Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Taxonómiai és filogenetikai vizsgálatok a palearktikumi *Saphonecrus* Dalla Torre & Kieffer tölgy gubacs inquilin fajokon (Hymenoptera: Cynipidae, Synergini)

Bozsó Miklós

Témavezető: Dr. Melika George
Belső konzulens: Dr. Pénzes Zsolt

SZTE TTIK Környezettudományi Doktori Iskola

Szeged

2015

Bevezetés

A tölgygubacsok egy jellegzetes, viszonylag zárt élet-közösséget rejtenek, amelyben a gubacsképző lárváján kívül társbérlők, parazitoidok és hiperparazitoidok is élhetnek. Ezek közül a legkevésbé kutatott és ismert trofikus szint a társbérlők szintje. Ennek egyik oka az lehet, hogy a Synergini fajok határozása nehéz feladat. A Synergini tribus hozzávetőleg 186 fajt számlál (kutatásaink során további 4, újonnan leírt *Lithosaphonecrus* fajjal bővült), melyből 48 a Nyugat-Palearktikumban is megtalálható. Számos filogenetikai és taxonómiai kérdés tisztázatlan a társbérlőkkel kapcsolatban, melyek megválaszolásához molekuláris filogenetikai elemzésre is szükség lehet a morfológiai alapú vizsgálatok mellett. Gubacsdarazsak esetén gyakran használt molekuláris markerek a magi 28S D2 lokusz, valamint a mitokondriális citokróm oxidáz I alegység (COI).

Jelenleg a molekuláris filogenetikai bizonyítékok arra utalnak, hogy a Synergini tribus nem monofiletikus, hanem az Aylacinin belül egymástól függetlenül kialakult 3 leszármazási vonalra osztható: (1.) a rózsafélékhez kötődő *Synophromorpha-Periclistus* csoport, (2.) a tölgyhöz kötődő *Ceroptres* génusz és (3.) a Synergus-komplex, amely a szintén tölgyhöz kötődő *Synophrus, Saphonecrus* és *Synergus* génuszokból, valamint az Afrikában *Rhus* fajokon élő *Rhoophilus* génuszból áll.

A fajok Synergus-komplexumán belül végzett legutóbbi filogenetikai elemzések támogatják a nagy fajszámú *Synergus* és a kisebb *Synophrus* génuszok monofiletikus jellegét, míg a *Saphonecrus* génusz monofiletikusságát cáfolják. Ezeket az eredményeket támogatják azok a komplexumot érintő legújabb

filogenetikai elemzések is amelyek dolgozatom tárgyát képezik.

Célkitűzések

Munkámban célul tűztem ki a Synergus komplexumhoz (*Agastoroxenia, Ceroptres, Saphonecrus, Synergus, Synophrus* és *Ufo*) tartozó *Saphonecrus* és „Saphonecrus-közeli" csoportok új rendszertanának felállítását, a csoport új génuszának – *Lithosaphonecrus* – a hozzá tartozó típus fajnak, illetve a génuszba sorolt négy új fajának a leírását és azonosítását. Célom volt, hogy igazoljam a *Saphonecrus* génusz filogenetikai vizsgálatának szükségességét, testvér csoportjainak (sister groups) megállapítását, a közelálló génuszokhoz (*Ufo, Synophrus, Synergus*) kötődő filogenetikai kapcsolatait és felvázoljam a *Saphonecrus*-hoz tartozó fajok/fajcsoportok trofikai – gazdaállat és gazdanövény – kapcsolatainak egy lehetséges változatát.

Alkalmazott módszerek

Mintavétel

A vizsgálatban használt darázs egyedek 2008-2012 között Oroszország, Japán, Kína és Tajvan különböző régióiban frissen begyűjtött gubacsokból a kutatásban résztvevő laborok (University of Edinburgh (Egyesült Királyság), National Chung Hsing University (Taichuing, Tajvan)) egyikében inszektáriumokban lettek kinevelve. A frissen kibújt kifejlett

darazsakat további vizsgálatukig 96%-os etanolban tárolták. A gubacsokat elhelyezkedésük alapján a következő kategóriákba soroltuk: a) csúcsrügyön vagy oldalrügyön található (rügygubacs); b) fiatal hajtáson található (szárgubacs); c) a levélerek mentén, a levélnyélen vagy a levélalapon található (levélgubacs); d) a hím virágzaton fejlődő (barkagubacs).

