

# EVOLÚCIÓS ÉS KONZERVÁCIÓS SZEMPONTBÓL SZIGNIFIKÁNS EGYSÉGEK (ESU ÉS CU): ESETTANULMÁNYOK KÁRPÁT-MEDENCEI LEPKEFAJOKON

Pecsenye Katalin

PhD

pecsenye.katalin@science.unideb.hu

Bátori Edit

PhD

Bereczki Judit

PhD

MTA „Lendület” Viselkedésökológiai Kutatócsoport

Varga Zoltán

DSz

Debreceni Egyetem Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék

## *Bevezetés*

A természetvédelmi munka jelentős hányadát teszik ki a veszélyeztetett fajok védelmével kapcsolatos feladatok. Megtervezésükben egyre nagyobb szerepet játszik a kérdéses fajok genetikai variabilitásának ismerete, különös tekintettel annak szerkezetére, a genetikai differenciálódás mintázatára. A genetikai differenciálódás szintjét tekintve természetvédelmi genetikai szakirodalom két kulcsfogalmat használ: evolúciósan szignifikáns egység (*Evolutionary Significant Unit – ESU*) és konzervációs egység (*Conservation Unit – CU*). Bár a fogalmak használata nem teljesen egyöntetű a különböző szakcikkekben, az ESU kritériumai többé-kevésbé jól definiáltak (Moritz, 1994; Crandall et al., 2000). Azokat a populációkat/ populációcsoportokat tekintetjük önálló evolúciós egységeknek, amelyek egyértelmű genetikai elkülönülést mutatnak a közel rokon populációcsoportoktól,

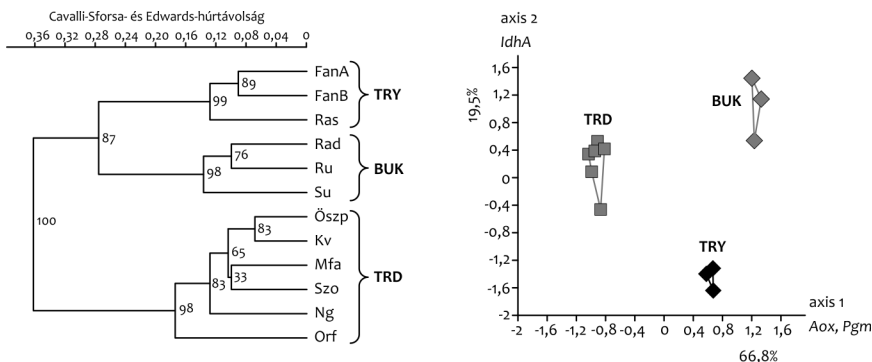
esetleg részleges reprodukív izoláció is megjelenik közöttük. Az ESU a genetikai differenciálódás mellett ökológiai elkülönülést is mutat a többi populációtól, ami földrajzi izolációval is párosulhat. Továbbá az evolúciósan szignifikáns egységek kölcsönösen monofiletikusak. Ezeknek a kritériumoknak leginkább önálló taxonok, elsősorban fajok, alfajok, esetleg ökológiai vagy földrajzi rasszok felelnek meg. A CU azonban a gyakorlati természetvédelmi munkában jobban használható fogalom, amennyiben azokat a populációkat /populációcsoportokat jelöli, amelyek jelentős mértékben hozzájárulnak a kérdéses faj genetikai diverzitásához, így speciális figyelmet, élőhelykezelést érdemelnek. A konzervációs egységet alkotó populációknak is fontos ismervük tehát a többi populációtól való genetikai differenciálódás, valamint a legalább részleges ökológiai elkülönülés. A természetvédelmi genetikai vizsgálatoknak egyik fontos célkitűzése, hogy a genetikai

differenciálódás mintázata alapján megállapítsák a védett és veszélyeztetett fajok populációcsoportjainak státuszát az ESU- és CU-kategóriák tekintetében. A különböző fajok nagyon eltérő differenciálódási mintázatot mutatnak, tehát változó az is, hogy genetikai struktúrájukat az evolúciósan szignifikáns vagy a konzervációs egységek megléte jellemzi. A fenti fogalmakat a továbbiakban négy esettanulmányon keresztül mutatjuk be.

