

Szárny jellegek variabilitásának vizsgálata a
redős szúnyogok (Ptychopteridae)
romániai képviselőinél: fajok között és fajon belül



Szerző:

Török Edina, Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Biológia-Geológia
Kar, MSc. 1év, Biológiai erőforrások alkalmazása és védelme Szak, Kolozsvár

Témavezető:

Dr. Keresztes Lujza, Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Biológia-
Geológia Kar, Magyar Biológiai és Ökológiai Intézet, Kolozsvár

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETŐ	3
PTYCHOPTERIDAE CSALÁD BEMUTATÁSA	5
A <i>PTYCHOPTERA</i> GÉNUSZ RÖVID JELLEMZÉSE	6
2. CÉLKITŰZÉS	9
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	10
GYŰJTÉSI MÓDSZEREK	13
A SZÁRNYAK PREPARÁLÁSA	13
A JELLEGEK MÉRÉSI MÓDSZERE	13
A MÉRT JELLEGEK	14
AZ ADATOK FELDOLGOZÁSA	15
GEOMETRIAI MORFOMETRIA	15
LINEÁRIS MORFOMETRIA	16
4. EREDMÉNYEK ÉS TÁRGYALÁSUK	17
LINEÁRIS MORFOMETRIAI VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI	17
GEOMETRIAI MORFOMETRIAI VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI	20
5. KÖVETKEZTETÉSEK	24
6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	25
7. FELHASZNÁLT IRODALOM	26
8. FÜGGELÉK	28

1. Bevezető

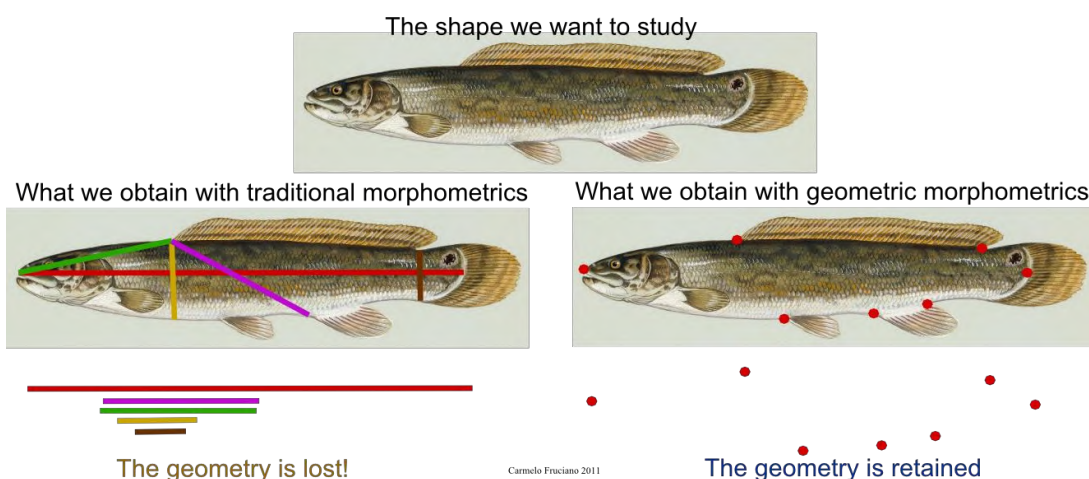
A természetes élőhelyek biodiverzitás csökkenésének gyorsuló válsága fokozottan előtérbe helyezi a faunisztikai és taxonómiai kutatásokat, valamint az új módszerek alkalmazását a biodiverzitási mintázatok becslésére. A mennyiségi morfometriai analízisek módszerei elsődlegesen a fajok elkülönítésében. A szubjektivitás elkerülésére ma már előtérbe kerülnek az objektívebb, több jelleget egyidejűleg összehasonlító vizsgálatok, mint a mennyiségi morfometriai elemzések (lineáris morfometria vagy geometriai morfometriai elemzések).

Az egyik legáltalánosabb mennyiségi morfometriai módszer a lineáris morfometria, mely diszkrét változók alapján (hosszúság, szélesség), az illető faj populációja esetében több példány egyidejű felhasználásával gyűjt információt a vizsgált jelleg intra- és interspecifikus variabilitásáról. A taxonómia területén régóta használt bevált módszer. Mai napig is használják, különböző vizsgálatokhoz. Mint például Willemart és munkatársai Brazília délkeleti részén 2009-ben végeztek egy kutatást, ahol ivari dimorfizmust vizsgáltak lineáris morfometriai módszerekkel, lemérték különböző távolságokat a testen és a lábakon, egy kaszáspók faj esetében, a *Neosadocus maximus*-al.

A lineáris morfometria módszere újabban fontos kiegészítője a molekuláris taxonómiai módszereknek. Az egyes populációk közti molekuláris strukturálódás mintázatát gyakran a morfológiai jellegek hasonló strukturálódása követ és hozzásegíthet a taxonómiai hipotézisek megbízhatóbb teszteléséhez. Számtalan közel rokon faj esetében a molekuláris és morfológiai jellegek kombinációja vezethet el taxonómiai hipotézisek megfogalmazásához. Mint például Batori és munkatársai 2012-ben egy tarkalepke fajt a *Melitaea (Melicta) athalia* különböző magyarországi és romániai populációit hasonlították össze, szárny és genitáliai preparátumokon végzett lineáris morfometria módszerével. Ugyan ebben az évben a zánótboglárka *Maculinea nausithous* szárnyának lineáris morfometriai analízise által hasonlították össze a magyarországi és romániai populációkat. Eredményeiket mind a két esetben enzimpolimorfizmus vizsgálataik is alátámasztották (Hollós és mtsai. 2012).

A hazai Diptera kutatás sajnos a mennyiségi morfometriai módszereket csak szórványosan alkalmazza fajok elkülönítésére. Legújabb Ujvárosi és munkatársai (2009) alkalmazzák a hagyományos morfológiai vizsgálatokat fajok elkülönítésére. A kétszárnyúakhoz tartozó *Pedicia occulta* szőrösszemű iszapszúnyogoknál, mind a morfológiai analízisek, mint a molekuláris genetikai eredmények egy új faj létezését bizonyították, amit később 2012-ben *Pedicia fusca* néven le is írt munkatársai segítségével.

A másik morfológiai módszer, amit széles körben alkalmaznak a geometriai morfometria módszere. Ez a módszer nem veszi figyelembe a méretet, csak az alakra, formára összpontosít. Megtartja az objektum formáját, ez alapján különíti el a fajokat egymástól. Maga az elmélet az Kendall-től származik (1977) aki különböző geometriai formákat határozott meg. A módszer a biológia szakterületén 80-90-es években jelent meg. Bookstein (1985) aki az elsők között volt, ő landmarkokat használt különböző halak alaki vizsgálatához. Olyan landmarkokat helyeztet ki, amelyeket többször is fel tudott ismerni, valamint ismételt nagy pontossággal be tudott jelölni. Eredményei alapján a geometriai morfometria módszere jól használható a biológiában, a halakat faji szinten a módszer jól elkülönítette. Carmelo Fruciano németországi kutató, aki szintén halakkal foglalkozik, fogalmazta meg véleményét mely szerint a hagyományos morfometriai lineáris mérések nem adnak információt az eredeti alakról (1. ábra). Ha a geometriai módszert használjuk, akkor eredményül formákat, eredeti alakzatokat vagy deformációkat kapunk (Fruciano és mtsai., 2011).



1.Ábra. Fruciano 2011-es szemléltető képe.

2001-ben De la Riva és munkatársai különböző elszigetelt populációkat vizsgáltak a *Lutzomyia longipalpis* lepkeszúnyog esetében (Diptera, Psychodidae). A szárnyak morfológiai variabilitásának vizsgálatára geometriai morfometriai módszereket alkalmaztak. Eredményeik azt mutatják, hogy a szárnyak geometriai változásai összhangban voltak a genetikai variabilitással. A használt módszer alkalmasnak bizonyult a populációk közti variabilitás kimutatására.

2007-ben Villemant és munkatársai a geometriai morfometriát egy hasznos módszerként írja le, mivel érzékeli a minimális morfológiai változásokat is, amit gyakran a

hagyományos morfometria nem mutat ki. Véleményüket gyilkosfűrész *Eubazus* (Hymenoptera, Braconidae) fajokon végzett szárnyerezet vizsgálataival támasztották alá. A módszer lehetővé tette a négy különböző, de morfológiailag igen hasonló faj elkülönítését, és sikerült a morfológiailag azonos, kriptikus nőtényeket is elkülöníteni.

2008-ban Ludoóki és munkatársai különböző zengőlegyek (Diptera: Syrphidae) szárnyán végeztek geometriai morfometria analíziseket. Eredményeik azt mutatták, hogy hasonlóan a lepkeszúnyogokhoz, a zengőlegyek esetében is a geometriai morfometriai módszerek alkalmasak fajhatárok tesztelésére és kriptikus nőtények azonosítására.

Ma már a szakirodalom számos példája igazolja, hogy a különböző morfometriai módszerek kombinációja különösen alkalmas taxonómiai hipotézisek tesztelésére, problémás fajok taxonómiai problémáinak tisztázására. Ugyanezt a kombinált morfometriai módszereket alkalmazta Tóth János és Varga Zoltán 2011-ben különböző tarkalepke (*Melitaea*) populációknál. Eredményként azt kapták, hogy sem a lineáris sem a geometriai morfometriai analízis nem különítette el a populációkat egymástól, tehát erre a lepkefajra jellemző a populáción belüli igen magas fenotípikus plaszticitás.

