

**Kriptikus ágascsapú rák (Cladocera, Crustacea)  
fajkomplexek és a kistrák közösséget befolyásoló  
környezeti tényezők vizsgálata időszakos kisvizekben**

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Nédli Bernadett Judit**

Témavezető: Dr. Forró László  
Magyar Természettudományi Múzeum Állattára  
főosztályvezető

Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar  
Biológia Doktori Iskola  
A doktori iskola vezetője: Prof. Dr. Erdei Anna

Zootaxonómia, állatökológia, hidrobiológia doktori program  
Programvezető: Prof. Dr. Török János

2015

## *Előzmények*

Az időszakos vizek jellegzetessége, hogy a vízzel borított időszakok és a teljes kiszáradás időszaka szabálytalanul váltja egymást és az élőhely nagyrészt önálló hidrológiai viszonyokkal rendelkezik. Az időszakos vizek élővilágát kifejezetten erre a víztípusra specializálódott fauna- és flóraelemek alkotják.

Az időszakos kisvizek: csapadékosabb években a szántóföldeken megrekedt belvizek, földutakon, mély keréknyomokban évről évre összegyűlő csapadék, ártéri tócsák, esőtócsák, elöntések száma és kiterjedése a folyószabályozások, lecsapolási és csatornázási munkálatok, a földterületek mezőgazdasági művelés alá vonása következtében napjainkra világszerte jelentősen lecsökkent.

Az időszakos vizekben kialakuló állatközösségek jellegzetes fajai a mikroszkopikus méretű kistrákok. A *Moina brachiata* (Jurine, 1820), a *Daphnia atkinsoni* Baird, 1859 és a *Daphnia bolivari* (Richard, 1888) fajok jellegzetes tagjai a magyarországi időszakos vizek kistrák faunájának.

A *Daphnia bolivari* (Richard, 1888) morfológiai alapon markánsan különbözik a *Daphnia atkinsoni* fajtól, a fejpajzsot körülölelő tüskekoszorú megléte miatt. A *Daphnia bolivari* taxont külön fajként tartják nyilván, a Fauna Europaea taxon adatbázisban is külön fajként szerepel.

Az időszakos vizekben előforduló kistrák közösségeket lokálisan befolyásoló tényezők közül fontos a hidroperiódusnak a közösség fajösszetételére gyakorolt hatása, emellett a szalinitás és a vízmélység is fontos befolyásoló tényező.

A mezőgazdasági tevékenység hatásának vizsgálata állandó és időszakos vizes élőhelyek esetében tájleptékvű hatások vizsgálatát célozta meg; a lokális földhasználat – az aljzat felszántása – hatását a kistrák közösségekre korábban nem elemezték.

Doktori értekezésemben a magyarországi időszakos kisvizek élővilágával kapcsolatban három témát vizsgállok:

**1) A *Moina brachiata* vizsgálata:**

- a) Előfordul-e és mekkora mértékű genetikai differenciálódás a *Moina brachiata* fajon belül az Alföld területén?
- b) Az előforduló genetikai differenciálódás köthető-e az élőhelyek valamely abiotikus adottságához?
- c) Megfigyelhető-e földrajzi elkülönülés is az egyes, genetikailag elkülönült csoportok előfordulásában?

**2) A *Daphnia atkinsoni* és a *Daphnia bolivari* vizsgálata:**

- a) A *Daphnia atkinsoni* és a *Daphnia bolivari* allozim markerek alapján külön fajokat alkotnak-e?
- b) Előfordulnak-e külön leszármazási vonalak a *Daphnia atkinsoni* fajon belül az Alföld területén?

**3) Az időszakos kisvizek kistrák közösségének fajösszetételét meghatározó tényezők vizsgálata:**

- a) Mely biotikus és abiotikus tényezők befolyásolják az időszakos vizekben előforduló kistrák közösségek fajösszetételét, fajgazdagságát?
- b) Az élőhely aljzatának felszántása a kialakuló kistrák közösségek fajgazdagságára hátrányosan hat-e?

