

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Az elevenzülő gyík (*Zootoca vivipara* Lichtenstein 1823)
filogeográfiai vizsgálata a Kárpát-medencében**

VELEKEI BALÁZS ATTILA

Sopron

2015

Nyugat-magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar
Roth Gyula Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok Doktori Iskola
Erdei ökoszisztémák ökológiája és diverzitása doktori program (E1)
Témavezető: Prof. Dr. Lakatos Ferenc, Dr. Puky Miklós

1. Bevezetés

Az elevenszülő gyík (*Zootoca vivipara* LICHTENSTEIN, 1823) intenzív kutatásának háttérében szaporodásmódja áll. A faj a jelenlegi ismeretek szerint egyike annak a mindössze három gyíkfajnak, melyeken belül tojásrakó és elevenszülő populációk is megkülönböztethetők.

A faj esetében végtelen korábbi kutatások arra engednek következtetni, hogy Közép-Európa a faj szempontjából nézve genetikailag rendkívül diverz. Ennek ellenére ezen kutatások többsége csak kevés figyelmet fordított erre a területre, aminek következtében több jelentős kérdés is nyitva maradt, valamint a faj filogeográfiai kutatásaira alapozott elterjedési térképe is több tekintetben pontatlan maradt.

A téma alapos kutatásához az alábbi célokat tűztem ki:

- I. A faj elterjedésével kapcsolatos ismeretanyag bővítése - új populációk felkutatása
- II. A faj filogeográfiai vonatkozású elterjedési térképeinek aktualizálása genetikai vizsgálatok segítségével, különös tekintettel az alábbi témakörökben:
 1. Az „F” klád (VH haplocsoport) dél-dunántúli „folyosója”
 2. Az „E” klád (VB haplocsoport) balkáni „folyosója”
 3. Egy keleti ősi (tojásrakó) - eddig ismeretlen - klád felkutatása

2. Anyag és módszer

Mintavételezés

A mintavételezés 2002 és 2012 között zajlott le és mintegy 18 populáció 161 egyedét érintette a Kárpát-medencében. Mintáink Magyarországon belül a Hanságból, a Duna-Tisza közéről és az ország északkeleti részéből, valamint Erdély közép- és magashegységi régióiból származnak.

A mintákból egy kivonás alkalmával maximum 3-4 mm-es darabokat használtam fel.

A kutatáshoz 2 mitokondriális DNS szakaszt választottunk ki.

1. Egy 429 bázispár hosszúságú fragment, mely a fehérjekódoló *citokróm b* gén 406 bázispár hosszúságú szakaszát tartalmazza, valamint ezt egy ehhez kapcsolódó Glu-tRNA 23 bázispár hosszúságú szakasz egészíti ki.
2. A nem fehérjekódoló 16s rRNS gén egy körülbelül (haplotípustól függően) 480 bázispár hosszúságú szakasza.

A DNS szekvenálást az Eurofin Laboratórium végezte el. Mindkét gén esetében egyirányos leolvasást végeztünk el. A „double peak” tartalmú szekvenciákat a további adatelemzésből kizártam.

Adatfeldolgozás

- Az egyes haplotípusok leszármazásviszonyainak meghatározása Neighbor-Joining statisztikai módszerrel, Bootstrap eljárással, Gamma eloszlás és 1000 Bootstrap ismétlés mellett készült. A begyűjtött minták filogenetikai státuszának meghatározása a GenBank adatbázisából letöltött szekvenciák segítségével történt.
- A Bayesian filogenetikai törzsfa a citokróm *b* esetében Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) modellel, Gamma eloszlással MCMC (Markov Chain Monte Carlo) analízis mellett, 100 millió generációval, 10000-es mintavételi sűrűséggel és 10%-os „Burn in”

értékkel, a 16s rRNS szakaszon Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) modellel, G+I (Gamma + Invariant sites) eloszlással MCMC (Markov Chain Monte Carlo) analízis mellett, 100 millió generációval, 10000-es mintavételi sűrűséggel és 10%-os „Burn in” értékkel készült el.

- Maximum Likelihood filogenetikai törzsfák elkészítése Bootstrap módszerrel, HKY+G szubsztitúciós modellel, 1000-szeres Bootstrap ismétlés mellett. A citokróm *b* szakaszon ugyanezen beállításokkal a „divergence time” kiszámítását is elvégeztem. Az elemzés kalibrálására a *Podarcis peloponnesiaca* és a *Podarcis cretensis* fajok divergenciájának feltételezhető idejét használtam fel.
- Median-Joining algoritmus felhasználásával *citokróm b* mtDNS haplotípus hálózatot készítettem. A hálózat létrehozásához szintén felhasználtam a korábbi kutatásokból származó haplotípusok szekvenciáját.
- A Maximum Likelihood kombinált filogenetikai törzsfát Bootstrap módszerrel, HKY+G szubsztitúciós modellel, 1000-szeres Bootstrap ismétlés mellett készítettem. A szekvenciák összeillesztésénél első helyre a citokróm *b* szakasz került.

