

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**Taxonómiai és filogenetikai vizsgálatok
Palearktikus Charipinae (Hymenoptera,
Figitidae) fajokon**

Fülöp Dávid

Témavezető: Dr. Melika George

Belső konzulens: Dr. Péntes Zsolt

SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

MTA SZBK Genetikai Intézet

Szeged

2013

Bevezetés

A Charipinae alcsalád (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae) egyike a problémás hártvány szárnyú csoportoknak. Tagjainak taxonómiai helyzete és a taxon elnevezése leírásuk óta többször is változott. Ennek okát a kutatók az állatok kis méretében, speciális életmódjában (koinobiont endohiperparazitoid), illetve az ennek köszönhető morfológiai egyszerűségükben látják. Az alcsaládot korábban 3 tribusra bontották, ezek monofiletikus volta manapság vitatott. Ezek közül egy, a Protocharipini kihalt. Az egykori Alloxystini tagjai levéltetű hiperparazitoidok a levéltetvesző-fürkészek (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) és a tetűrontó-fürkészek (Hymenoptera: Chalcidoidea: Aphelinidae) alcsaládokon keresztül, míg az egykori Charipini nemzetség tagjai levélbolhák (Psyllidae) hiperparazitoidjai a szívárvány-fürkészek (Hymenoptera: Chalcidoidea: Encyrtidae) családján keresztül. Az alcsaládnak mintegy 288 leírt faja ismert, melyből jelenleg 175 valid. A példányok meghatározására szolgáló utolsó összefoglaló mű 1910-ben született, ezt követően csak szűkebb földrajzi területek faunáját, illetve az újonnan leírt fajok listáját tartalmazó művek jelentek meg, illetve két revízionálatlan világcatalógus.

Az alcsalád testvércsoportja sem ismert. Az irodalmi adatok egymásnak gyakran ellentmondóak. A nemek elkülönítésére ugyanakkor több kulcs áll a rendelkezésre.

A fajok elkülönítését alapvetően két dolog nehezíti meg. Egyrészt a fajleírásokban kevés karaktert alkalmaznak, másrészt ezek a karakterek gyakran szerzőnként is eltérőek. A régebbi fajleírások gyakran színezetbeli eltéréseken alapulnak, melyek a legtöbb esetben nem megbízhatóak. A fajokban leggazdagabb genus az *Alloxysta* fajokra történő felosztására két egymásnak ellentmondó koncepció létezik. Az egyik, Fergusson nevével jelzett irányzat szerint viszonylag kevés, morfológiailag variábilis fajt lehet elkülöníteni, melyek kevésbé köthetőek egy bizonyos gazdához. A másik, Evenhuis és társszerzői által követett irányzat szerint sokkal több faj tartozik a genusba, melyek egymástól nagyon nehezen elkülöníthetőek, viszont erősen gazdaspecifikusak.

A taxonómiai problémák megoldására azért lenne szükség, mert az idetartozó fajok mezőgazdaságilag fontos kártevők elleni biológiai védekezésben játszhatnak fontos szerepet, illetve ezen kártevők táplálkozási hálózatának ökológiai modellezésében modellállatok. A bizonytalan identifikációból adódó problémák viszont megnehezítik a vizsgálatok eredményeinek az értékelését.

Célkitűzések

A kutatásaink célja a problémás felosztású és besorolású Charipinae alcsalád filogenetikai vizsgálatának a megalapozása. Ennek érdekében egy molekuláris alapon becsült törzsfán térképeztük az alcsalád rendszerezésében használt morfológiai karaktereket. A metrikus karakterek alkalmasságát a fajok elkülönítésére többváltozós statisztikai módszerrel vizsgáltuk.

Alkalmazott módszerek

Mintavétel

A morfológia vizsgálatokban használt példányok múzeumi gyűjteményekből, míg a filogenetikai és morfometriai vizsgálatokba bevont egyedek terepi fűhálós és sárga tálcspadás gyűjtésekből származnak, Magyarország két pontjáról. A gyűjtött anyag tárolása (~150 egyed) további feldolgozásig 96%-os alkoholban - 20°C-on történt. A gyűjtött példányokból a DNS kivonás után a morfológiai és morfometriai vizsgálatokhoz kanada-balzsamos mikroszkópos preparátumokat készítettünk Prinsloo módszerével.

Morfometria

A metrikus karaktereket, mint a csápízek hossza, szélessége, valamint a szárnyerek hossza, főkomponens analízissel (PCA) teszteltük PAST program segítségével.

Molekuláris filogenetika

Valamennyi számunkra szemmel elkülöníthető egyedből DNS-t izoláltunk, ügyelve arra, hogy a feltételezett fajokból lehetőleg több mintánk is legyen. Az állatok utótestéből az irodalomban közölt chelex-módszerrel DNS-t izoláltunk. A mitokondriális COI citokróm-oxidáz I (COI) 658 bázispárnyi, míg a magi rDNS (28S D2) 565 bázispárnyi szakaszát szaporítottuk fel. A tisztított PCR termékeket mindkét irányból megszekvenáltattuk.