*Sötét hangyaboglárka (Maculinea nausithous)*

A Kárpát-medence környéki sötét hangyaboglárka populációk tanulmányozása során a minták három földrajzi régió (Dunántúl, Erdély, Bukovina) tizenkét populációjából származtak, összesen 463 egyedben történt az enzim polimorfizmus (= az egyes enzimeket kódoló genetikai egységek sokféleségének) vizsgálata. Tizenhét enzim-lókuszon elemeztük a populációk allélfrekvencia-adatait, majd ezek segítségével Cavalli-Sforza- és Edwards-húrtávolságokat számoltunk, és UPGMA-dendrogramot szerkesztettünk. Eredményeink azt mutatták, hogy a keleti (erdélyi és bukovinai), valamint a nyugati (dunántúli) populációk között jelentős mér-

tékű a differenciálódás (*1a ábra*). Ezt támasztotta alá a főkomponens-analízis eredménye is, ahol az első tengely mentén, ami a teljes genetikai variancia 66,8%-át magyarázta, egyértelműen elkülönült a két populációcsoportot jelképező pontfelhő (*1b ábra*). A Bayes-féle klaszteranalízis (Pritchard et al., 2000) eredménye azt mutatta, hogy két genetikai klaszter megléte a legvalószínűbb a vizsgált mintákban: az 1. klaszter a dunántúli populációkban volt jellemző, míg a 2. klaszter a keletiekben (Erdély és Bukovina). Az erdélyi és a bukovinai populációk genetikai különbsége akkor tárult fel, amikor azt tételztük fel, hogy három genetikai klaszter van jelen a populációkban. Ebben az analízisben a három régiót egy-egy specifikus klaszter túlsúlya jellemezte. Érdekes módon, a dunántúli egyedekben az erdélyi genetikai állomány jelent meg szórványosan, míg a bukovinai alig. Ugyanakkor, mind az erdélyi, mind pedig a bukovinai régió egyedei kölcsönösen nagyobb mértékű keveredést mutattak. Eredményeink megfeleltek a faj elterjedési területe alapján kialakított hipotézisünknek. A sötét hangyaboglárka elterjedési területe ugyanis regionálisan megszakított, amennyiben a



1. ábra • A *Maculinea nausithous* populációk genetikai struktúrája • A: UPGMA-dendrogram. B: A főkomponens-analízis eredménye. TRD: Dunántúl; TRY: Erdély; BUK: Bukovina.

Kárpát-medence középső területein a faj nem fordul elő. A dunántúli populációk lényegében az elterjedési terület nyugati részének peremén, míg a bukovinai populációk a keleti területek peremén találhatóak. Az erdélyi populációk feltehetően az área keleti felének leszakadó maradványai. Úgy tűnik tehát, hogy a sötét hangyaboglárka keleti és nyugati populációi alfaji szinten különülnek el egymástól (Rákosy et al., 2010), vagyis különböző evolúciós egységeknek tekinthetők.

#### *Lápi tarkalepke (Euphydryas aurinia)*

A Kárpát-medence környéki lápi tarkalepke populációk mintái négy földrajzi régió (Szlovénia, Őrség, Közép-Dunántúl és Erdély) kilenc populációjából származtak. Összesen 281 egyedben tanulmányoztuk a variabilitás mértékét 18 enzimlokuszon. Az allélfrekvencia-adatokat különböző statisztikai analíziseknek vetettük alá. Az eredmények azonban csak részben voltak következetesen értelmezhetők. A Cavalli-Sforza- és Edwards-húrtávolságok alapján szerkesztett UPGMA-dendrogram azt mutatta, hogy az erdélyi (keleti) populáció egyértelműen differenciálódott a többtől (nyugati populációk). Ezt támasztotta alá a főkomponens-analízis eredménye is, ahol az erdélyi populáció az első tengely mentén különült el a nyugatiaktól. Ez a tengely a teljes genetikai variancia 53,7%-át magyarázta. Ugyanakkor ezekben az analízisekben nem mutatkozott egyértelmű mintázat a nyugati populációk genetikai struktúrájában. A Bayes-féle klaszteranalízisben a klaszterek legvalószínűbb száma háromnak adódott. Amikor a klaszterek eloszlását az egyedekben megvizsgáltuk, akkor kiderült, hogy az erdélyi populációra a 3. klaszter a jellemző (97%), ezekben az egyedekben a másik két klaszter alig fordult elő. Ez az eredmény arra enged

következtetni, hogy a nyugati populációk egyedei gyakorlatilag nem keveredtek az erdélyiekkel. A dunántúli és a szlovéniai populációkban viszont az 1. és 2. klaszter változó gyakorisággal jelent meg. Az Őrségi és a szlovéniai populációkra elsősorban az 1. (66,2%), míg a közép-dunántúliakra a 2. klaszter (78,4%) volt jellemző. A lápi tarkalepke európai elterjedése annyiban hasonlít a sötét hangyaboglárkáéhoz, hogy ennek a fajnak az elterjedésében is jelentős hiátus tapasztalható a Kárpát-medence belső részén. A szlovéniai, az Őrségi és a közép-dunántúli populációk az área nyugati részének peremén helyezkednek el, míg az erdélyi populáció a keleti área leszakadt szigetének tekinthető, bár összekötetése még nem világos. Ehhez a kelet-balkáni populációk vizsgálata volna szükséges.