3. Eredmények összefoglalása, tézisek

A kétezres évek első felében több nagyon részletes kutatás született a *Zootoca vivipara* filogeográfiájának témakörében, amelyek számtalan újdonságot tártak fel. Bebizonyosodott, hogy a faj több, mind filogenetikailag, mind kariológiailag, mind pedig a szaporodásmódot tekintve jól elkülöníthető kládra oszlik. A kutatások főleg a tojásrakó kládok, más esetekben pedig a kládok között esetlegesen meglévő hibridzónák tanulmányozásának irányába tolódtak el. Az egyes kutatások által sugallt meglátás, miszerint a közép-európai régió számít a genetikai értelemben legdiverzebb területnek a faj elterjedésén belül, kevés figyelmet kapott, holott új, evolúciós értelemben véve ősi klád(ok) további felfedezésének lehetőségét sem tartották kizártnak. Ezzel párhuzamosan – különösen a Kárpát-medencén belül – a már megismert kládok elterjedési területe sem volt maradéktalanul ismert, csak sejtéseken alapuló, elnagyolt térképek készültek.

Jelen vizsgálat során magyarországi területeken kiterjedt terepi kutatás zajlott le, hogy új populációk felfedezése által finomítani lehessen az ismereteken. Végül 17 kárpát-medencei és 1 Kárpátokon túli populációban zajlott mintavétel, a korábbi kutatások mintavételi helyszíneit szem előtt tartva. A magyarországi helyszíneken a Kiskőrös közelében mintázott két populáció, a Sényő és a Fülöp melletti populációk is eddig ismeretlenek voltak, míg a Dél-Dunántúlon a negatív eredménynek (egyetlen populációt sem találtunk) volt hozadéka.

A romániai mintavételi területek gondos megválasztása által sikerült megtalálni azt a filogenetikai tulajdonságai miatt ősi jellegű kládot, melynek létezését korábban is valószínűsítették.

A kiterjedt terepi, valamint a két genetikai markerrel történő laboratóriumi vizsgálatok segítségével a faj minden eddiginél pontosabb közép-európai elterjedési térképe készülhetett el.

A kutatás eredményei alapján az értekezés tézisei az alábbiak:

1. tézis: A szerző pontosította a faj magyarországi elterjedésével kapcsolatos ismereteket.

A Duna-Tisza közén a korábbi mintavételektől délebbre, Kiskőrös közelében sikerült új, eddig nem ismert populációkat találni.

Kelet-Magyarországon a Sényő és a Fülöp melletti populációk eddig ismeretlenek voltak, az utóbbi egyben a Kelet-Magyarországon ismert legdélebbre előforduló populáció.

2. tézis: Az „F” kládon belül, Kelet-Ausztriában és a Duna-Tisza közén előforduló VH haplotípusok között nincsen összeköttetés

A Dél-Dunántúlon egyetlen új populációt sem találtunk, ez összhangban van a korábbi ismeretekkel. Heulin és munkatársai (2011) földrajzi összeköttetést sejtettek a két ismert haplotípus között, amit ezáltal cáfoltunk.

3. tézis: Kelet-Magyarországon és Nyugat-Romániában nem létezik olyan „E” kládon belüli „folyosó”, amely a balkáni és a nyugat/közép-európai populációkat köti össze

Heulin és munkatársai (2011) egy olyan folyosó meglétét valószínűsítették, mely az „E” klád balkáni és nyugat/közép-európai populációit köti össze, a folyosó meglétére azonban nem sikerült bizonyítékot találni. Így kijelenthető, hogy a klád balkáni populációi a klád fő elterjedési területétől elszigeteltek.

4. tézis: A „D” klád az egész elterjedési területén belül genetikailag a Kárpát-medencében a legváltozatosabb

A vizsgált citokróm *b* génszakaszon két új haplotípust találtunk a Szemenik-hegységben és a Ciblesben. Az Erdélyben már eddig ismert 7 haplotípus így 9-re emelkedett. A Kárpátokon túl, mind északi, mind keleti irányban mindössze két haplotípus ismert.

5. tézis: Egy újabb ősi klád azonosítása

A korábbi kutatások által feltételezett új kládot a Déli-Kárpátokban lévő Fogarasi-Havasokban és Bucsecsben azonosítottuk. A filogeográfiai elemzések mindegyike mindkét vizsgált génszakaszon magas „posterior” valószínűségi és „bootstrap” értékek mellett támogatta az új klád meglétét. Az „A” klád *Zootoca vivipara carniolica* néven alfaji szintű státuszt képvisel (Mayer et al. 2000). Ez felveti az újonnan felfedezett, a *carniolica* alfajjal kb. 1,7 millió éves közös és kb. 3,4 millió éves különálló fejlődésű klád taxonómiai státuszának kérdését is.