Elgondolásaimhoz hasonló kutatást végeztek Marko Mutanen és Ethersia Pretorius 2007-ben, aki kutatásaik során összehasonlították a hagyományos morfometria módszerét, a geometriai morfometria módszerét valamint a szubjektív vizuális módszerét. A vizsgálatokat különböző lepkefajok (Lepidoptera, Tortricidae és Geometridae) hím genitáliáján végezték, mind a 3 család 4-4 faja esetében. Fajok elkülönítésére a legalkalmasabb módszer a geometriai morfometria bizonyult, mivel csak ez a módszer volt arra alkalmas, hogy elkülönítse a fajokat. Ez a módszer jobban kimutatta az apró morfológiai különbségeket. A lineáris morfometria módszer eredményei nagy átfedéseket mutatott a fajok között. Hasonló eredményt kaptak a vizuális besorolásnál is, mivel az sem volt pontos. Arra a következtetésre jutottak, hogy a geometrikus morfometria egy hatékonyabb módja annak, hogy fajokat különítsünk el. A szerzők azt javasolják, hogy szélesebb körben alkalmazzák a módszert a taxonómia területén.

Ptychopteridae család bemutatása

A *Ptychopteridae* egy rendkívül fajszegény család, keveset tudunk róluk, mert kevésbé kutatottak. Az egész világon két alcsaládba sorolt, alig több mint 70 fajuk ismeretes (Rozkošný 1997). Többségük a Palaearktikum lakója. Magyarul redős szúnyogoknak nevezik ezt a családot (Deliné-Draskovits 1983).

Besorolása: az ízeltlábúak törzsébe, a rovarok (*Insecta*) osztályába, kétszárnyúak (*Diptera*) rendjébe, szúnyogalakúak (*Nematocera*) alrendjébe, *Ptychopteromorpha*

alrendágba, *Ptychopteroidae* öregcsaládba tartozó *Ptychopteridae* család, melyhez két alcsalád a *Ptychopterinae* és a *Bittacomorphinae* tartozik. A *Ptychopterinae* alcsaládon belül van a *Ptychoptera* génusz, amiben két algénuszt különítenek el: *Ptychoptera* (Meigen, 1803) és a *Paraptychoptera* (Tonnoir, 1919). Két algénusz közötti morfológiai különbség a surstylus kitinálódása jelenti. Azok a fajok, amelyeknek a surstylusa kitinizálódott a *Ptychoptera* algénuszba tartoznak.

Ptychoptera fajai megtalálhatók egész Európában, eddig 14 fajuk ismert (Zwick és Statarý 2002). Hazánkban a *Ptychoptera* génusz faunisztikai felmérése igen elhanyagolt volt, az első átfogó kutatást Ujvárosi és munkatársai közzölték 2011-ben. Melyben 8 romániai faj gyűjtési adatairól számoltak be.

A *Ptychoptera* génusz rövid jellemzése

Ptychoptera génusz képviselői nagyon hasonlítanak a lószúnyogokhoz, szemmel látható különbséget a szárnyerezet részleteiben lehet felfedezni.

Lábaik nagyon hosszúak és vékonyak, pálcikaszerűek, lábszárakon erős sarkantyúk vannak. Az elülső lábszáron 1, a középső és a hátsón 2-2 sarkantyú található.

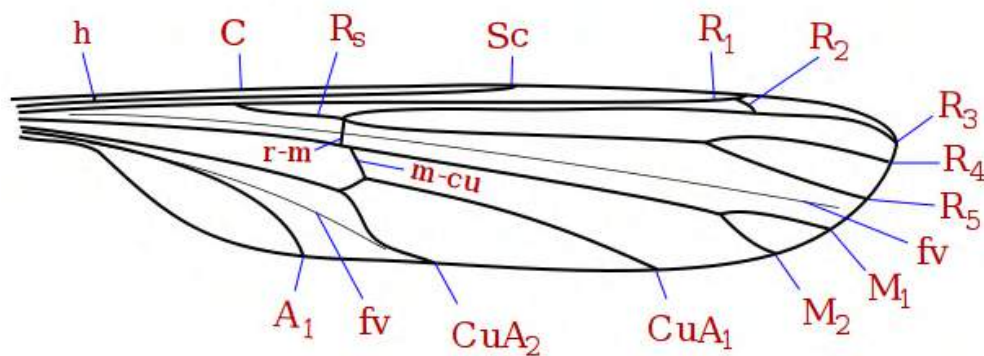
A túlságosan hosszú lábak előnye az lehet, hogy egyszerre több növényzetbe is tud kapaszkodni, így a szél nem tudja lefújni. Viszont aránytalanul hosszú lábai veszéllyel járnak, felkelti a ragadozók figyelmét. A lószúnyogok ilyen helyzetekben képesek lábaikat elhagyni. A lábaikat otthagya elmenekülnek, ezzel ellentétben a redős szúnyogok nem képesek lábaikat elhagyni.

Fejük kerek, fekete legfeljebb részben sárga, pontszemeik hiányoznak. Homlokuk erősen kitinizált, a fejük elülső oldalán a clypeus kapcsolódik hozzá. Alatta a kicsiny, csúcsban végződő felsőajak (labrum) található. Az első ajak (labrum) páros, feltűnően nagy labiális lemezekké, labellumokká alakult. Tapogatójuk alapíze csökevényes öt ízű, a végíz viszont hosszú és hajlítható. Állkapcsaik hiányoznak vagy kevésbé fejlettek. Fonalas csápjuk 16 íru az ostorízek közül az első a leghosszabb. A végíz nagyon kicsi szinte alig látható (Oosterbroek 2006). A legközelebbi rokon a *Bittacomorphinae*-nak 20 ízűből tevődik össze a csápjuk. A hímek csápjuk hosszabb, mint a nőstényeké.

Toruk jól fejlett, fényes fekete vagy sötétbarna, legfeljebb részben sárga. Nyakszirtjükön cervikális lemez található. Élőhátuk (pronotum) feltűnően nagy, elülső szegélye lekerekített vagy enyhe csúcsban végződik. A hát középvonalában, továbbá a notopleura elülső csúcsából kiindulva barázdák húzódnak, amelyek a hát hátulsó felén a pajzsocska előtt egy pontban találkoznak. Ide fut még a notopleura hátulsó csúcsa közelében eredő mély bevágás is, amely V alakú rajzolatot mutat. Pajzsocskájuk viszonylag kicsi.

Szárnyuk foltos barnás, felületén nincsenek feltűnő szőrök vagy pikkelyek. Szegélyerük az egész szárnyat körülveszi. 10 hosszanti érük van, ezek mindegyike eléri a szárnyszegélyt. Az R1+2 ér csak a legvégén ágazik el, az R1 ág szegélyérbe, az R2 pedig az R3 érben torkollik. Az R4 és R5 ág közös hosszú nyélből ered, villás elágazású. Korongsejtjük és az anális ér hiányzik. Középerük 3-ágú. A középerék és a sugárerek között 1, könyökér és a végső ér között rendszerint 2 érszerű redő húzódik. Radiomediális haránterük az R4+5 eret köti össze a középerrel (Deliné-Draskovits 1983). Közép-könyök, harántterük a középer egyik ágából kiindulva húzódik a könyökérig. Az M középer, csak a *Ptychopteridae* alcsaládnál ágazik el M1+2 ágra, a *Bittacomorphinae*-nál nem ágazik, így nem alakítja ki az M sejtet sem.

A szárnyon különböző alakú és nagyságú foltok vannak, melyek esetenként fontos fajelválasztó bélyegek, bár alakjukban és méretükben fajon belül is kisebb eltérések tapasztalhatók, szárny mintázatokat a szakirodalomban fajhatározásra is használták (Peus, 1958). A szárny középvonalában a szárny szegélyéből kiindulva összefüggő, széles sötétbarna sáv húzódhat, de előfordul, hogy a barna színeződés csak a haránterek mentén korlátozódik. Az R1+2 és az R4+5 erek elágazási pontjában többnyire egymással összefüggő folt található. Ezen kívül elszórt barnás foltok lehetnek még a vállér mentén, a szegélyalatti ér szegélyébe való torkollásánál, a középer elágazási pontjában, továbbá az R3 ér szegélyébe futási helyén és még a szárny számos pontján (2. ábra.) (Deliné-Draskovits 1983).



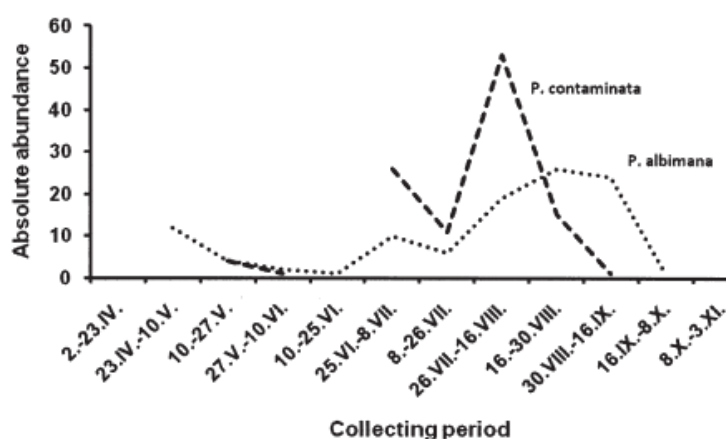
2. ábra. A *Ptychoptera* algénusz fajainak sajátos szárnyerezete C = szegélyér, Sc = szegély alatti ér, Rs = sugárér disztális ága, R1-R5 = sugárér ágai, r-m = sugár-középi-keresztirányú, M = középi, M1-M2 = középi ági, CuA1-CuA2 = a könyök-hóaljí közösi ági, A1= hóaljí ér (McAlpine és mtsai. 1981)

A hímek potrohvége buzogányszerűen megvastagodott, ivarszervük viszonylag nagy és bonyolult felépítésű. Potrohuk 9 szelvényből áll. Has lemezeik normális felépítésűek. A nőstények potroha 10 szelvényből áll. A három utolsó szelvénye redukálódott és ivarszervvé módosult. A nőstény cercusa csőrszerűen hajlott, kihegyezett, rendszerint erősen kitinizált.