Az enzim polimorfizmus vizsgálatának eredményei megfeleltek a faj elterjedési területe alapján várt differenciálódási mintázatnak, megmutatták az erdélyi és a nyugati populációk elkülönülését. Ám annak eldöntéséhez, hogy a differenciálódás mértéke alapján a keleti és a nyugati populációk önálló evolúciós egységeknek (alfajoknak) tekinthetők-e, több minta volna szükséges elsősorban a faj áreajának keleti-délkeleti részéből, például a Balkán-félszigetről. Érdekes viszont, hogy a genetikai klaszterek alapján az Őrségi és szlovéniai, valamint a közép-dunántúli populációk között jelentős differenciálódást tapasztaltunk. További vizsgálatokra, esetleg további markerekkel történő analízisekre lenne szükség annak kimutatására, hogy a két földrajzilag meglehetősen közeli régió populációi tekinthetők-e különböző konzervációs egységeknek.

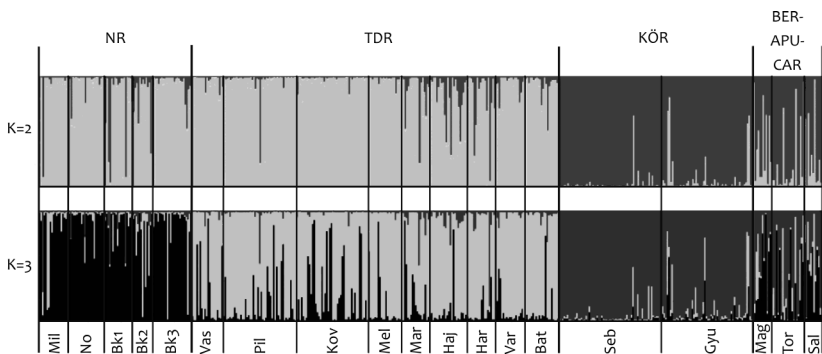
#### *Kis apollólepke (Parnassius mnemosyne)*

A kis apollólepke mintákat a Kárpát-medence öt régiójának (Dunántúli-középhegység,

Északi-középhegység, Körös-vidék, Beregi-sík és Erdélyi-szigethegység) tizenkilenc populációjából gyűjtöttük. Az 501 egyedben tizennégy enzimlökuszon határoztuk meg az allélok eloszlását. Az allélfrekvencia-adatok alapján Cavalli-Sforza- és Edwards-húrtávolságokat számítottunk, majd a távolságmátrix segítségével UPGMA-dendrogramot szerkesztettünk. Meglepő módon, a dendrogram csak a Körös-vidék két populációjának elkülönülést mutatta. Ugyanakkor a főkomponens-analízisben az első két tengely mentén négy régió differenciálódott egymástól: a Dunántúli-középhegység, Északi-középhegység, Körös-vidék és Beregi-sík + Erdély. Ez a két tengely a genetikai variancia 42,9%-át magyarázta.

A kis apollólepke-populációk genetikai struktúrája azonban a Bayes-féle klaszteranalízisben vált egyértelművé. A genetikai klaszterek legvalószínűbb száma kettő volt. A két klaszter egyedekben való megoszlása alapján három régió rajzolódott ki (2. ábra): az Északi- és a Dunántúli-középhegység egyedeiben az 1. klaszter volt szinte kizárólagosan jelen, a Körös-vidéket a 2. klaszter döntő túlsúlya jellemezte, míg a Beregi-sík és Erdély-régió-