A magi szakaszt kézzel illesztettük a másodlagos szerkezetre való tekintettel az irodalomban ismertetett eljárást követve, míg a COI illesztése Promals programmal történt. A szekvenciák jellemzésére a DAMBE illetve a MEGA5 programokat használtuk. A COI szekvenciák alapján p genetikai távolságot számoltunk.

Az egyértelműen nem illeszthető D2 régiókat kivágtuk a szekvenciákból, de mivel a variábilis helyek jelentős része esett ebbe a régióba a kiértékelés során simple gap coding” módszerrel kódoltuk őket, és mint restriktív mintázatot vettük figyelembe. A törzsfa becslésére távolság, likelihood valamint bayesi alapú módszereket használtunk. A rekonstrukció során használt evolúciós

modelleket a jModelTest illetve MrModeltest programokkal becsültük. A legjobban illeszkedő modellek a D2 régiók esetén F81+G (loop) doublet (stem) a COI régiók esetén GTR+I+G (teljes) HKY+I (1. és 2. kodon) GTR+G (3. kodon) voltak. A bayesi alapú partícionált elemzésben (MrBayes) (COI kodon pozíciók, 28S D2 gap, stem, loop) az alapértelmezett priorokat alkalmaztuk.

Karakter térképezés

A karakterek elnevezésére Magyarországon elsőként a Hymenoptera Anatomy Ontology (HAO) nomenklatúrát alkalmaztuk, az egyértelműség, és más publikációkkal való összevethetőség érdekében. Az irodalomból vett morfológiai karaktereket (39) bayesi alapú partícionált elemzéssel becsült törzsfán térképeztük Mesquite programcsomag StochChar programjának a segítségével. Likelihood-alapú módszert használtunk és Mk1 ("Markov k-state 1 parameter") modellt, melyben az egy paraméter a változás rátája és minden változás valószínűsége azonos.

Eredmények, értékelés

Morfometria

- Két eltérő haplotípusú egyed szárnyereiben asszimetriát fedeztünk fel.

- A PCA analízis során a varianciák túlnyomó többsége (70-90%) az első tengelyre esik. Ez megfelel azon irodalmi adatoknak, mely szerint a morfometriai adatok háttérében egy, a nagysággal összefüggő háttérváltozó áll.
- Sem az 1. és 2., sem a 2. és 3. tengely alapján nem tudunk a haplotípusoknak megfelelő csoportokat elkülöníteni.
- Az eredmények alapján a morfometriai bélyegeket nem tartjuk a fajok elkülönítésére alkalmas karakternek.

Molekuláris filogenetika

- A kiértékelébe bevont 53 egyed COI szekvenciái 41, 28S D2 szekvenciái 17 haplotípusba tartoztak.
- A *Phaenoglyphis* egyedekben a COI szekvenciák 6 bp-ral rövidebbek.
- A genusokon belüli átlagos p genetikai távolság a COI régió alapján az *Alloxysta* genusban 0.105, míg a *Phaenoglyphis* genusban valamivel magasabb 0.126. A két genus közötti átlagos távolság 0.128, ugyanakkor a két nem fajai közötti genetikai távolság kisebb lehet, mint az azonos nembe tartozó fajok között.
- A kapott filogenetikai fák egymással kongreuensek voltak.

Karakter térképezés

- A vizsgált 39 morfológia karakterből a mintáinkban 13 volt variábilis:
 - az elülső pontszem relatív helyzete
 - a fej alakja előlnézetben
 - Pedicel (nőstény)
 - Transfacial line
 - Hypostoma
 - Pronotal carinae
 - Processes behind submedian pronotal depression
 - Apex of scutellum
 - Propodeal carina
 - R1 ér
 - Rs ér hossza
 - M, Cu1a és M+Cu1a erek
 - Rs+M vein
- Vizsgálataink alapján a variabilitást mutató karakterek homopláziára hajlamosak, ezért külön-külön nem alkalmasak monofiletikus csoportok elkülönítésére, így a morfológiai alapú filogenetikai vizsgálatokban körültekintően kell vele kezelni őket. A fajleírásoknak a jelenleginél jóval több karakteren kell alapuljanak.
- A karakterek kombinációjával a fajok elkülöníthetőek. Eredményeink a Fergusson-féle fajkonceptiót támogatják.

Közlemények jegyzéke:

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

Paretas-Martínez, Jordi; Arnedo, Miquel A.; Melika, George; Selfa, Jesús; Seco-Fernández, Maria Victoria; **Fülöp, David**; Pujade-Villar, Juli (2007): Phylogeny of the parasitic wasp subfamily Charipinae (Hymenoptera, Cynipoidea, Figitidae). *Zoologica Scripta*, 6 (2): 153-172(20) IF: 2.364

Juli Pujade-Villar, Jordi Paretas-Martínez, Jesús Selfa, Maria Victoria Seco-Fernández, **David Fülöp**, George Melika (2007): *Phaenoglyphis villosa* (Hartig 1841) (Hymenoptera: Figitidae: Charipinae): a complex of species or a single but very variable species? *Annales de la Société Entomologique de France* 43 (2): 169-179. IF: 0.823