## ***Módszerek***

1. A vizsgálatokban elemzett *Moina brachiata* populációkat a Kiskunsági (8 gyűjtőhely), a Körös-Maros (4 gyűjtőhely) és a Hortobágyi (8 gyűjtőhely) Nemzeti Parkban gyűjtöttük, időszakos kisvizekből, 85 µm lyukbőségű planktonhálóval.

Parthenogenetikus nőstény *Moina brachiata* egyedekből egyesével DNS-t izoláltunk. Ezt követően a COI és a 16S mitokondriális régiókat PCR technikával felszaporítottuk. Kapilláris gélelektroforézissel mindegyik régiót mindkét irányból szekvenáltuk,

majd a kapott szekvenciák illesztése után nyertük a végső, későbbiekben elemzett és a génbankba is feltöltött szekvenciákat.

**2.** Filogenetikai elemzést végeztünk az összekapcsolt COI és 16S régiókra (1080 bázispár, maximum likelihood és Bayes-féle rekonstrukció, 22 különböző *Moina brachiata* haplotípus, *Moina macrocopa* és *Polyphemus pediculus* külsoport).

**3.** Filogenetikai elemzést végeztünk csak a COI régióra (604 bázispár, maximum likelihood és Bayes-féle rekonstrukció, a **2.** módszer alapján egy-egy haplotípus négy, feltételezhetően különböző *M. brachiata* leszármazási vonalból, és a *Daphnia longispina* csoportból a *D. longispina*, *D. lacustris*, *D. dentifera*, *D. mendotae*, *D. galeata* és *D. cucullata* fajok egy-egy, génbankból letöltött haplotípusa és külsoportként egy *Ceriodaphnia dubia* haplotípus).

**4.** Kiszámítottuk a **3.** módszerrel elemzett szekvenciák közötti páronkénti COI szekvencia divergálódást a K2p modell alapján.

**5.** Enzimpolimorfizmus vizsgálatot végeztünk 19 populációból gyűjtött, 698 *Moina brachiata* egyedre cellulóz-acetát gél elektroforézissel öt lokuszon: AAT, PGI, MDH, MPI és PGM.

**6.** 21 esetben az enzimpolimorfizmus vizsgálat mellett a DNS elemzést is elvégeztük, ugyanabból az egyedből.

**7.** Többváltozós többszörös regresszió elemzést végeztünk a magyarázó változók forward szelekciójával, melyben a távolságmátrix az **5.** módszerrel kapott adatok alapján a *Moina brachiata* populációk közötti páronkénti Nei-féle genetikai távolságok mátrixa. Az összefüggéseket négyféle adatsoron teszteltük: 1. a teljes adatsorra, 2. kizárva a feltételezett 'C' leszármazási vonalat, 3. kizárva a 'B' leszármazási vonalat, 4. csak az 'A' leszármazási vonalon belül. Az elemzésbe bevett magyarázó változók: a víztest mélysége, szalinitása, a legközelebbi víztesttől való távolsága és felületének nagysága.

**8.** 53 *Moina brachiata* egyedből származó összekapcsolt 16S+COI (1080 bázispár) szekvenciákra 99%-os kapcsolódási limit mellett generáltunk minimális feszítettségű haplotípus hálózatot a statisztikai

parszimónia kladogram becslési módszer alapján, majd összevetettük a gyűjtőhelyek földrajzi elhelyezkedésével.

**9.** Enzimpolimorfizmus vizsgálatot végeztünk az Alföldön gyűjtött öt *Daphnia atkinsoni* és két *Daphnia bolivari* populációra, cellulóz-acetát gél elektroforézissel négy lokuszon: AAT, PGI, MDH és PGM, majd elvégeztük a populációk közötti Nei-féle genetikai távolságok UPGMA klaszterezését.