Molekuláris filogenetika

Vizsgálatunkhoz a nukleáris 28S D2 és a mitokondriális citokróm oxidáz I alegységét (COI) választottuk ki markereknek, mivel ezekkel volt lehetőségünk eredményeinket mások eredményeivel összevetni. A gubacsdarázs-alkatúak között bevált módon, a felnőtt egyedek 1-1 lábából az irodalomból ismert chelex protokollt követve vontuk ki a DNS-t.

A mitokondriális COI citokróm-oxidáz I (COI) 619 bázispárnyi, míg a magi rDNS (28S D2) 596 bázispárnyi szakaszát szaporítottuk fel. A tisztított PCR termékeket mindkét irányból megszekvenáltattuk. Elemzésünbe korábbi tanulmányokban szereplő egyéb *Synergus* és *Synophrus* fajok szekvenciáit is bevontuk így a végleges adatsorunk összesen 50 taxon szekvenciáit tartalmazta.

A szekvenciákat Muscle 3.6 szoftverrel, alapértelmezett beállításokkal illesztettük egymáshoz. Filogenetikai rekonstrukciónk során az evolúciós modellek becslése a MrModeltest 2.3 programmal történt. Az adatokra legjobban illeszkedő modellek kiválasztásánál az AIC értékeket vettük figyelembe. A filogenetikai becslést Bayes módszerrel végeztük a MrBayes 3.2.1 szoftver segítségével. Ebben az elemzésben a COI szekvencia kodon pozícióit (1.2.,3. kodon pozíció) és a teljes 28S D2 szekvenciát különálló partíciókként

értelmeztük amelyek tehát végeredményben négy adat partíciót eredményeztek. MCMC elemzésünk során az összes partíció esetében a GTR+G evolúciós modellt használtuk.

Morfológia

Az inquilin darázs fajok morfológiájának leírása során a korszerű, cynipidákkal foglalkozó tanulmányok terminológiáját követtük. A dolgozatban szereplő, a darazsak anatómiáját szemléltető fotók Leica DMLB sztereomikroszkópra rögzített Nikon Coolpix 4500 digitális fényképezőgéppel készültek, majd a rétegeket CombineZP (Alan Hadley) szoftverrel illesztettük egymáshoz. A fotók további szerkesztéséhez az Adobe Photoshop 6.0 programot használtuk.

Eredmények, értékelés

A molekuláris filogenetikai és morfológiai elemzések kombinált eredményei

- A kiértékelésbe bevont 55 egyed COI szekvenciái 32, 28S D2 szekvenciái 23 haplotípusba tartoznak.
- A kapott génfák egymással kongruensek voltak.
- Munkánk eredményeként a kombinált fajfán három fő kládot, azon belül is nyolc *Saphonecrus* szubkládot tudtunk elkülöníteni, utóbbiak poszteriori valószínűsége minden esetben meghaladta a 0,68-ot.
- A *Synoprhus* fajok testvércsoportjának tekinthető *Saphonecrus barbotini* és *S. gallaepomiformis* fajokat a filogenetikai vizsgálat eredményei, morfológiai

tulajdonságaik, életmódjuk és elterjedésük miatt célszerű lenne egy újonnan felállított génuszba átsorolni.