ban a két klaszter 70–30%-os megoszlást mutatott. Megvizsgáltuk azt a lehetőséget is, hogy a populációkat három genetikai klaszter alkotja, aminek a valószínűsége még szintén magas volt. A három klaszter feltételezése a differenciálódás mintázatát annyiban tette világosabbá, hogy (1) az Északi- és a Dunántúli-középhegység populációit különböző klaszterek jellemezték; (2) a Beregi-sík és Erdély-régióban az Északi-középhegységet jellemző 1. klaszter, és a Körös-vidéket alkotó 3. klaszter keveredését figyeltük meg. Eredményeink jó egyezést mutattak Paolo Gratton és munkatársai (2008) tanulmányával, akik a mtDNS-szekvenciaadatok alapján azt feltételezték, hogy Közép-Európa keleti részét a *P. mnemosyne* két fő irányból, az Alpok DK-i pereme, illetve a Keleti-Kárpátok felől népesítette be. Munkájukból kitűnik, hogy a Kárpát-medence benépesítésében egyértelműen az utóbbi irányból történő volt a meghatározó. Ez a genetikai ág is kettős tagolódást mutat. Keleti ága a Keleti-Kárpátok felől nyomult be Erdélybe és a Kárpát-medence keleti területeire, míg a nyugati ág a Déli-Kárpátok megkerülésével jutott a Kárpát-medence középső és nyugati terüle-



2. ábra • A Bayes-féle klaszteranalízis eredménye: a klaszterek megoszlása az egyedekben • K: klaszterek száma; NR: Északi-khg.; TDR: Dunántúli-khg.; KÖR: Körös-vidék; BER-APU-CAR: Beregi-sík, Erdélyi-szigethegység, Keleti-Kárpátok

teire, majd ez az alág népesítette be Észak-Európa jelentős részét is. Az általunk talált két genetikai klaszter valószínűleg azonos a Gratton és munkatársai által leírt kelet-európai ág nyugati és keleti alágaival. Ezt a feltételezést alátámasztja az is, hogy a középhegységi populációk (1. klaszter) esetében a Mantel-teszt nagyon szoros korrelációt ( $R=0,524$ ;  $P<0,001$ ) mutatott a genetikai és a földrajzi távolságok között, ami egyértelmű bizonyítéka annak, hogy ezeknek a populációknak a genetikai struktúráját a távolsággal arányos izoláció jellemzi. Bár eszerint a Kárpát-medencei *P. mnemosyne* populációk egy evolúciós egységet alkotnak, a Bayes-féle klaszteranalízis eredményei alapján elkülönülő három régiót mindenképpen önálló konzervációs egységnek kell tekintenünk.

#### *A szürkés hangyaboglárka nedvesréti ökotípusa (Maculinea alcon)*

A hangyaboglárkák sajátos életmenettel jellemezhető nappali lepkék. A nőstények speciális tápnövényekre rakják petéiket. A kikelő hernyók eleinte a tápnövény fejlődő magjaival táplálkoznak, majd az éretlen termésekből kipotyogva várják, hogy különböző *Myrmica*-fajok felfedezzék és adoptálják őket. Sikeres adoptálás esetén a hernyók a specifikus hangyagazdák fészkeibe kerülnek, és ott fejlődnek tovább, valamint ott is bábóznak be. A vizsgálatokban használt szürkés hangyaboglárka minták hat földrajzi régió (Kiskunság, Mátra, Zempléni-hg., Szatmári-sík, Beregi-sík és Erdély) kilenc populációjából származtak. Az enzim polimorfizmust 386 egyedben, tizenhat lokuszon tanulmányoztuk. A Bayes-féle klaszteranalízisben a klaszterek legvalószínűbb száma háromnak adódott. A klaszterek megoszlása alapján három „genetikai régió” mutatkozott: Zempléni-hg.

(3. klaszter: ~70%), Fülesd (Szatmári-sík; 2. klaszter: ~70%) és a viszonylag heterogén Kiskunság–Mátra–Beregi-sík–Erdély csoport (1. klaszter: ~50%). Ha megvizsgáljuk, hogy mi kapcsolhatja össze az egyes genetikai régiók populációit, akkor azt tapasztaljuk, hogy a fő hangyagazda a különböző „genetikai régiók” között eltér: a zempléni *M. alcon* populációk elsődlegesen a *My. vandelit* parazitálják, a fülesdi populáció fő hangyagazdája a *My. slovacica*, míg a harmadik régióban a szürkés hangyaboglárka túlnyomórészt a *My. scabrinodis* fészkekben fejlődik.