**10.** Tavasszal 55 és nyáron 47 időszakos kisvízből gyűjtöttünk zooplankton mintát és a kistrák fajok meghatározása után a mintavételi helyeken előforduló fajok prezencia-abszencia adatait elemeztük. A mintavételkor mértük az élőhelyeken a pH-t, vezetőképességet, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> és PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-tartalmat, aljzattípust (szántott vagy természetes), vízmélységet, csatornával való kapcsolat meglétét, vegetáció jelenlétét (nincsenek növények, vizes élőhelyhez nem kötődő növényzet van, vízhez kötött fajok jelenléte).

**11.** A **10.** módszerrel a tavaszi és a nyári adatsorra nyert prezencia-abszencia mátrixokon Sörensen index alapján NMS elemzést végeztünk. Az NMS ordinációval nyert tengelyek a variancia nagy részét lefedték és nagyrészt ortogonálisak voltak, így lineáris regressziót és ANOVA-t végeztünk a koordinátákra a környezeti változókkal és különböző környezeti változók additív kombinációival. Ezt követően kiszámítottuk a korrigált Akaike féle információs kritériumokat.

**12.** 5000 random permutáció alapján beágyazottsági elemzést végeztünk, hogy kimutassuk, a fajszegény élőhelyek fajkészlete beágyazódik-e a fajgazdag élőhelyekébe?

## ***Új tudományos eredmények***

### ***A Moina brachiata vizsgálata:***

1. Az Alföld három régiójából származó *Moina brachiata* minták COI és 16S szekvenciáinak filogenetikai elemzésével kimutatattam, hogy a korábban *Moina brachiata* (Jurine, 1820)

- fajként nyilvántartott morfofaj valójában négy ('A', 'B', 'C' és 'D'), genetikailag elkülönülő leszármazási vonalból áll.
2. A külön fajként elfogadott *Daphnia cucullata* és *Daphnia galeata* közötti COI szekvencia divergálódás azonos mértékű a *Moina brachiata* 'B' és 'C' leszármazási vonalak közöttivel. A *Moina brachiata* 'A' és 'B' leszármazási vonalak, 'A' és 'C' leszármazási vonalak és 'C' és 'D' leszármazási vonalak közötti páronkénti COI szekvencia divergálódás magasabb a *Daphnia cucullata* – *galeata* közötti értéknél.
  3. Az Alföld három régiójából, összesen 19 élőhelyről gyűjtött 698 *Moina brachiata* egyed enzimpolimorfizmus vizsgálata alapján kimutattam, hogy az MDH lokuszon előforduló két allél közül az 'MDH1'-es és a PGM lokuszon előforduló négy allél közül a 'PGM1'-es linkage disequilibriumban van.
  4. A mitokondriális és nukleáris markerek alapján egyaránt vizsgált 21 egyedből a PGM1-MDH1 allélokra nézve linkage disequilibriumban levő egyedek mitokondriális markerek alapján a *Moina brachiata* 'B' leszármazási vonalba tartoztak (összesen hét egyed), míg a PGM és MDH lokuszokon más allélt hordozó egyedek a *Moina brachiata* 'A' leszármazási vonalba tartoztak (összesen 14 egyed).
  5. Az izoenzim vizsgálatban az AAT lokuszon detektált két allél közül az 'AAT1'-es csak 3 élőhelyen fordult elő, melyek mindegyike a Hortobágyi Nemzeti Parkban található. Az erről a három élőhelyről gyűjtött *Moina brachiata* populációk közül kettőben az 'AAT1' allél alacsony gyakorisággal volt jelen (0,024 és 0,103), míg a harmadikban – a HNP8 kódú élőhelyen – a populáció több, mint fele hordozta ezt az allélt (gyakoriság: 0,556).
  6. A mitokondriális vizsgálatban kimutatott *Moina brachiata* 'C' leszármazási vonalat két egyed képviselte, melyeket a HNP8 kódú élőhelyen gyűjtöttünk.

