 fajnak megfelelően. A *M. alcon* két ökotípusa között azonban csak ökológiai divergencia figyelhető meg, melyet még nem követett genetikai differenciálódás.

4.2. Funkcionális konzervációs egység (FCU)

4.2.1. A *Maculinea nausithous* kelet-közép-európai populációi: ESU, vagy FCU?

A 4.2.1. fejezet az alábbi cikkek alapján készült:

Hollós, A. Pecsenye, K., Bereczki, J., Bátori, E. and Varga, Z. 2012. Pattern of genetic and morphometric differentiation in *Maculinea nausithous* (Lepidoptera: Lycaenidae) in eastern Central Europe. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* **58**: 87-103.

Pecsenye K., Bátori E., Bereczki J. és Varga Z. 2014. Evolúciós és konzervációs szempontból szignifikáns egységek (ESU és CU): Esettanulmányok Kárpát-medencei lepkefajokon. *Magyar Tudomány* **4**: 405-413.

Vizsgálataink célja az volt, hogy meghatározzuk a fenotípusos és a genetikai differenciálódás mértékét a *M. nausithous* dunántúli (NYDT), erdélyi (TRY) és bukovinai (BUK) populációi között. Ezek alapján azt szándékoztuk megállapítani, hogy:

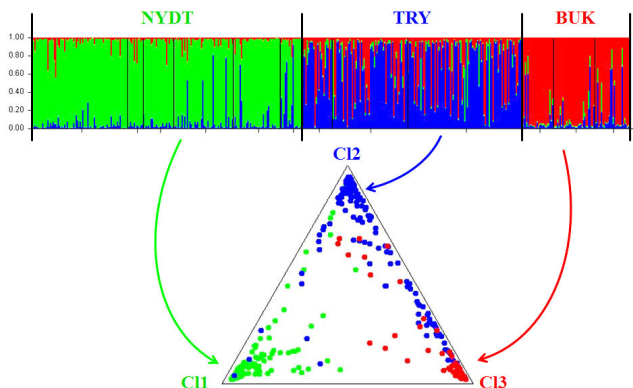
- (1) a genetikai differenciálódás mintázata alátámasztja-e azt a feltételezést, hogy Erdélyben egy másik alfaj, a *M. nausithous kijeensis* jelenik meg (Rákosy *et al.*, 2010);
- (2) a genetikai differenciálódás mértéke alapján milyen konzervációs egységnek (ESU, vagy FCU) tekinthető a három régió.

Abból kiindulva, hogy az erdélyi és a dunántúli populációk a *M. nausithous* két különböző alfajához tartoznak, azt tételeztük fel, hogy közöttük egyértelmű genetikai, esetleg fenotípusos differenciálódást tapasztalunk. Ugyanakkor az erdélyi populációk között viszonylag alacsonyabb szintű differenciálódást vártunk.

Mintáinkat a Kárpát-medencéből és Bukovinából gyűjtöttük, és 17 lokuszon vizsgáltuk az enzimpolimorfizmust. A morfológiai vizsgálatokban pedig 8 jelleget mértünk le a hím egyedeken.

Eredmények

a. A *M. nausithous* populációi a *Maculinea* fajoknál általánosan tapasztalt alacsony szintű variabilitással jellemezhetők. Ezzel párhuzamosan intenzív differenciálódást tapasztaltunk a populációk között, ami jó egyezést mutatott más kutatók eredményeivel.



E.4.2.1. ábra: A Bayes-féle klaszteranalízis eredménye a *M. nausithous* populációkban ($K=3$). NYDT: Nyugat-Dunántúl; TRY: Erdély; BUK: Bukovina; CI1, CI2 és CI3 a feltételezett klaszterek. Az oszlopok (felső ábra) és a pontok (alsó ábra) az egyedek klaszterbe sorolásának valószínűségeit reprezentálják.