Fajhatározás az adult egyedek esetében az ivarszervi struktúrák, valamint szárny erezete, foltosságának intenzitása által történik (Tjeder 1968; Andersson 1997; Rozkošný 1997; Zwick és Statarý 2002).

Rejtőzködő életet élnek, sekély állóvizekben a víz alatti iszaprétegben fejlődnek. Rögzítőszerűk nincsen, ezért csak olyan helyeken képesek megmaradni, ahol gyenge a vízáramlás. Mert az erős vízsodrás akadályozná a víz felszínére nyúló légcsövek működését. Gyors folyású patakokban a lárvákat és bábokat öblökben és iszappadokon kell keresni, ahol nagyon sekély a víz és áramlása minimálisra csökken (Andersson 1997). A víz hiányát is viszonylag jól tűrik. Általában az iszapban keresnek a lárvák táplálékot, korhadó és rothadó növényi anyagot. A szennyvízcsatornák iszapos partközeli részén is kedvező életfeltételeket biztosítanak számukra. Gyengén savas kémhatású patakokban, kisebb vízfolyásokban, szivárgó források közelében, mocsaras területeken fordulnak elő. A család több faja él egy helyen, egymás mellett.

Feltételezik, hogy a *Parapychoptera* és a *Ptychoptera* algénuszba tartozó fajoknak más a repülési periódusaik. Freedman (1950) szerint a *Ptychoptera* fajoknak két generációs ciklusuk van, így két repülési periódussal rendelkeznek, a *Parapychoptera* fajok pedig egyel. Az 3. ábrán a *P. albimana* és az ugyan abba az alcsaládba tartozó *P. contaminata* repülési periódusa van ábrázolva (Salmela 2010). Az OX tengelyen a hónapok vannak feltüntetve az OY tengelyen az egyedek száma. Jól látható, hogy április végétől október elejéig repülnek, két csúcspont is van júliusban és szeptemberben.



3. ábra. *P. contaminata* és *P. albimana* repülési periódusa (Salmela 2010).

2. Célkitűzés

Jelen kutatás keretében azt vizsgáltuk, hogy a redős szúnyogok (Ptychopteridae) esetében a szárnyak különböző morfometriai vizsgálata használható-e a fajok elkülönítésére. Ennek érdekében Európa különböző térségeiből származó egyedek szárnyait lineáris és geometriai morfometriai módszerekkel hasonlítottunk össze.

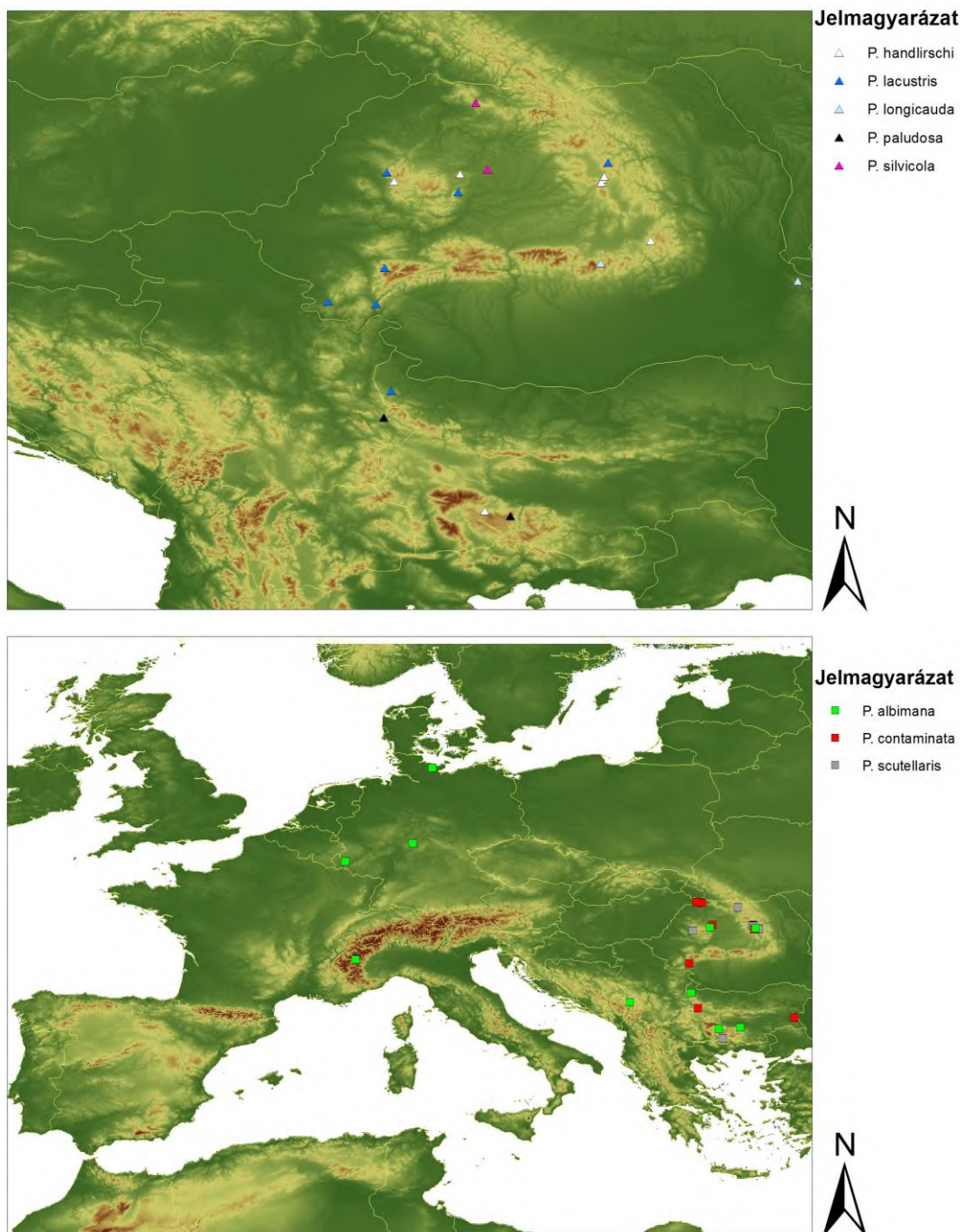
Célunk volt:

- 1) felderíteni, hogy a szárny morfometriai vizsgálatai használhatók-e a redős szúnyogok faj szintű elkülönítésére,
- 2) vizsgálni a két morfometriai módszer közül (lineáris vagy a geometriai) melyik használható jobban a fajok elkülönítésére,
- 3) a szárny morfometriai módszerek segítségével lehet-e nőstényeket azonosítani,
- 4) valamint kimutatható-e a populációk közötti variabilitás.

Amennyiben valamelyik módszer alkalmas lenne a fajok határozására az jelentős volna a konzervációbiológiában, hisz lehetővé tenné olyan non-invazív módszerek alkalmazását, melyek nem követelnék meg a példányok konzerválását.

3. Anyagok és módszerek

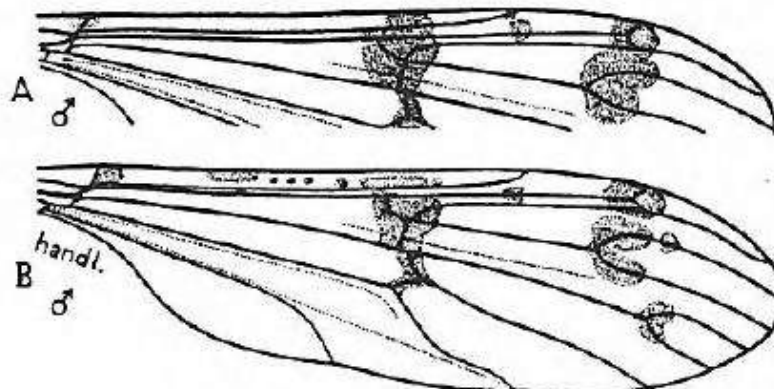
Kutatásunk során 8 Romániában is előforduló *Ptychoptera* faj 120 példányával dolgoztam. Minden példány esetében a jobb oldali szárnyat preparáltam ki. Célfajaink 1989-2013 közötti gyűjtésekből származnak, összesen 7 országból. A gyűjtés pontos adatai megtalálhatók a függelék első táblázatában. Lentebb látható térképeket ArcGIS térinformatikai program segítségével készítettük el, amin fel vannak tüntetve a gyűjtési pontok (4. ábra).



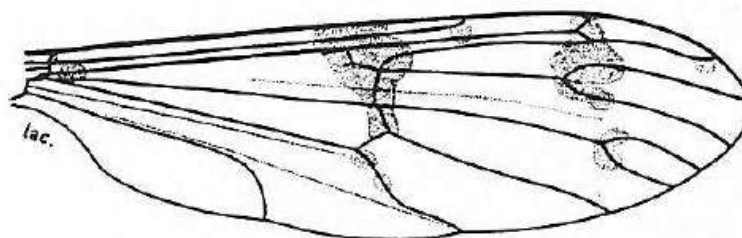
4.Ábra. Gyűjtési pontok a két algénusz esetében. Az első térképen a *Parapterychoptera*, míg a másodikon a *Ptychoptera* algénuszba tartozó fajok gyűjtési helyeit tüntettük fel.