Fülöp D., Melika G., Bechtold M., Bozsó M. (2010): Checklist of charipines of Hungary (Hymenoptera, Figitidae: Charipinae). *Folia Entomologica Hungarica*, 71. IF: -

Pujade-Villar J, **Fülöp D**, Paretas-Martínez J, Melika G (2011): First record of *Phaenoglyphis villosa* (Hartig, 1841) from Korea (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae: Charipinae). *ORSIS* 25: pp. 141-146. IF: -

Fülöp, D., Mikó, I., Seltmann, K., Péntes, Zs., Melika, G. (2013): *Alloxysta chinensis* a new Charipinae species from China (Hymenoptera, Figitidae). *Zootaxa* 3637 (3):394-400 IF: 0.927

Egyéb közlemények:

Fülöp D. (2002): Habrocerinae and Tachyporinae (Coleoptera: Staphylinidae) from the Fertő-Hanság National Park – *In: Mahunka S. (eds.): The fauna of the Fertő - Hanság National Park, Hungary, Hungarian Natural History Museum, Budapest, 413-415.*

Fülöp D. (2005): Rove beetles (Coleoptera: Staphylinidae) of the Tisza valley – *In Gallé L. (eds.): Vegetation and Fauna of Tisza River Basin I, Tiscia Monograph Series, Szeged, 95-147.*

Melika, G., Choi, J-Y., Pujade-Villar, J. Péntes, Zs., **Fülöp, D.** (2007): A new species of cynipid inquiline of the genus *Ufo* Melika & Pujade-Villar, 2005 from Korea (Hymenoptera: Cynipidae: Synergini) – *The Journal of Asia Pacific Entomology* 10(3): 197-200.

Szél Gy., Retezár I., Bérces S., Szabó K., **Fülöp D.**, Péntes Zs (2007): Magyarország futrinkái. – *In: Forró L. (szerk.): A Kárpát-medence állatvilágának kialakulása: a Kárpát-medence állattani értékei és faunájának kialakulása.* Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest, 81-106.

Bérces S., Szél Gy., Ködöböcz V., Kutasi Cs., Szabó K., **Fülöp D.**, Péntes Zs., Peregovits L. (2007): A magyar futrinka. – *In: Forró L. (szerk.): A Kárpát-medence állatvilágának kialakulása: a Kárpát-medence állattani értékei és faunájának kialakulása.* Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest, 107-124.

Merkl O., Szabó K., **Fülöp D.**, Bozsó M., Máté A., Peregovits L., Soltész Z., Somogyi K., Péntes Zs. (2007): A pusztai gyalogcincér: taxonómiai helyzet, molekuláris genetikai és morfológiai vizsgálatok, elterjedés, életmód, természetvédelmi vonatkozások – *In: Forró L. (szerk.): A Kárpát-medence állatvilágának kialakulása: a Kárpát-medence állattani értékei és faunájának kialakulása.* Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest, 125-132.

Melika G., Péntes Zs., Mikó I., Bihari P., Ács Z., Somogyi K., Bozsóki Z., Szabó K., Bechtold M., Fári K., Fehér B., **Fülöp D.**, Csóka Gy., Stone, G. N. (2007): A Kárpát-medence tölgy gubacsdarázs faunájának kialakulása – *In: Forró L. (szerk.): A Kárpát-medence állatvilágának kialakulása: a Kárpát-medence állattani értékei és faunájának kialakulása.* Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest, 165-174.

G. Melika, M. Tavakoli, S.E. Sadeghi, Z. Péntes, **D. Fülöp**, M.A. Assareh, R. Atkinson, M. Bechtold, I. Mikó, M. R. Zargaran, D. Aligolizade, H. Barimani, F. Pirozi, R.J. Challis & G.N. Stone (2008): New Species of Oak Gallwaps from Iran (Hymenoptera: Cynipidae: Cynipini) – *Zootaxa* 1699:1-64. IF: 0.740

Fülöp D., Rudner J. (2008): Ground beetles (Coleoptera: Carabidae) of the Tisza Valley, Hungary. – *In Gallé L. (eds.): Vegetation and Fauna of Tisza River Basin II.*, Tiscia Monograph Series, Szeged, 45-132

Zsolt Péntes, George Melika, Zoltán Bozsóki, Péter Bihari, István Mikó, M Tavakoli, Juli Pujade-Villar, Balázs Fehér, **Dávid Fülöp**, Krisztián Szabó, Miklós Bozsó, Botond Sipos,

Kálmán Somogyi, Graham N. Stone (2009): Systematic re-appraisal of the gall-usurping wasp genus *Synophrus* Hartig, 1843 (Hymenoptera: Cynipidae: Synergini) – *Systematic Entomology*, 34 (4): 688-711. IF: 2.467

Melika G, Pujade-Villar J, Stone GN, **Fülöp D**, Péntes Z (2009): New species of cynipid gallwasps of the genus *Plagiotrochus* Mayr, 1881 from Nepal and Jordan *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 55 (3) 263-274
IF: 0.514

Összesített IF: 7,835