b. A genetikai differenciálódás minden analízisben világos regionális mintázatot mutatott (E.4.2.1. ábra). Ugyanakkor a legerősebb differenciálódást a keleti (TRY és BUK) és a nyugati (NYDT) populációk között figyeltük meg. A dendrogram szerkesztése során egymásik, lápréteken előforduló predátor *Maculinea* fajt (*M. teleius*) alkalmaztunk kulcsoportként. Az eredmények azt mutatták, hogy a keleti (TRY és BUK) és a nyugati populációk kölcsönösen monofilétikusak, és közöttük jelentős mértékű a differenciálódás, ami aláátmasztja alfaji szintű elkülönülésüket ((Rákosy *et al.*, 2010). Ez egyúttal azt is jelzi, hogy az erdélyi és a dunántúli populációk önálló ESU-kat képviselnek a Kárpát-medencében (Crandall *et al.*, 2000).

c. Eredményeink alapján azt is megállapíthatjuk, hogy a keleti régiók (TRY és BUK) populációinak genetikai és ökológiai differenciálódása nem éri el azt a szintet, hogy indokolt legyen önálló ESU-ként kezelni őket (E.4.2.1. ábra). Ugyanakkor egyértelmű genetikai differenciálódást

tapasztaltunk közöttük, ami azt mutatja, hogy genetikai állományuk bizonyos mértékig egyedinek tekinthető. Funk *et al.* (2012) úgy definiálták a funkcionális konzervációs egységeket (FCU), mint amelyek szignifikánsan hozzájárulnak egy ESU genetikai diverzitásához. Mindezek alapján az erdélyi és a bukovinai populációkat önálló FCU-ként kezelhetjük a keleti ESU-n (feltehetően a *M. nausithous kijeensis* alfajon) belül.

4.2.2. Az *Euphydryas maturna* Kárpát-medencei populációi

A 4.2.2. fejezet az alábbi cikk alapján készült:

Pecsenye, K., Tóth, A., Tóth, J.P., Bereczki, J., Varga, Z. 2017. Regional pattern of genetic variation in the Eastern Central European populations of *Euphydryas maturna* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Journal of Insect Conservation* **21**(2): 171-181.

Bár hazánkban az *E. maturna*-nak még vannak stabil, nagy populációi, az erdők szerkezetének gyors változása nálunk is szükségessé teszi egy korrekt fajvédelmi program kidolgozását. Ennek első lépése a funkcionális konzervációs egységek (FCU) kijelölése. Ezért munkánk célkitűzése az volt, hogy a genetikai variabilitás szerkezete alapján meghatározzuk a Kárpát-medencében (tágabb értelemben a Kelet-Közép-Európában) elkülönülő FCU-k számát. Tekintettel az intenzív genetikai sodródás következtében várható erős genetikai differenciálódásra, munkahipotézisünk az volt, hogy a variabilitás szerkezetében nem tapasztalunk majd regionális mintázatot. Vagyis azt tételeztük fel, hogy nem találunk majd genetikailag differenciálódott konzervációs egységeket a Kárpát-medencében.

Az *E. maturna* dobrudzsai populációját Rákossy *et al.* (2012) *E. maturna opulenta* név alatt alfajaként írta le. Ezért azt vártuk, hogy ez a populáció egyértelműen differenciálódik a faj Kárpát-medencei populációitól.

Hipotézisünk tesztelésére 26 populáció mintájában tanulmányoztuk az enzimpolimorfizmust 18 lokuszon. A minták túlnyomó többsége (25) a Kárpát-medencéből származott, de egy mintát azon kívül (Dobruzsza) gyűjtöttünk.

Eredmények

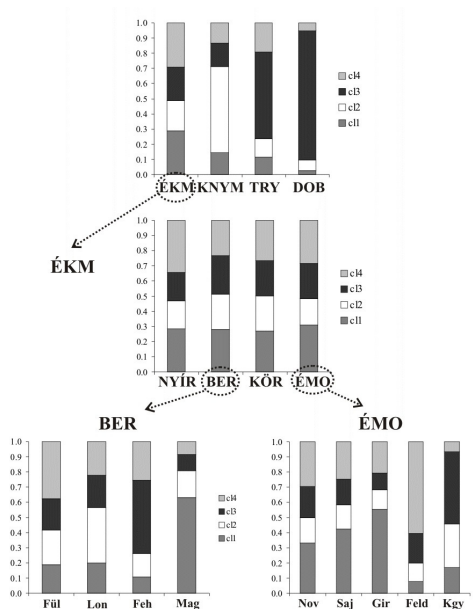
a. Az *E. maturna* kelet-közép-európai populációinak a variabilitása viszonylag alacsony az *Euphydryas* genusz többi fajához képest. A genusz fajai azonban meglehetősen változatosak az enzimpolimorfizmus szintjét tekintve. Az *Euphydryas* alnem észak-amerikai fajai magasabb szintű variabilitással jellemezhetők (pl. *E. editha*: McKechnie, *et al.*, 1975; *E. chalcidona*: Britten & Brussard, 1993), míg a *Hypodryas* alnem fajainak variabilitása jelentősen alacsonyabb (pl. *E. gilettii*: Debinski, 1994).