Romániában is előforduló Ptychoptera fajok rövid bemutatása:

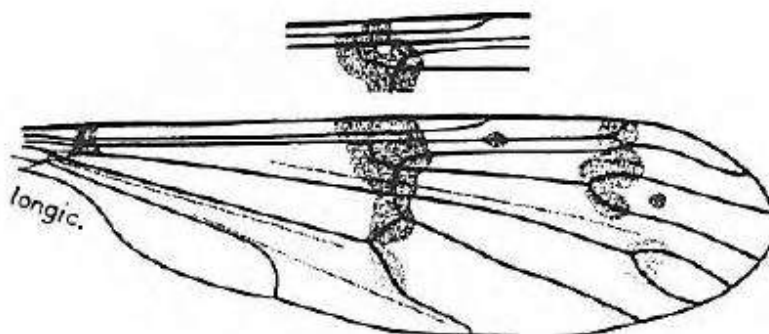
1. *Ptychoptera (Parapterychoptera) handlirschi* (Czizek, 1919): testhossza: 7-11 mm, szárny hossza: 9-13 mm. Feje és tora fekete színezetű, potroha fekete sárga sávokkal. Repülési ideje májustól augusztusig. Közép-Európában elterjedt.



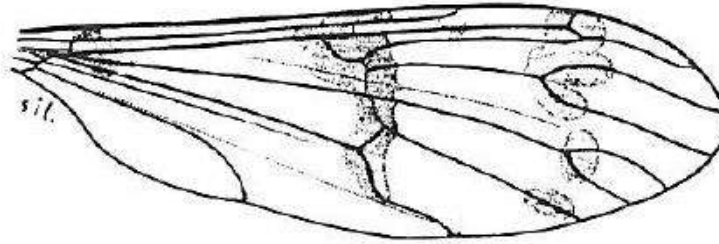
2. *Ptychoptera (Parapterychoptera) lacustris* Meigen, 1830: testhossza: 7-9 mm, szárny hossza: 8-10 mm. Feje és tora fekete, potroha feketés sárgás. Repülése májustól augusztusig. Egész Európában elterjedt.



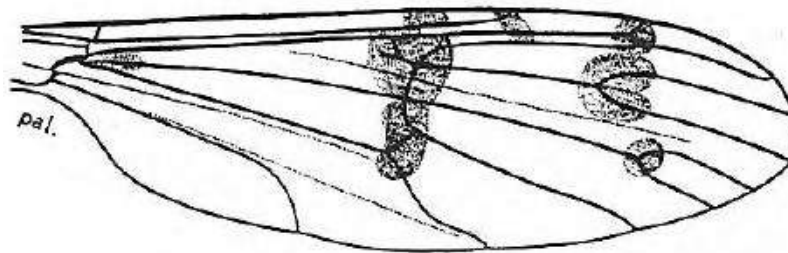
3. *Ptychoptera (Parapterychoptera) longicauda* (Tonnoir, 1919): feje és tora fekete, potroha fekete sárga sávokkal. Repülése májustól augusztusig. Közép-Európában elterjedt.



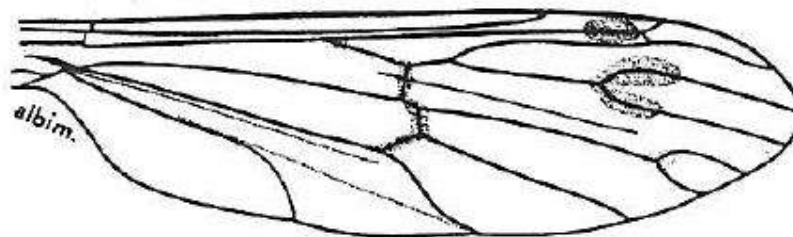
4. *Ptychoptera (Parapteroptera) silvicola* Zwyrtek & Rozkosny, 1967: feje fekete, tora is fekete közepén sárga ponttal, potrohuk fekete három sárga csíkkal. Repülése májustól júliusig. Közép-Európában elterjedt.



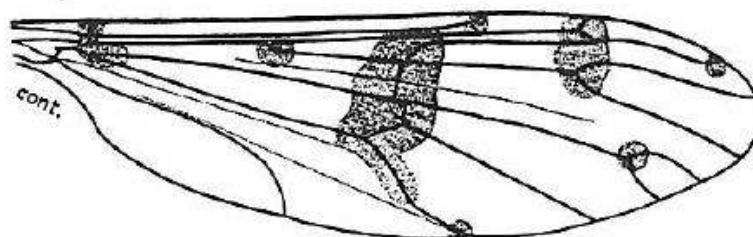
5. *Ptychoptera (Parapteroptera) paludosa* Meigen, 1804: testhossza 7,5 mm, szárny hossza: 8-10 mm. Feje fekete, tora fekete közepén sárga ponttal, potrohuk fekete. Repülése áprilistól júliusig. Egész Európában elterjedt.



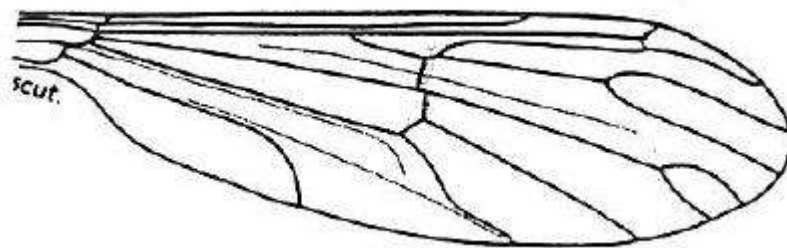
6. *Ptychoptera (Ptychoptera) albimana* (Fabricius, 1787): testhossza: 8-11 mm, szárny hossza: 7-11 mm. Feje feketés sárga, tora fekete sárga ponttal, potroha feketés barna, egy sárga sávval. Lába utolsó előtti szelvénye fehér, innen is kapta a nevét. Repülése április és november. Egész Európában elterjedt.



7. *Ptychoptera (Ptychoptera) contaminata* (Linnaeus, 1758): testhossza: 7,5-11 mm, szárny hossza: 7-11 mm. Ő az egyik leggyakoribb faj. Feje tora és potrohuk fekete, melyen két sárga sáv jelenik meg. Repülése június és szeptember. Egész Európában elterjedt.



8. *Ptychoptera (Ptychoptera) scutellaris* Meigen, 1804: testhossza 7-9 mm, szárny hossza: 7-8,5 mm. Feje, tora és potroha is teljesen fekete. Repülése május és augusztus. Egész Európában elterjedt.



(Peus 1958)

Gyűjtési módszerek

A gyűjtési módszer a hálózás volt. Az imágókat 130 cm átmérőjű keretre erősített tüll anyagból készült lepkehálóval gyűjtöttük. A begyűjtött példányokat 1,5 ml-es centrifuga csövekbe 96%-os alkoholban tároltuk. Eme konzerválási módszer nagyon előnyös, mivel így védve vannak a mechanikai károsodástól, valamint könnyen tudjuk tanulmányozni a példányokat, nem utolsósorban az alkohol hosszú ideig tartósítja a DNS-t. Hátránya az alkoholos tárolásnak az, hogy idővel a tárolt rovar színe, valamint szárnyszíne kifakul, eltűnik.

A szárnyak preparálása

A begyűjtött 120 példány mindegyikén elvégeztem a szárnypreparálást. Genitália ollóval óvatosan levágtam a célfajok jobb szárnyát, ügyelve arra, hogy pontosan vágjam el, ne sértsem meg a szárnyat. Majd átlátszó keményfóliára egy csepp 96%-os alkoholba helyeztem, hogy elkerüljem a szárny töredezését. Fedőlemezzel lefedtem, hogy egy síkban legyen, utána celluluxal rögzítettem. A lineáris morfometriai méréseknél mind a 120 preparált szárnyat fel tudtam használni, viszont a geometriai méréseknél csak 110-et, mivel a többi sérült, vagy nem volt minden landmark kivehető.