- *A Saphonecrus connatus* fajt is magában foglaló „connatus” leszármazási vonal a Quercus szubgénusz Quercus szekciójának asszociálódott, keleti elterjedésű *Callirhytis hakonensis* gubacsdarázs fajhoz kapcsolódó két Kelet-Palearktikus, jelenleg leírás alatt álló fajt is tartalmaz ami alátámasztja a csoport Transz-Palearktikus elterjedését. Feltételezhetően ez a csoport a Synergus – komplexen belül egy korán levált ősi leszármazási vonalat képvisel.
- Az általunk leírt új *Lithosaphonecrus* génusz négy faját (*L. formosanus, L. huisuni, L. dakengi, L. yunnani*) a Synergini tribus első ismert, a *Lithocarpus* nemzetséghez társuló inquilin fajainak tekinthetjük.
- a Kelet-Palearktikumban és az Orientális régióban élő, eddig még le nem írt *Saphonecrus* fajokat érintő előzetes vizsgálataink eredményeként egy másik elkülönülő kládot is azonosítottunk, melynek tagjai szintén a *Lithocarpus* fajokhoz asszociálódtak. Ennek tagjai azonban morfológiájuk és vizsgált génszekvenciáik alapján egyértelműen elkülönülnek az általunk leírt *Lithosaphonecrus* génusztól.
- A korábban az *Ufo* génuszba sorolt *Ufo shirakashii* (Shinji) valamint *U. shirokashicola* (Shinji) fajokat *Saphonecrus shirakashii* (Shinji) és *S. shirokashicola* (Shinji) nevekkel a *Saphonecrus génuszba* átsoroltuk.
- Nem kétséges, hogy a *Saphonecrus* génusz jelenlegi határait meg kell változtatni, számos új monofiletikus génuszt kell kialakítani.

Gubacsdarázs gazda kapcsolatok

- Kvalitatívan elemeztük a tanulmányozott *Saphonecrus* egyedek, illetve a filogenetikai vizsgálatunkban korábban elkülönített kládok gubacsgazda asszociációit.
- Vizsgáltuk a gazdagubacsok 4 típusának a gazdanövényen és a leveleken elfoglalt helyzetét valamint a gubacsok felszíni mintázatát.
- A vizsgált *Saphonecrus* fajokhoz asszociálódott különböző gubacstípusok eloszlása több esetben alátámasztotta a morfológiai- és molekuláris vizsgálatokon alapuló rokonsági viszonyokat, illetve az egyes leszármazási vonalakon belül felállított alcsoportok határait.

Gazdanövény kapcsolatok

- Eredményeink a gazdanövény fajok és a hozzájuk asszociálódot inquilin *Saphonecrus* fajok független radiációjára utalnak. Erre a legszembetűnőbb példák a *Lithocarpus* nemzetséghez kötődő leszármazási vonalak.
- A Fagaceae családon belül a *Quercus* és a *Lithocarpus* génuszok, illetve a *Quercus* génuszon belüli csoportok korai szétválása nem tükröződik a vizsgált inquilin fajok törzsfejlődésében.
- A *Quercus* nemzetség Cerris szekciójára specifikus Kelet-Palearktikus *Ufo* génusz és a Nyugat-Palearktus fajokat magában foglaló „undulatus” klád a Cyclobalanopsis szubgénuszhoz asszociálódott *Saphonecrus* vonalakhoz kapcsolódik.

Közlemények jegyzéke:

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

Melika,G., Tang, C-T., Yang, M.-M., Bihari, P., **Bozsó, M**., & Pénzes, Zs. (2012**):** New species of cynipid inquilines of the genus *Ufo* Melika & Pujade-Villar, 2005 (Hymenoptera: Cynipidae: Synergini) *Zootaxa* 3478: 143–163.
Impact Factor:0,97

Bozsó, M., Tang, C.-T., Pénzes, Zs., Yang, M.-M., Bihari, P., Pujade-Villar, J., Schwéger, S. and Melika, G. (2013): A new genus of cynipid inquiline, *Lithosaphonecrus* Tang, Melika & Bozsó (Hymenoptera: Cynipidae: Synergini), with description of four new species from Taiwan and China. *Insect Systematics & Evolution* doi 10.1163/1876312X-45032116.
Impact Factor: 1,11

Bozsó, M., Pénzes, Zs., Bihari, P., Schwéger, S., Tang, C-T., Yang, M.-M., Pujade-Villar, J. and Melika, G. (2014): Molecular phylogeny of the inquiline cynipid wasp genus *Saphonecrus* Dalla Torre and Kieffer, 1910 (Hymenoptera: Cynipidae: Synergini). *Plant Protection Quarterly* 29(1), 26–31.