b. Az alacsony genetikai variabilitás viszonylag magas szintű differenciálódással párosult a vizsgált populációk között. Az *Euphydryas* genusz fajai a genetikai differenciálódás szintjét tekintve is meglehetősen változatosak. Az *Euphydryas* alnem nagy variabilitású, észak-amerikai fajainak populációi között intenzív a génáramlás (pl. *E. editha*: McKechnie *et al.*, 1975); míg az alacsony variabilitású *Hypodryas* alnem fajainál a differenciálódás viszonylag magas (pl. *E. gilettii*: Debinski, 1994).

c. A differenciálódás mintázatára vonatkozó eredményeink azonban csak részben feleltek meg előzetes várakozásunknak. Többé-kevésbé egyértelmű regionális tagolódás jelent meg ugyanis a vizsgált populációk differenciálódásában (E.4.2.1. ábra: felső ábra). Nemcsak a dobudzsai populáció különült el világosan az összes Kárpát-medenceitől, hanem a közép- és nyugat-magyarországi populációk is önálló klaszter régiót alkotottak (KNYM). A dobudzsai populáció genetikai elkülönülése várható volt (Rákosy *et al.*, 2012). Az *E. maturna* dél-dunántúli populációit Varga & Sántha (1973) szintén alfajnak tekintette, és *E. maturna idunides* Fruhstorfer, 1917 név alatt közölte. A KNYM klaszter régió genetikai differenciálódása a Kárpát-medence többi populációjától alátámasztja ennek az alfajnak az elkülönítését. Az észak- és kelet-magyarországi (ÉKM), valamint az erdélyi (TRY) klaszter régió populációi között azonban az elkülönülés nem volt teljesen egyértelmű (E.4.2.1. ábra: felső ábra).

d. Munkahipotézisünket a 4 földrajzi régiót magába foglaló ÉKM klaszter régió támasztotta alá, ahol a 20 populáció genetikai struktúrája nem mutatott földrajzi mintázatot (E.4.2.1. ábra: középső ábra), aminek a hátterében feltehetően több ok is áll. Egyrészt eredeti hipotézisünk is az volt, hogy a speciális életmenet következtében fellépő sztochasztikus folyamatok intenzív differenciálódást eredményeznek, ami elfedheti a

genetikai variabilitás regionális mintázatát. Másrészt viszont a genetikai struktúra kialakításában az is fontos szerepet játszhat, hogy ezeknek a populációknak a habitatjai olyan galériaerdők, melyek a Tisza vízrendszeréhez tartoznak, és a folyók szabályozását megelőzően összefüggő rendszert alkottak. Ezen a nagy kiterjedésű, folytonos területen a migráció messze intenzívebb lehetett, mint a jelenlegi izolált populációk között.



E.4.2.1. ábra: A régiók átlagos klaszter megoszlásioefficiensei az *E. maturna* esetében. C1, C2, C3 és C4: a 4 klaszter.

Felső ábra: A klaszterek megoszlása a klaszter régiókban. ÉKM: Észak- és Kelet-Magyarország; KNYM: Közép- és Nyugat-Magyarország; TRY: Erdély; DOB: Dobruzsza.

Középső ábra: A klaszterek megoszlása az ÉKM földrajzi régióiban. NYÍR: Nyírség, BER: Szatmár-Beregi-sík, KÖR: Körösök-vidéke, ÉMO: Észak-Magyarország.