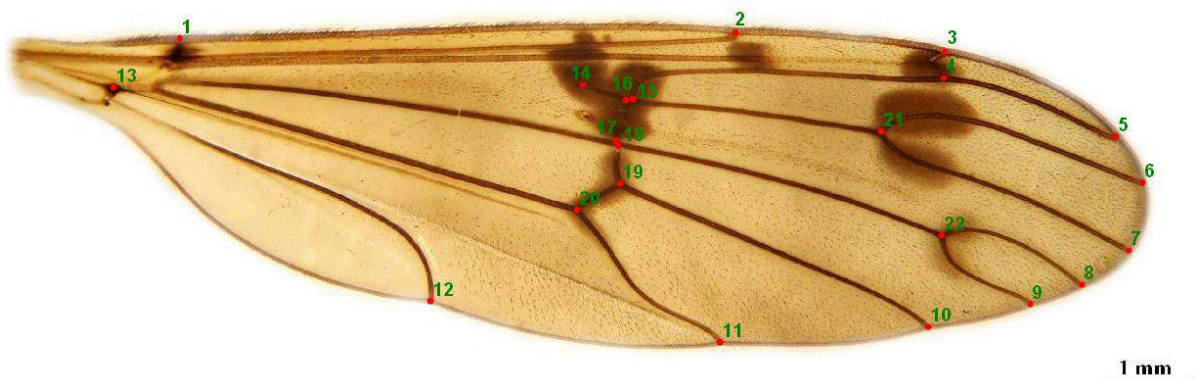
A jellegek mérési módszere

A morfológiai jellegeket Olympus SZ 61 binokuláris nagyítóval vizsgáltuk (30X nagyításon). A nagyító okulárjához erősített Fujifilm FinePix S5700-as fényképezőgéppel fotókat készítettem a preparált szárnyakról, ugyanabba a pozícióba beállítva minden jobb oldali szárny esetében. A geometriai morfometriánál ezeket a fotókat elemeztem ki TPSDig (2.16 verzió) szabad hozzáférésű program segítségével. A lineáris morfometriánál

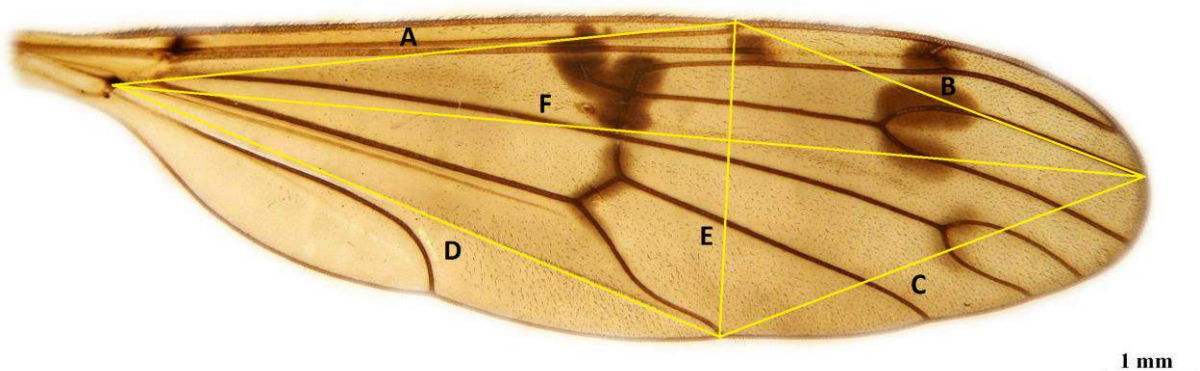
minden esetben a mérendő jobb szárnyrészt méretskálával együtt fényképeztük le. A méretskála segítségével meghatároztuk egyetlen pixel valós méretét. Az ImageJ (4.46r verzió) hozzáférésű programon belül lehetőség van a pixelméretre való érték hozzárendelésére, így egy jelleg hosszúságát mm-ben kaptam meg.

A mért jellegek

A geometriai morfometriánál 22 landmarkot helyeztem ki a szárnyerek kezdetére és végére (5. ábra). A 22 landmarkot úgy választottam meg, hogy mindegyik szárnynál felismerhető legyen, és mindig be tudjam azonosítani. A lineáris morfometriánál összesen 6 jelleget mértem, a szárny hosszúságát, szélességét valamint ezek mellett tetszőlegesen mértem az erek közötti távolságokat (6. ábra).



5. Ábra. A jobb szárnyról készült fényképen feltüntettem a 22 landmark helyét, amit a geometriai morfometria módszerénél használtam.



6. Ábra. Ezen a szárnyról készült fotón feltüntettem a lineáris morfometirai módszer 6 mérésének a helyét: A- a töér és a szegély alatti ért összekötő mérés, B- szegély alatti ért és a sugárér R4-es ágát összekötő mérés, C- sugárér R4-es ágát és a könyök-hónaljér közös CuA2 ágát összekötő mérés, D- könyök-hónaljér közös CuA2 ágát összekötő mérés a töérrel, E- méréssel a szárny szélességét mértem, F- pedig a szárny hosszúságát.

Az adatok feldolgozása

Az adatok feldolgozása Microsoft® Office Excel 2003 táblázatkezelő program segítségével, valamint az R (2.15.3 verzió) és a PAST (2.14 verzió) statisztikai programok segítségével történtek. A PAST program segítségével végeztem főkomponens analízist (PCA) és kanonikus variancia analízist (CVA). Az R program segítségével geometriai morfometriai mérések hibáit ellenőriztem és diszkriminancia analízist, valamint a csoportok páronkénti összehasonlítását.

Geometriai morfometria

Mérési hiba ellenőrzés

A pontatlanság elkerülése végett a geometriai morfometriai vizsgálat során kihelyezett 22 landmarkot vizsgáltam, hogy milyen pontossággal tudom ugyan oda helyezni mind a 22 landmarkot. Valamint fontos a mért pontok ugyanolyan sorrendben történt felvétele. Kétszer mértem le és vettem fel a pontokat mind a 110 szárny esetében. Az eredményeket az R statisztikai program segítségével végeztem, vizsgáltam a két adatsor normáloszlását Shapiro-Wilk teszttel, majd a varianciák homogenitását Bartlett-próbával. Ezután a mérési hiba meghatározására egy-utas variancia analízist (ANOVA) végeztem, annak érdekében, hogy meghatározzam, hogy a mérések közötti variancia a mintán belüli variancia hány %-ért felel. Abban az esetben, ha valamelyik jelleg mérési pontatlanságból adódóan a teljes variancia 10% magyarázta, a jelleget kivettem a további vizsgálatból (Zelditch és mtsai.2004).

Adatok méretének eltávolítása

A PAST statisztikai program segítségével általánosított Procrustes analízist (GLS) végeztem annak érdekében, hogy a minta varianciájából eltávolítsam a méretekből adódó varianciát. Következésképpen a minták varianciái a szárnyak alakjából fog adódni.

Geometriai morfometriai mérések statisztikai elemzése:

Főkomponens analízis (PCA) a már meglévő változóknál olyan új tengelyeket keres, amelyek az egyedek közötti variancia legnagyobb százalékát magyarázzák. A PCA kialakításában az eredeti változók különböző arányban vesznek részt. Ennek segítségével egyrészt lecsökkenthető a változók száma, hiszen a további vizsgálatokban csupán azokat a főkomponenseket használjuk fel, amelyek az egyedek közötti variancia legalább 1%-át magyarázza. Így a többváltozós varianciaanalízisen (MANOVA) belül a kanonikus

varianciaanalízisnél (CVA) a már lecsökkentett komponensekkel dolgoztam. CVA végeztem fajok elkülönítésére valamint fajon belüli populációk közötti variabilitás mérésére is.

Lineáris morfometria

Ennél a módszernél kevés változóval dolgoztam, így a várt változó mindenikét felhasználtam a kanonikus varianciaanalízisnél. CVA-val vizsgáltam a fajok elkülönülését. Valamint ezután alkalmaztam a PCA módszerét, mely a létrehozott első főtengety kialakításában résztvevő két legfontosabb jelleget választottam ki további vizsgálataimhoz. Ezek a jellegek a D és az F a mért D változó a könyök-hónaljér közös CuA2 ága és a tőér közötti távolság, valamint az F változó adja meg a szárny hosszúságát. Csoportok szétválasztására alkalmas módszer a diszkriminancia analízis, melynél csak a két D és az F jellegre végeztem el. Fajok páronkénti összehasonlítása is a két változót a D és az F jelleget vettem figyelembe. A D és az F változók normáeloszlását Shapiro-Willk teszttel vizsgáltam, majd két-utas variancia elemzést (ANOVA) végeztem és a TukeyHSD függvénnyel dolgoztam.

4. Eredmények és tárgyalásuk

Lineáris morfometriai vizsgálatok eredményei

Főkomponens analízis (PCA)

PCA 7. ábráján látható, hogy a különböző fajokhoz tartozó egyedek által körülhatárolt pontfelhők nagymértékben átfednek. Az függelékben található 2. táblázaton látható, hogy az első főkomponens 96%-ban magyarázza az egyedek közötti teljes varianciát. Ezek közül talán a zöld színnel jelölt *P. albimana* különül el a legjobban. Továbbiakban mind a 8 faj különböző színekkel és kódokkal lesz jelölve:

Ptychoptera algénuszba tartozó fajok

Ptychoptera albimana –zöld, TAL

Ptychoptera scutellaris –szürke, SCT

Ptychoptera contaminata –piros, CO

Parapteroptera algénuszba tartozó fajok

Ptychoptera handlirschi –sárga, AHA

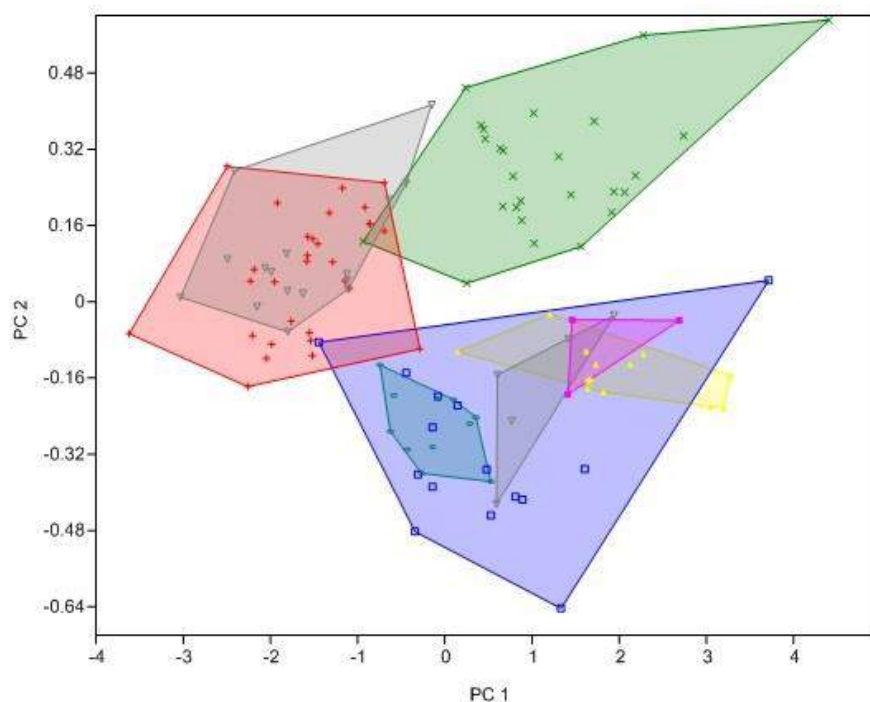
Ptychoptera silvicola –rózsaszín, TSI

Ptychoptera lacustris –sötétkék, ALA

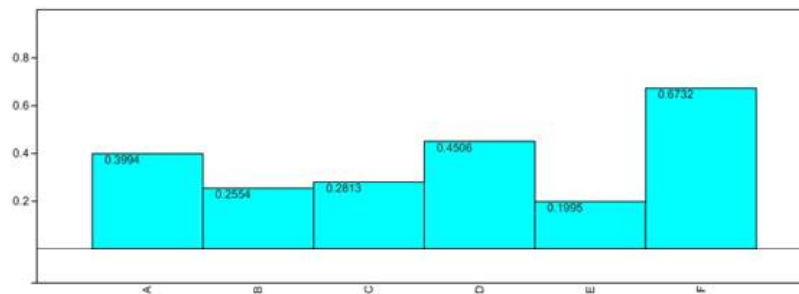
Ptychoptera paludosa –sötétszürke, PA

Ptychoptera longicauda –világoskék, ALO

A hat jelleg közül a D és az F jelleg, vagyis a D a könyök-hónaljér közös CuA2 ága és a tőér közötti távolság, valamint az F a szárny hosszúsága, járulnak a legnagyobb mértékben hozzá az első főkomponens kialakításához (8. ábra).



7. Ábra. Lineáris morfometriai: főkomponens analízis eredménye.

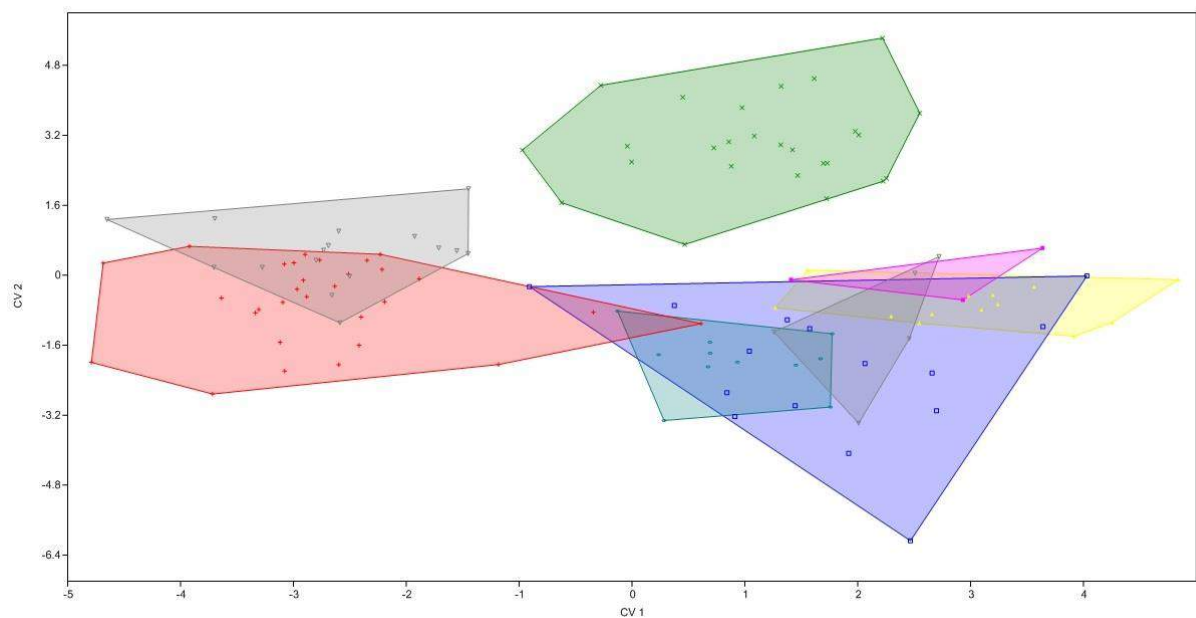


8. Ábra. Az első főkomponens kialakításához hozzájáruló változók mértékei.

Fajok elkülönítésének vizsgálata

Kanonikus variancia analízist (CVA)

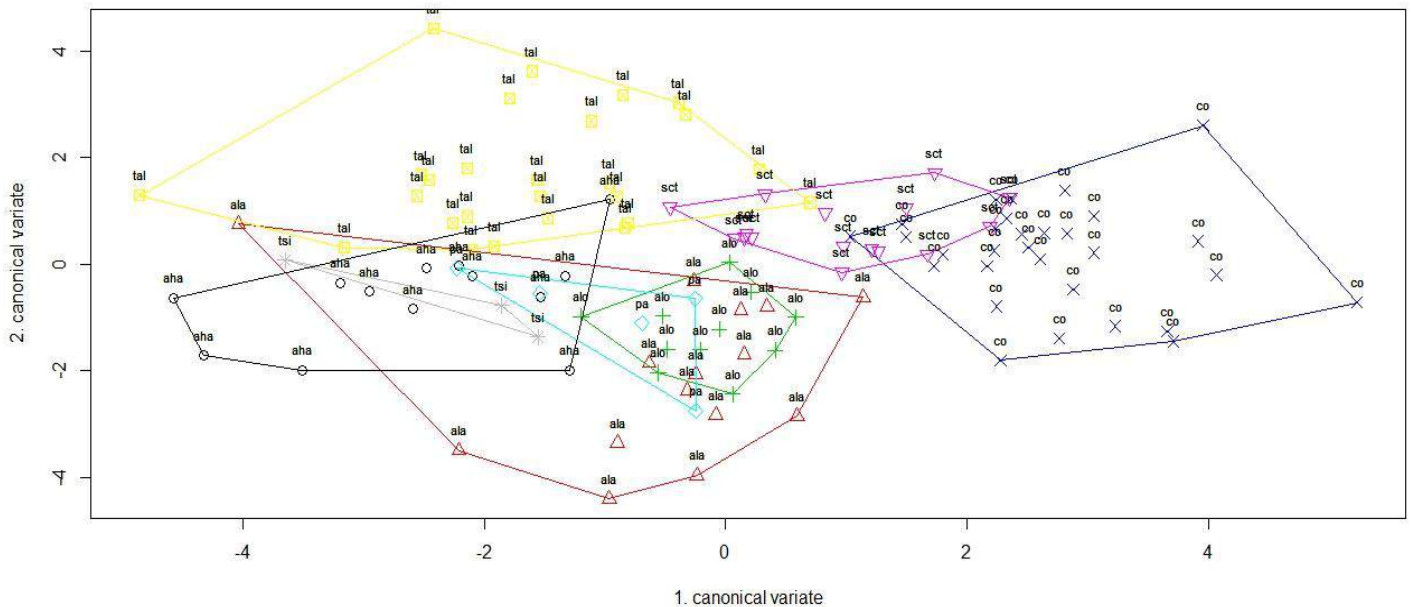
A továbbiakban vizsgáltam a fajok elkülönítését CVA segítségével, mind a 6 változót megtartottam. Eredményül azt kaptam, hogy a 6 jelleg alapján nem különültek el jól a fajok. Egyedül a *P. albimana* fajt csoportosította külön. Szignifikánsan még algénusz szinten sem különítette el (9. ábra).



9. Ábra. Kanonikus variancia analízis mind a 6 változó alapján.

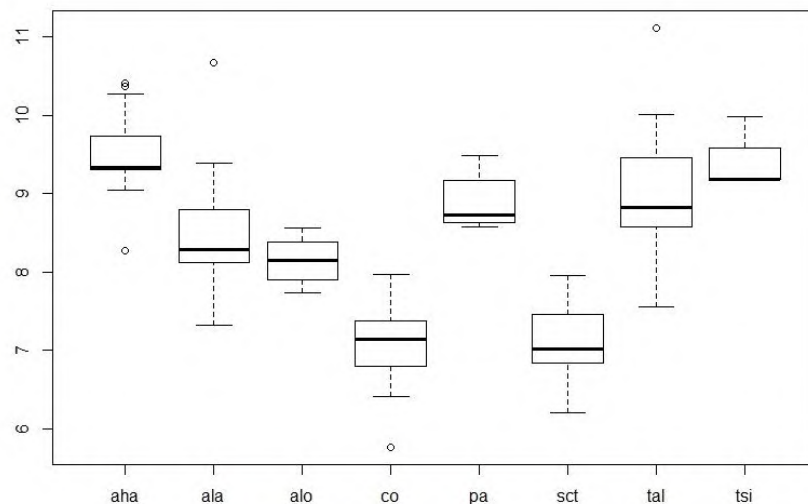
Diszkriminancia analízis (DA)

Mivel a CVA nem különítette el jól a fajokat, így más statisztikai módszerrel próbálkoztam. Továbbiakban diszkriminancia analízis segítségével vizsgálom a fajok szétválását. Az elvégzett diszkriminanciaanalízis során csak két magyarázó jelleget vettem figyelembe, PCA alapján a D és az F változókat. Eredményül azt kaptam, hogy a fajok így sem válnak el szignifikánsan egymástól, még algénusz szinten sem.