7. A többváltozós többszörös regresszió elemzés alapján az élőhelyek szalinitása és mélysége összefüggésbe hozható a különböző *Moina brachiata* leszármazási vonalak divergálásával.
8. A leszármazási vonalak közül a 'Moina brachiata 'B' egyértelműen a mélyebb (120-130 cm) időszakos kisvizekben fordul elő.
9. A különböző *Moina brachiata* leszármazási vonalak elterjedése az Alföldön belül eltér: az 'A' leszármazási vonal egyedei mindhárom régióból előkerültek, a 'B' leszármazási vonal egyedei csak a Kiskunsági Nemzeti Parkból, a 'C' leszármazási vonal egyedei csak a Hortobágyi Nemzeti Parkból kerültek elő. A 'D' leszármazási vonalat egyetlen, a Körös-Maros Nemzeti Parkban gyűjtött egyed alapján mutattuk ki.

#### **A *Daphnia atkinsoni* és a *Daphnia bolivari* vizsgálata:**

10. A Nei-féle genetikai távolságok UPGMA klaszterezésében a tüskekoszorús *Daphnia bolivari* populációk nem alkottak elkülönülő csoportot, hanem beágyazódtak a *Daphnia atkinsoni* populációk közé.
11. Az elemzett 7 populáció Nei-féle genetikai távolságának UPGMA klaszterezése alapján a *Daphnia atkinsoni* fajon belül két, nagymértékben elkülönülő csoport van.

#### **Az időszakos kisvizek kisrák közösségének fajösszetételét meghatározó tényezők vizsgálata:**

12. Az időszakos kisvizek kisrák közösségének fajgazdagságát meghatározó tényezők közül az élőhely aljzatának és a vízhez kötött vegetáció jelenlétének van kiemelkedő szerepe.
13. A beágyazottsági elemzés alapján a szántott területeken található időszakos vizek kisebb fajkészlete beágyazódik a zavartalan aljzatú élőhelyek fajgazdagabb közösségébe.

## ***Következtetések***

A korábbi *Moina brachiata* (Jurine, 1820) valójában egy kriptikus fajkomplex, melyet a divergálódás különböző szintjein álló fajok alkotnak.

A különböző *Moina brachiata* fajok/leszármazási vonalak elterjedése az Alföldön belül korlátozott: vagy az egyes leszármazási vonalak csökkent diszperziós képessége miatt, vagy az előfordulásukat korlátozó erős hatású környezeti tényezők miatt.

A szalinitás közvetlen fiziológiai hatásán keresztül, a mélység valószínűleg a hidroperiódus indikátoraként, a ciklikus partenogenezisben a szexuális szaporodás időzítésén keresztül játszhat szerepet a *Moina brachiata* fajok elterjedésében, divergálódásában.

A tüskekoszorúval rendelkező, *Daphnia bolivari* (Richard, 1888) fajként külön fajként nyilvántartott taxon izoenzim vizsgálataim alapján nem különül el a *Daphnia atkinsoni* Baird, 1859 fajtól.

A *Daphnia atkinsoni* egy fajkomplex, az Alföld területén legalább két leszármazási vonala megtalálható.

Az élőhely aljzatának felszántása a kistrák közösségekre nézve kedvezőtlen, az ilyen élőhelyeken a zavartalan aljzatú élőhelyek közösségeihez képest fajszegényebb közösségek jönnek létre.

Az időszakos vizes élőhelyek természetvédelmi célú kijelölésekor lehetőleg olyan, összefüggő területeket kell választani, melyeken hidroperiódus tekintetében hosszú ideig (hónapokban mérve) vízzel borított és nagyon efemer (pár hétig vízzel borított) élőhelyek váltakoznak és a kistrák közösségek fajgazdagságának fenntartása érdekében lehetőleg zavartalan aljzatú, legalább részben vízhez kötött vegetációval borított élőhelyek is megtalálhatók.