Az alsó két ábra: A klaszterek megoszlása az ÉKM két földrajzi régiójának (BER és ÉMO) populációiban.

e. Összességében megállapíthatjuk tehát, hogy a kelet-közép-európai *E. maturna* populációk legalább 3 (esetleg 4) genetikai vonalat képviselnek, melyek akár alfaji szinten is elkülönülhetnek egymástól, bár ennek bizonyítása további genetikai vizsgálatokat igényel. Eredményeink azonban elegendőek arra, hogy kijelöljük az *E. maturna* funkcionális konzervációs egységeit a vizsgált területen. Hazánkban, a klaszter régióknak megfelelően, két FCU-t különíthetünk el: Észak- és Kelet-Magyarországot, illetve Közép- és Nyugat-Magyarországot. A két FCU közül az utóbbi (KNYM) igényel nagyobb figyelmet a gyakorlati természetvédelmi munkában, amennyiben ezen a területen kevés populáció található, és ezek nagymértékben izolálódtak egymástól.

Következtetések

Disszertációmban a konzervációgenetika néhány kulcsfontosságú területét vizsgáltam kiválasztott Lepidoptera fajokon. A 10 esettanulmány problémafelvetésének az eredetisége azonban különböző. Két csoportra lehet őket bontani: olyan tanulmányok, amelyekben új kérdéseket fogalmaztam meg, illetve szokatlan szemszögből vizsgáltam egy problémát; valamint olyanok, amelyeket én „reproduktív kutatásnak” tekintek, vagyis ezek alapötletét más tanulmányokból vettem át.

Eredetinek tartom például azt a megközelítést, hogy egy faj genetikai struktúráját sok tényező mellett belső, *intrinsic* faktorok is befolyásolják. A sztochasztikus hatások felerősödhetnek abból adódóan is, hogy milyen a kérdéses faj szaporodási stratégiája, vagy életmenete. Ebből a szempontból elemeztem két fajpárt (*Euphydryas maturna* versus *Parnassius mnemosyne*, illetve *Aricia artaxerxes issekutzii* versus *Maculinea alcon cruciata* ökotípus), melyeknek sok tekintetben hasonló az ökológiai igénye, ezért bizonyos habitatokban együttesen (szüntopikusan) is megjelennek, miközben a szaporodási stratégiájuk, vagy az életmenetük jelentős különbséget mutat. Az *E. maturna* esetében a szaporodási stratégia (r-stratégista), míg a *M. alcon* esetében a speciális életmenet (obligát mirmekofília) eredményezi a sztochasztikus hatások felerősödését, aminek a következményei egyértelműen kimutathatóak populációik genetikai struktúrájában.

Ezek az eredmények arra hívják fel a figyelmet, hogy a különböző fajok nem egyformán érzékenyek a környezeti tényezők kedvezőtlen alakulására, melyek sok esetben éppen a sztochasztikus folyamatok felerősödésén keresztül fejtik ki a hatásukat. Az olyan fajok, mint az *E. maturna* vagy a *M. alcon* azért sérülékenyebbek, mert a véletlen hatások eleve intenzívebben érvényesülnek populációikban. Ezzel függhet össze, hogy ezek a fajok messze erősebb hanyatlást mutatnak Európa-szerte, mint a többi faj (van Swaay *et al.*, 2010).

A beltenyészet genetikai következményeinek az elemzése sok konzervációgenetikai tanulmány célkitűzése. Az *E. maturna* előző vizsgálatának eredményei alapján részletesen elemeztem az ok-okozati összefüggést a populációk jelentős méretbeli ingadozása, a magas szintű beltenyészet, és az alacsony effektív populációméret között. Eredményeim alapján megállapítottam, hogy a speciális szaporodási stratégia következményeként a populáció jelentős hányadát mindössze néhány nőstény utódai alkotják.

A látásmód egyediségét a *Maculinea alcon* pneumonanthe ökotípusának és a *M. teleius* populációknak az elemzésében a legnehezebb felfedezni. Kérdésfelvetésem ebben az esetben is az volt, hogy a genetikai struktúra mennyiben tükrözi vissza a két faj életmenetében mutatkozó különbségeket. Eredményeim azt mutatták, hogy a szelekciós hatások annak ellenére is dominánsak a *Maculinea alcon* differenciálódási mintázatának a kialakításában, hogy a *Maculinea* fajok obligát mirmekofil életmenetének a következtében populációk intenzív genetikai sodródásnak vannak kitéve.