10. Ábra. Diszkriminancia analízis 2 változó alapján.

Majd a fajok páronkénti összehasonlítása Tukey-tesztel végeztem, a D és az F változók alapján (11. ábra).



11. Ábra. Dobozdiagram Turkey-teszt alapján a D és az F változó felhasználásával.

1. Táblázat. Fajok páronkénti összehasonlítása.

	AHA	ALA	ALO	PA	TSI	TAL	CO	SCT
AHA								
ALA	0.000374							
ALO	1.1E-06	0.653576						
PA	0.485846	0.899986	0.195471					
TSI	0.999999	0.197465	0.014234	0.907941				
TAL	0.145779	0.199093	0.001349	0.999987	0.90558			
CO	0	0	3.13E-05	0	0	0		
SCT	0	0	0.000346	4E-07	1E-07	0	1	

Az 1. Táblázatban a p értékek vannak feltüntetve, mely a szignifikancia szintet mutatja. Tehát amelyeknek a p értéke 0.05-nél nagyobb, azok a fajok szignifikánsan nem különülnek el egymástól. Eredményül azt kaptam, hogy bizonyos fajok elkülönülnek egymástól, mint például a *P. contaminata* csak a *P. scutellaris* fajtól nem különítette el, az összes többitől igen.

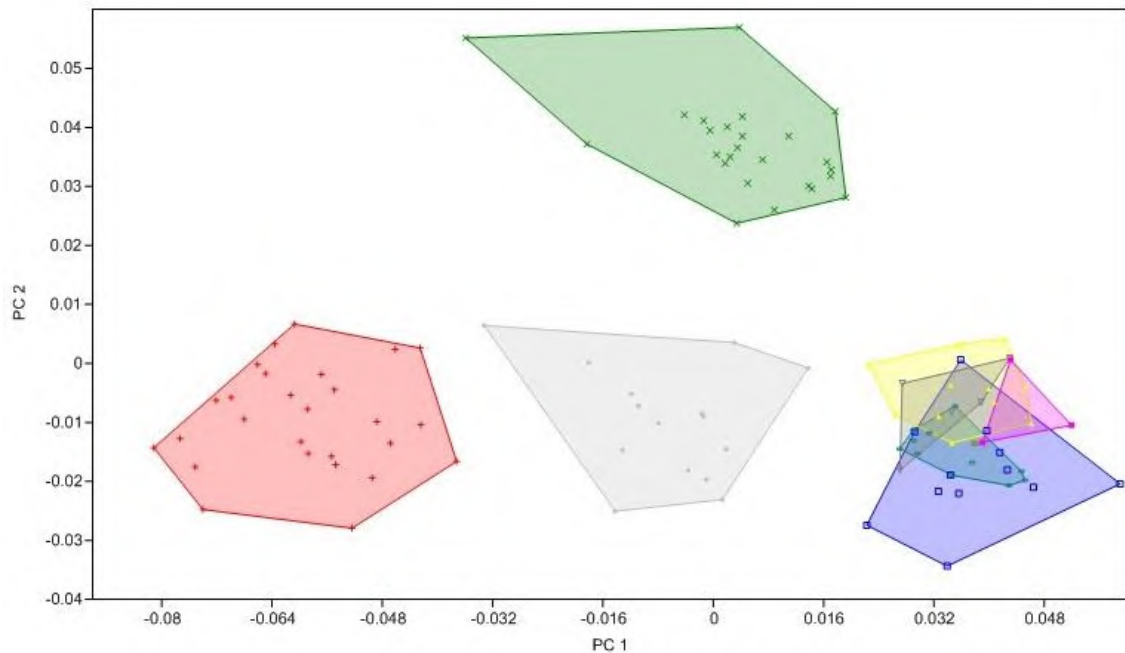
Geometriai morfometriai vizsgálatok eredményei

Mérési hiba ellenőrzése

Az adatok normáeloszlástól való eltérésének vizsgálatakor a Shapiro-Willk teszt nem mutatott ki szignifikáns eltérést. Ezt követően a Bartlett próba eredményei alapján nem találtam szignifikáns eltérést a varianciákra nézve. Majd ismételt egy-utas varianciaanalízist (ANOVA) végeztem annak vizsgálatára, hogy megállapítsam, hogy a mérések közötti eltérésből adódó variancia a teljes variancia hány százalékáért felelős. Ez alapján nagyon alacsony hibahatárral sikerült minden pontot beazonosítanom (0,93%).

Főkomponens analízis eredménye (PCA)

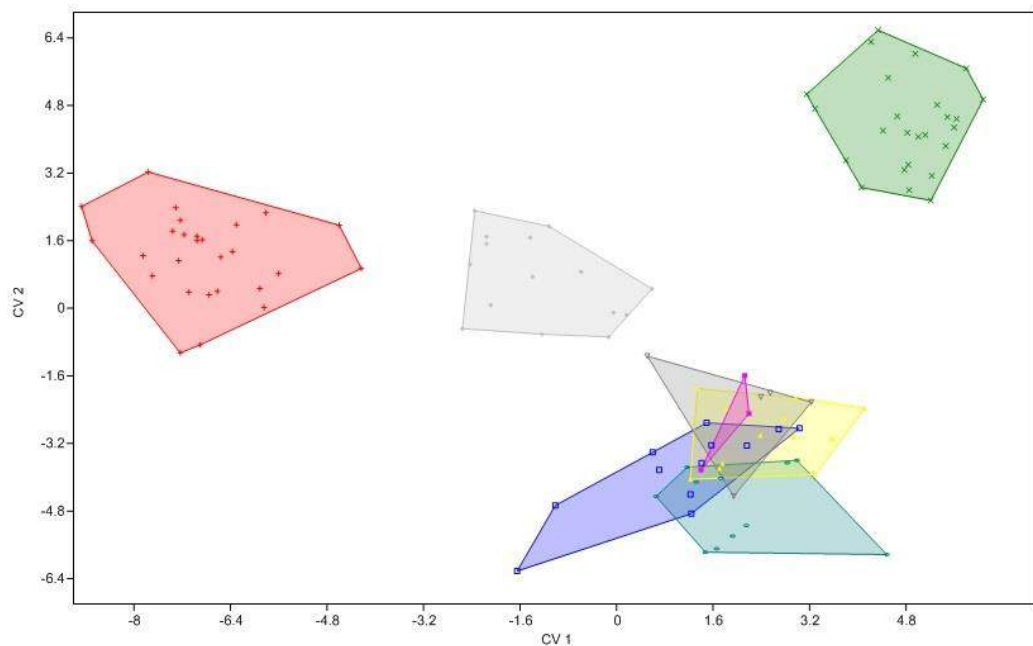
A 12. ábrán a főkomponens analízis eredménye, a legnagyobb varianciát magyarázó első két főtengety alapján. Az függelékben található 3. táblázaton látható, hogy az első főkomponens 49,7%-ban magyarázza az egyedek közötti teljes varianciát. PCA kirajzolt 3 *Ptychoptera* (*P. albimana*, *P. contaminata*, *P. scutellaris*) pontfelhőt, valamint a *Parapteroptera* egy pontfelhőként ábrázolta. A PCA segítségével egyrészt lecsökkenthető a változók száma, hiszen a további vizsgálatokban csupán azokat a főkomponenseket használjuk fel, amelyek az egyedek közötti variancia legalább 1%-át magyarázza. Így a továbbiakban csak 12 jelleggel dolgoztam, mivel a többi elhanyagolható volt (függelék 3. táblázat).



12. Ábra. A geometriai morfometriai: főkomponens analízis eredménye.

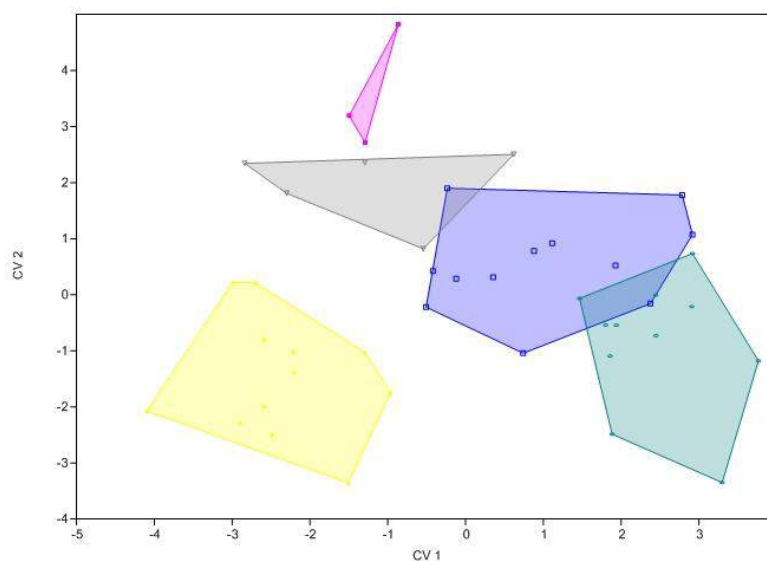
Fajok elkülönítésének vizsgálata

A 12 változó alapján elvégzett CVA eredményeként azt kaptam, hogy algénusz szinten szignifikánsan elkülöníti a csoportokat, tehát külön helyezte a *Ptychoptera* és a *Parapteroptera* algénuszokat, valamint faji szinten elkülönítette a *P. contaminata*, *P. scutellaris* és *P. albimana* fajokat (13. ábra).