## ***A tézisek alapjául szolgáló közlemények***

- Nédli J.**, L. De Meester, Á. Major, K. Schwenk, I. Szivák & L. Forró (2014) Salinity and depth as structuring factors of cryptic divergence in *Moina brachiata* (Crustacea: Cladocera). *Fundamental and Applied Limnology* 184: 69-85. várható IF: 1.000
- Nédli J.** & L. Forró (2013) Allozyme-based genetic variability of the *Daphnia atkinsoni-bolivari* species complex (Cladocera: Daphniidae) in the Hungarian Great Plain. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 59: 67-79. IF: 0.263

## ***A dolgozat témájában megjelent további publikációk***

- J. Nédli**, L. De Meester L., K. Schwenk K., L. G.-Tóth & L. Forró (2013) Salinity and depth as structuring factors of cryptic divergence in *Moina brachiata* (Crustacea: Cladocera). XXXII. SIL Congress, Budapest, Hungary, 4–9th August, Programme & Book of Abstracts p. 71
- Flórián N., **Nédli J.**, Török J., Hufnagel L. & Forró L. (2012) Morfológiai kiegészítések a *Moina brachiata* (Jurine, 1820) esetén. *Hidrológiai Közlöny* 92: 27-30.
- Nédli J.**, G.-Tóth L. & Forró L. (2011) A *Daphnia atkinsoni – bolivari* fajkomplex enzimpolimorfizmus vizsgálata. *LIII. Hidrobiológus Napok, Tihany, október 5-7. p. 34*
- Flórián, N. & **Nédli J.** (2009) A *Moina brachiata* (Jurine, 1820) finommorfológiai vizsgálata. *Hidrológiai Közlöny* 89: 193-195
- Nédli J.**, Major Á. & Forró L. (2007) Ágascsápúrák- populációk időszakos vizekben. In: Forró L. (szerk.) *A Kárpát-medence állatvilágának kialakulása*. pp. 201-206. Budapest: Magyar Természettudományi Múzeum, ISBN: 978-963-7093-99-9
- J. Nédli**, Á. Major & L. Forró (2007) Genetic characteristics of two cladoceran species from temporary pools in the Hungarian Great Plain. Symposium on Conservation and Genesis of the Fauna of

the Carpathian Basin, Kecskemét, Hungary, 29th November–1st December, Abstracts p. 50

**J. Nédli, Á. Major & L. Forró** (2007) Increase in biodiversity due to adaptation to different ecological conditions in temporary pools. 1st EuroDiversity Conference, Marne-la-Vallée, France, 3–5th October, Abstract Book p. 33

**Nédli, J. & Forró L.** (2006) *Moina brachiata* (Jurine, 1820) populációk genetikai differenciálódása alföldi időszakos vizekben. 7. Magyar Ökológus Kongresszus, Budapest, szeptember 4-6. Előadások és poszterek összefoglalói. p. 159

### ***Más témákban megjelent publikációk***

I. M. Chelo, **J. Nédli**, I. Gordo & H. Teotónio (2013) An experimental test on the probability of extinction of new genetic variants. *Nature Communications* 4: 2417 IF: 10.742

E. K. Magyari, Á. Major, M. Bálint, **J. Nédli**, M. Braun, I. Rácz & L. Parducci (2011) Population dynamics and genetic changes of *Picea abies* in the South Carpathians revealed by pollen and ancient DNA analyses. *BMC Evolutionary Biology* 2011, 11:66 IF: 3.521

J. Korponai, M. Braun, K. Buczkó, I. Gyulai, L. Forró, **J. Nédli** & I. Papp (2010) Transition from shallow lake to a wetland: a multi-proxy case study in Zalavári Pond, Lake Balaton, Hungary. *Hydrobiologia* 641: 225–244 IF: 1.964