Mind a filogeográfiai, mind pedig a konzervációgenetikai szakirodalomban elterjedtek az úgynevezett „multilevel studies”, melyek több markert alkalmaznak egy faj populációstruktúrájának az elemzése során. Az eredményeket azonban ritkán elemzik abból a szempontból, hogy mit árulnak el a kérdéses faj recens genetikai struktúrájának a kialakulásáról. Így a *Parnassius mnemosyne*, illetve az *Euphydryas aurinia* Kárpát-medencei populációinak a vizsgálata azért újszerű, mert összehasonlítottuk a mtDNS haplotípusok megoszlása alapján, illetve az enzimpolimorfizmus adatai révén feltételezett folyamatok genetikai következményeit.

A mtDNS haplotípusok és az enzim lokuszok genotípus megoszlása például eltérő genetikai struktúrát mutatott a Kárpát-medence keleti területeinek *P. mnemosyne* populációiban. Ez arra utal, hogy a populációk eredetének a feltárása nem mindig ad magyarázatot a recens differenciálódási mintázatokra. Ugyanakkor az *E. aurinia* Kárpát-medencei populációban a két marker hasonló genetikai struktúrát mutatott, jelezvén, hogy mind a régmúlt, mind pedig a közeli múlt eseményei hozzájárultak a jelenleg tapasztalható regionális mintázat kialakításához.

A disszertációban szereplő többi tanulmány magát a kérdésfeltevést illetően nem tekinthető speciálisan eredetinek, lényegében a szakirodalomban már korábban is felvetett problémákat elemzi különböző, konzervációbiológiai jelentőségű Lepidoptera fajok populációiban. Ezeknek a tanulmányoknak az újszerűségét a legtöbb esetben a vizsgálati objektum adja.

A palacknyak hatás genetikai következményeinek a detektálása például számos faj esetében történt meg az általunk is alkalmazott statisztikai eszközök segítségével. Nekünk szintén sikerült az *Aricia artaxerxes issekutzi* néhány bükki populációjában az allélok eloszlásának megváltozását és a heterozigóta többlet tendenciáját kimutatni. Egy szempontból azonban ennek az esettanulmánynak is megvan az elméleti jelentősége. Palacknyak hatására ugyanis megváltozik az allélok eloszlása a populációban. Ennek a változásának az elemzésére azonban olyan markerek alkalmasak, melyeknek megfelelő szintű a variabilitása (pl. a mikroszatellitek). Az a tény, hogy a palacknyak hatás genetikai következményeit enzim lokuszokon sikerült detektálni, alátámasztja kutatómunkám alapvető feltételezését, hogy *a Lepidoptera fajokban kellően magas az enzimpolimorfizmus szintje ahhoz, hogy tükrözze a különböző evolúciós folyamatok genetikai következményeit.*

A konzervációgenetika alapvető egységeinek (ESU és FCU) a lehatárolása számos publikációnak volt a célkitűzése. Így a disszertáció 3 utolsó tanulmánya bizonyos szempontból szintén tekinthető egyfajta reprodukzív kutatásnak. Különösen igaz ez azzal a fejezettel kapcsolatban, ahol a cél az ESU-k számának meghatározása volt a *Maculinea* fajok esetében. Ez a kérdés ugyanis szoros kapcsolatban áll

azzal a korábban már említett taxonómiai problémával, hogy a *M.alcon* és a tévesen *M. rebeli*-nek vélt *M.alcon* f. *xerophila* önálló fajnak tekinthető-e. A két taxon közötti genetikai differenciálódás hiányának a kimutatásához járultunk mi is hozzá az enzimpolimorfizmus vizsgálata során kapott eredményeinkkel.

A három tanulmány közül azonban kiemelném a *Maculinea nausithous* Kárpát-medencei populációinak a vizsgálatát. Mivel a *M. nausithous* populációkban eltérő differenciálódási szinteket tapasztaltunk, ezért módunkban állt egy tanulmányon belül ESU-t és FCU-t is kijelölni. Ennek két szempontból is ki kell emelni a jelentőségét. Egyrészt a két különböző konzervációs egység csak elvétve szerepelt együtt a különböző tanulmányokban. Ez a tény jelentősen hozzájárulhatott ahhoz a bizonytalansághoz, amit az ESU és az FCU alkalmazása kapcsán tapasztalhatunk a szakirodalomban. Másrészt viszont eredményeink egyértelműen illusztrálták a két egység közötti hierarchikus kapcsolatot. *Valószínűleg éppen ez a hierarchikus viszony lehetne a kulcsa annak, hogy konszenzus alakuljon ki az ESU és FCU fogalmának a definíciójával kapcsolatban.*