A *M. alcon* hernyók a hangyagazda fészkeiben kakukkfióka módjára élnek, vagyis hangyalárvaként viselkednek. Így a dolgozók etetik és gondozzák őket. Ehhez alapvetően az szükséges, hogy a hernyók mimikrije (hangyalárvák szagának, hangjának utánzása) nagyon pontos legyen, vagyis kritikus a lokális adaptáció. Feltételezhetjük tehát, hogy a különböző hangyagazdát hasznosító populációk adaptációja eltérő, azaz közöttük divergens szelekció hatott. Ennek eredménye úgy nyilvánul meg, hogy az ilyen hatásnak kitett lókuszon a differenciálódás szintje magasabb, mint azokon, amelyeken csak véletlen hatások (genetikai sodródás) érvényesülnek. Amikor a 16 vizsgált enzimlókuszt között olyanokat kerestünk, amelyek kiugró differenciálódást mutatnak, azt tapasztaltuk, hogy négy lókuszt esetében (*Acon*, *Est*, *Hk* és *Mdh*) a véletlen hatások alapján várhatóanál szignifikánsan ( $P<0,05$ ) magasabb volt a differenciálódást jellemző érték (fixációs index:  $F_{ST}$ ). Különösen figyelemre méltó, hogy a Bayes-féle analízisben kimutatott három klaszterben ezen a négy lókuszon találtunk klaszterspecifikus allélokat. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a vizsgált *M. alcon* populációk egy evolúciós egységet alkottak, ugyan-

akkor a különböző hangyagazdát használó populációk, melyek között genetikai és ökológiai differenciálódást is tapasztaltunk, önálló konzervációs egységeknek tekinthetők.

### Kitekintés

Az egyes fajok genetikai struktúráját számos tényező kölcsönhatása alakítja ki. A fajok életmenete, szaporodási struktúrája és demográfiai jellemzői mind meghatározzák a szelekciós folyamatok és a véletlen hatások genetikai következményeit. Az elterjedési terület földrajzi jellemzői, a populációk elterjedési akadályainak helye és hatékonysága pedig a génáramlás intenzitását befolyásolják. Ezen a folyamatokon túlmenően a fajok történetisége, jégkorszaki refúgiumaik száma és helye, valamint a jelenlegi áréjük kialakulásához vezető benépesedési utak mind hatással voltak és vannak a genetikai differenciálódás (ESU) és a benépesített élőhelyekhez való alkalmazkodás (CU) mintázatára. A

fenti esettanulmányok is világosan mutatják, hogy a fajok genetikai struktúrája nagyon is különböző lehet. Ezért a gyakorlati természetvédelmi munkában különösen fontos, hogy a veszélyeztetett fajok védelmére kidolgozott programokat populációgenetikai vizsgálatok eredményei alapján is megalapozottá tegyék.

Az eredmények nem születhettek volna meg Mester Valéria laboratóriumi munkákban nyújtott segítségével nélkül. A minták begyűjtésében több kolléga is részt vett: Ilonczai Zoltán, Kozma Péter, Peregovits László, dr. Szabó Sándor és dr. V. Sipos Julianna. A kutatást a MacMan EU FP6 projekt, az NKFP-3 B/023/2004, az OTKA T030528, és K84071 pályázatok támogatták.

Kulcsszavak: *evolúciósan szignifikáns egység, konzervációs egység, zanótboglárka, lápi tarkalepke, lápi hangyaboglárka, kis apollólepke*

### IRODALOM

Crandall, Keith A. – Bininda-Emonds, O. R. P. – Mace, G. M. – Wayne, R. K. (2000): Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution*. 15, 290–295. doi:10.1016/S0169-5347(00)01876-0 • <http://www.environment.ucla.edu/cTR/research/ConGen/Crandall-TREE-evo-process-2000.pdf>

Gratton, Paolo – Konopinski, M. K. – 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. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2008.03901.x

Moritz, Craig (1994): Defining Evolutionarily-significant-Units for Conservation. *Trends in Ecology & Evolution*. 9, 373–375. • [http://www.dna.ac/filogeografia/PDFs/conserv/Moritz\\_94\\_ESUs\\_conservation.pdf](http://www.dna.ac/filogeografia/PDFs/conserv/Moritz_94_ESUs_conservation.pdf)

Pritchard, Jonathan K. – Stephens, M. – Donnelly, P. (2000): Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*. 155, 945–959. • <http://www.genetics.org/content/155/2/945.full.pdf>

Rákósy László – Tartally, A. – Goia, M. – Mihali, C. – Varga, Z. (2010): The Dusky Large Blue – *Maculinea nausithous* (Bergsträsser, [1779]) in the Transylvanian Basin: New Data on Taxonomy and Ecology. *Nota Lepidopterologica*. 33, 31–37. • [http://www.bio.ku.dk/forskning/oe/cse/media/Rakosy\\_et\\_al\\_NotaLepi\\_2010.pdf](http://www.bio.ku.dk/forskning/oe/cse/media/Rakosy_et_al_NotaLepi_2010.pdf)