6. tézis: A szerző az egyes kládok divergencia idejének megállapításával új evolúciós forgatókönyveket vázolt fel

Az ősi „A” és az új klád mintegy 5,1 millió évvel ezelőtt ágazott le a többi kládról. E két klád divergenciájának ideje kb. 3,4 millió év. A többi klád divergenciájának ideje kb. 3 és 4,16 millió év között található: a „B”, a „C” és az „F” klád kb. 4,16 millió évvel ezelőtt ágazott le a „D” és „E” kládokról, ez utóbbiak mintegy 3 millió évvel ezelőtt ágaztak szét.

Ezen eredmények alapján valószínűsíthető, hogy az elevenszülés nem a pleisztocénben, hanem már a pliocénben kialakult.

4. Az értekezés témájához kapcsolódó publikációk

Tudományos közlemények:

1. Velekei B., Lakatos F., Covaciu-Marcov S. D., Sas-Kovács I., Puky M. (2015): New *Zootoca vivipara* haplogroup in the Carpathians. North-Western Journal of Zoology 11: 366-368. (IF: 0,869)
2. Velekei B., Lakatos F., Bíró P., Ács É., Puky M. (2014): The genetic structure of *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) populations did not support the existence of a north-south corridor of the VB haplogroup in eastern Hungary. North-Western Journal of Zoology 10: 187-189. (IF: 0,869)

Konferencia posztterek:

1. Puky M., Tóth V., Lakatos F., Tóth M., Mester B., Bíró P., Ács É., Velekei B. (2012): Phylogeographic pattern, parasite load and fluctuating asymmetry of *Zootoca vivipara* in Hungary World Congress of Herpetology, Vancouver, Canada, 8-14 August 2012.
2. Velekei B., Tóth V., Lakatos F., Bíró P., Ács É., Puky M. (2012): Phylogeographic pattern of *Zootoca vivipara* in Hungary ConGRESS, Utilization of genetic approaches for effective conservation of endangered species. Regional Workshop, Debrecen, Hungary. March 14-16, 2012.
3. Velekei B., Tóth V., Lakatos F., Bíró P., Ács É., Puky M. (2012): Az elevenstülő gyík filogeográfia mintázata Magyarországon. III. Herpetológiai Előadótülés, 2012 március 27., Budapest
4. Velekei B., Tóth V., Lakatos F., Bíró P., Ács É., Puky M. (2012): Magyarországi elevenstülő gyík (*Zootoca vivipara* LICHTENSTEIN, 1832) populációk közötti különbségek mitokondriális DNS szakaszok alapján. IX. Magyar Ökológus Konferencia, Keszthely, 2012. szeptember 5-7.

5. Az értekezés témájához nem kapcsolódó publikációk

Konferenciaközlemények:

1. Velekei B. (2012): A sárgahasú unka (*Bombina variegata* LINNEAUS, 1758) kutatása a Soproni-hegységben In: Lakatos F., Szabó Z. (szerk.) Kari Tudományos Konferencia Kiadvány: Nyugat-magyarországi Egyetem, Erdómérnöki Kar. 315 p. Konferencia helye, ideje: Sopron, Magyarország, 2011.10.05. Sopron: NyME, 2012. pp. 280-281.
2. Velekei B. (2011): Új adatok Sopron és környékének herpetofaunájához In: Lakatos F., Polgár A., Kerényi-Nagy V. (szerk.) Nyugat-magyarországi Egyetem, Tudományos Doktorandusz Konferencia, Konferencia-kötet. 258 p. Konferencia helye, ideje: Sopron, Magyarország, 2011.04.13. Sopron: Nyugat-magyarországi Egyetem, 2011. pp. 167-172.
3. Velekei B. (2005): A fekete gólya (*Ciconia nigra*) szigetközi előfordulása In: Tamás E. Anna (szerk.) Élet a Duna-ártéren: Ember a természetben. 166 p. Konferencia helye, ideje: Érsekcsanád, Magyarország, 2005.09.23-2005.09.24. Baja: Baja Ifjúsági Természetvédelmi Egyesület, 2005. pp. 47-49.

Konferencia absztrakt:

1. Velekei B. (2011): Új adatok Sopron és környékének herpetofaunájához In: Lakatos F., Polgár A., Kerényi-Nagy V. (szerk.) Nyugat-magyarországi Egyetem, Tudományos Doktorandusz Konferencia, Konferencia-kötet. 258 p. Konferencia helye, ideje: Sopron, Magyarország, 2011.04.13. Sopron: Nyugat-magyarországi Egyetem, 2011. p. 48.

Könyvrészletek:

1. Dankovics R., Mille J., Velekei B. (2015): Kétéltűek. In Haraszthy L. (szerk.): Az Élőhely Irányelvben szereplő állatfajok elterjedési atlasza Vas, Zala és Somogy megye Natura 2000 területein. Somogy Természetvédelmi Szervezet, pp 37. – in press –
2. Rendes N., Velekei B. (2014): Kétéltűek, hüllők és a holtfa. In Batha D., Puskás L. (szerk.): A holtfa. Silva Naturalis vol. 5. pp. 121.