Az *Euphydryas maturna* kelet-közép-európai populációinak a vizsgálata azért is tekinthető jelentősnek, mert maga a vizsgálati objektum természetvédelmi szempontból rendkívül fontos. A díszes tarkalepke Európában az egyik legveszélyeztetettebb Lepidoptera faj (van Swaay *et al.*, 2010). Meglepő módon azonban genetikai vizsgálatokat még semmilyen markerrel nem végeztek más kutató csoportok az *E. maturna* populációkban. Így eredményeink teljesen újak ennek a fajnak a vonatkozásában. Sikerült kimutatni, hogy a faj kelet-közép-európai populációit alapvetően 3 (esetleg 4) genetikai vonal építi fel, ami összhangban van azzal, hogy a korábbi taxonómiai elemzésekben 3 alfajt írtak le Kelet-Közép-Európában.

Irodalomjegyzék

- Allendorf FW & Luikart G. 2009. *Conservation and the Genetics of Populations*. John Wiley & Sons.
- Als TD, Vila R, Kandul NP, *et al.* 2004. The evolution of alternative parasitic life histories in large blue butterflies. *Nature* **432**: 386–390.

- Bereczki J, Pecsénye K, Peregovits L, et al. 2005.** Pattern of genetic differentiation in the *Maculinea alcon* species group (Lepidoptera, Lycaenidae) in Central Europe. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **43**: 157–165.
- Britten HB & Brussard PF. 1993.** Isozyme Data and the Taxonomy of Checkerspot Butterflies (Euphydryas). *Journal of Research on the Lepidoptera* **32**: 124–134.
- Crandall KA, Bininda-Emonds ORP, Mace GM, et al. 2000.** Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution* **15**: 290–295.
- Debinski DM. 1994.** Genetic diversity assessment in a metapopulation of the butterfly *Euphydryas gillettii*. *Biological Conservation* **70**: 25–31.
- Dolek M, Freese-Hager A, Cizek O, et al. 2007.** Mortality of early instars in the highly endangered butterfly *Euphydryas maturna* (Linnaeus, 1758) (Nymphalidae). *Nota lepidopterologica* **29**: 221–224.
- Ebert G & Rennwald E. 1991.** *Die Schmetterlinge Baden-Württembergs. Band 1, Tagfalter I.* Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.
- Elmes GW & Thomas JA. 1992.** Complexity of species conservation in managed habitats: interaction between *Maculinea* butterflies and their ant hosts. *Biodiversity & Conservation* **1**: 155–169.
- Freese A, Benes J, Bolz R, et al. 2006.** Habitat use of the endangered butterfly *Euphydryas maturna* and forestry in Central Europe. *Animal Conservation* **9**: 388–397.
- Funk WC, McKay JK, Hohenlohe PA, et al. 2012.** Harnessing genomics for delineating conservation units. *Trends in Ecology & Evolution* **27**: 489–496.
- Fürst MA & Nash DR. 2010.** Host ant independent oviposition in the parasitic butterfly *Maculinea alcon*. *Biology Letters* **6**: 174–176.
- Futuyma DJ. 2005.** *Evolution*. Sunderland: Sinauer Assoc. Inc.
- Gratton P, Konopiński MK & Sbordoni V. 2008.** Pleistocene evolutionary history of the Clouded Apollo (*Parnassius mnemosyne*): genetic signatures of climate cycles and a ‘time-dependent’ mitochondrial substitution rate. *Molecular Ecology* **17**: 4248–4262.
- Habel JC & Schmitt T. 2009.** The genetic consequences of different dispersal behaviours in Lycaenid butterfly species. *Bulletin of Entomological Research* **99**: 513–523.

- Joyce DA & Pullin AS. 2003.** Conservation implications of the distribution of genetic diversity at different scales: a case study using the marsh fritillary butterfly (*Euphydryas aurinia*). *Biological Conservation* **114**: 453–461.
- Junker M, Zimmermann M, Ramos AA, et al. 2015.** Three in One—Multiple Faunal Elements within an Endangered European Butterfly Species. *PLOS ONE* **10**: e0142282.
- Kudrna O. 2002.** The distribution atlas of European butterflies. *Oedippus* **20**: 1–343.
- Lewontin RC & Hubby JL. 1966.** A Molecular Approach to the Study of Genic Heterozygosity in Natural Populations. II. Amount of Variation and Degree of Heterozygosity in Natural Populations of *DROSOPHILA PSEUDOBBSCURA*. *Genetics* **54**: 595–609.
- Lowe A, Harris S & Ashton P. 2009.** *Ecological genetics: design, analysis, and application*. John Wiley & Sons.
- McKechnie SW, Ehrlich PR & White RR. 1975.** Population Genetics of *Euphydryas* Butterflies. I. Genetic Variation and the Neutrality Hypothesis. *Genetics* **81**: 571–594.
- Megléc E, Pecsénye K, Peregovits L, et al. 1997.** Allozyme variation in *Parnassius mnemosyne* (L.) (Lepidoptera) populations in North-East Hungary: variation within a subspecies group. *Genetica* **101**: 59–66.
- Nash DR, Als TD, Maile R, et al. 2008.** A Mosaic of Chemical Coevolution in a Large Blue Butterfly. *Science* **319**: 88–90.
- Nei M. 1987.** *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press.
- Nevo E, Beiles A & Ben-Shlomo R. 1984.** The Evolutionary Significance of Genetic Diversity: Ecological, Demographic and Life History Correlates. In: *Evolutionary Dynamics of Genetic Diversity*. Springer, Berlin, Heidelberg, 13–213.
- Nice CC & Shapiro AM. 1999.** Molecular and morphological divergence in the butterfly genus *Lycaeides* (Lepidoptera: Lycaenidae) in North America: evidence of recent speciation. *Journal of Evolutionary Biology* **12**: 936–950.
- Pech P, Fric Z, Konvička M, et al. 2004.** Phylogeny of Maculinea blues (Lepidoptera: Lycaenidae) based on morphological and ecological characters: evolution of parasitic myrmecophily. *Cladistics* **20**: 362–375.

Pecsénye K, Bereczki J, Tihanyi B, et al. 2007. Genetic differentiation among the *Maculinea* species (Lepidoptera: Lycaenidae) in eastern Central Europe. *Biological Journal of the Linnean Society* **91**: 11–21.

Rákossy L, Pecsénye, K., Mihali, C., et al. 2012. Taxonomic review of *Euphydryas maturna* (Linnaeus, 1758)(Lepidoptera, Nymphalidae) with description of a new subspecies from Dobrogea (Romania) and notes on conservation biology. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* **58**: 145–161.

Rákossy L, Tartally A, Goia M, et al. 2010. The Dusky Large Blue - *Maculinea nausithous kijeensis* (Sheljuzhko, 1928) in the Transylvanian basin: New data on taxonomy and ecology. *Nota Lepidopterologica* **33**: 31–37.

Soulé ME. 1987. *Viable Populations for Conservation*. Cambridge University Press.

van Swaay CM, Cuttelod A, Collins S, et al. 2010. European red list of Butterflies. <http://library.wur.nl/WebQuery/clc/1939351>.

Tartally A, Nash DR, Lengyel S, et al. 2008. Patterns of host ant use by sympatric populations of *Maculinea alcon* and *M. 'rebeli'* in the Carpathian Basin. *Insectes Sociaux* **55**: 370–381.

Thomas JA & Elmes GW. 1998. Higher productivity at the cost of increased host-specificity when *Maculinea* butterfly larvae exploit ant colonies through trophallaxis rather than by predation. *Ecological Entomology* **23**: 457–464.

Thomas JA & Wardlaw JC. 1992. The capacity of a *Myrmica* ant nest to support a predacious species of *Maculinea* butterfly. *Oecologia* **91**: 101–109.

Varga Z & Sántha G. 1973. Verbreitung und taxonomische Gliederung der Art: *Euphydryas maturna* (Linnaeus, Lep.: Nymphalidae) in SO-Europa. *Acta Biologica Debrecina* **X–XI**: 213–231.