13. Ábra. Kanonikus variancia analízis 12 magyarázó jelleg alapján, a *Ptychoptera* génusz esetében.

Majd külön elvégeztem egy CVA a *Parapychoptera* fajokra, eredményül azt kaptam, hogy a *P. silvicola* és a *P. handlirschi* fajokat a 12 jelleg alapján elkülönítette, ha nem egybe ábrázoltuk. Viszont *P. lacustris* faj egybeolvad *P. longicauda* és a *P. paludosa* fajokkal, így őket nem lehet szignifikánsan elkülöníteni (14. ábra).



14. Ábra. Kanonikus variancia analízis a *Parapychoptera* algénusz esetében 12 változóra nézve.

Nőtények azonosítása

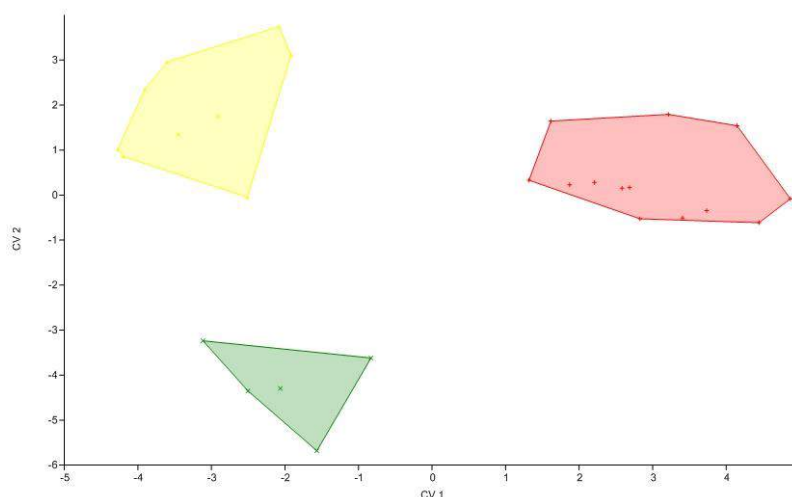
P. paludosa és *P. silvicola* fajok kivételével mindegyik faj nőstényeivel is végeztem morfometriai analíziseket. Melynek eredménye az volt, hogy csak a geometriai morfometria módszerénél azonosította megfelelően a nőstényeket a *Ptychoptera* algénusz esetében valamint a *Parapychoptera* algénuszba tartozó *P. handlirschi* faj esetében (13, 14 ábra).

Populációk közötti variabilitás

Mivel láttam, hogy a módszer alkalmas algénuszok és akár fajok elkülönítésére is, így a továbbiakban vizsgálatokat végeztem a populációk között. Vizsgáltam, hogy elkülönülnek-e a populációk egymástól a módszer segítségével. Azoknál az fajoknál, populációknál ahol nem volt elegendő példány nem végeztem CVA analízist, mivel az eredmények nem lettek volna megbízhatóak. Jelen előfeltételeknek csak két faj felelt meg, a *P. contaminata* és a *P. albimana*.

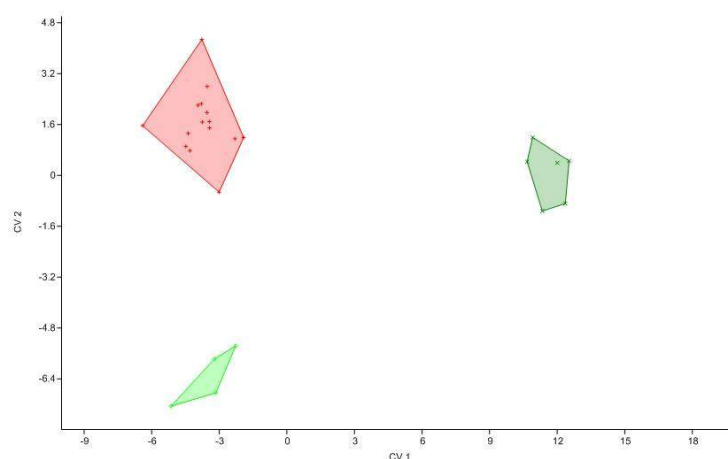
P. contaminata esetében 3 populációt különítettem el, a Románia területéről származó példányokat 1 csoportnak vettem, Bulgária területéről származó populációkat két csoportra osztottam fel egyik a nyugati, a másik a keleti populációra. Nyugatinak vettem a Dragoman közelében lévő populációkat, keletinek pedig a Burgas közelében lévő populációt, valamint a Dabravka közelében lévő populációt. Az kialakított 3 csoport alapján a CVA elemzés

eredményeképpen azt kaptam, hogy a populációk nagyon jól elkülönülnek egymástól. A romániai populáció jobban elkülönül CV 1 tengely mentén (15. ábra).



15. Ábra. Kanonikus varianciaanalízis a *P. contaminata* 3 populációja között. Pirossal a romániai populációk vannak jelölve, sárgával a bulgáriai nyugati, zölddel a bulgáriai keleti populációk vannak feltüntetve.

A *P. albimana* faj populációi esetében, nagyobb régiók szerint csoportosítottam, két nyugati populációt és egy keleti populációt vettem figyelembe. Keleti csoportnak a romániai és a bulgáriai populációkat csoportosítottam, egyik nyugati csoportnak a németországi populációkat, másik nyugati csoportnak pedig a luxemburgi és a franciaországi populációkat vettem. A kapott CVA eredmények alapján mind a 3 csoport jól elkülönül egymástól. Levonhatjuk a következtetést, mely szerint a populációkat nagyon jól elkülöníti egymástól, főleg a keleti és a nyugati populációkat, mivel azok a CV 1 tengelyen jól szétválnak (16. ábra).



16. Ábra. Kanonikus varianciaanalízis a *P. albimana* 3 populációja között. Zölddel a romániai és a bulgáriai populációk vannak jelölve, pirossal a németországi nyugati populációk, világoszölddel a luxemburgi és a franciaországi populációk vannak feltüntetve.

5. Következtetések

A két módszer tesztelésének eredményei alapján megállapítható, hogy a lineáris morfometriai módszer nem használható a redős szúnyogok esetében a szárnyak alapján történő algénusz vagy faji szintű határozásra. Viszont a geometriai morfometriai módszerek alkalmasnak bizonyultak az algénuszok elkülönítésére. Használható a *Ptychoptera* algénuszba tartozó fajok határozására, valamint a nőstények faji szintű elkülönítésére. Különösen a nőstények esetében melyek külső ivarszervi függelékeik alapján nehezen különíthetők el, a geometriai morfometriai módszerek alkalmasabbak a faji szintű elkülönítésre. Viszont a *Parapteroptera* algénusz esetében, ez a módszer nem különítette el jól a fajokat, náluk továbbra is az ivarszervi függelékek vizsgálatai maradnak alkalmazható módszerként. Ez különösen igaz volt három faj esetében, amivel a fajokat nem tudtuk szignifikánsan szétválasztani e módszer segítségével. Ezek a fajok *P. lacustris*, *P. longicaudata* és *P. paludosa*.

Ellenben az összes többi vizsgált faj esetében megfelelő példányszám mellett a geometriai morfometria alkalmas a fajon belül a populáció szintű elkülönítésre is (potenciális kriptikus taxonok jelenlétét).

A geometriai módszereket először alkalmazzuk a redős szúnyogok fajok közötti és fajon belüli variabilitás vizsgálatára. Mivel a geometriai morfometriai módszerek a vizsgált esetek többségében lehetővé teszi a faji szintű azonosítást és a fajon belüli variancia kimutatását, ez a módszer javasolt például a konzerváció biológiában, hisz lehetővé teszi olyan non-invazív módszerek alkalmazását, melyek nem követelik meg a példányok elpusztítását.

6. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, dr. Keresztes Lujzának a szakmai tanácsokért és türelméért. A begyűjtött példányokért a gyűjtőknek. Kolcsár Levente-Péternek a dolgozat megírásában nyújtott segítségéért. Köszönettel tartozom még a Balassi Intézetnek és az Emberi Erőforrások Minisztériumának, valamint az Apáthy István Szakkollégiumnak az anyagi és szakmai támogatásért.

7. Felhasznált irodalom

1. Andersson H. (1997) *Diptera Ptychopteridae, Phantom Crane Flies*. In: Nilsson A.N. (ed.): *Aquatic Insects of North Europe*. Apollo Books, Stenstrup, Denmark.
2. Bátori, E., Pecsenye, K., Tóth, J. P., & Varga, Z. (2012). Patterns of genetic and morphometric differentiation in *Melitaea (Melicta) athalia* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 107(2), 398–413.
3. Bookstein FL, Chernoff B, Elder RL, Humphries JM, Smith GR, Strauss RE. (1985) *Morphometrics in evolutionary biology: the geometry of size and shape change*. Academy of Natural Sciences, Vol. 15. Philadelphia.
4. Deliné-Draskovits Á. (1983) *Redős szúnyogok – Ptychopteridae*. Fauna Hungariae, XIV. Diptera I. Akadémiai Kiadó, Budapest.
5. Freeman P. (1950) *Family Ptychopteridae*. In: *Handbook for the identification of British Insects IX: 2. Diptera, Nematocera*. London, England.
6. Fruciano, C., Ferrito, V., Tigano, C., (2011) Traditional and geometric morphometrics detect morphological variation of lower pharyngeal jaw in *Coris julis* (Teleostei, Labridae). *Italian Journal of Zoology* 78(3):320-327.
7. Hollós, A., Pecsenye, K., Bereczki, J., Bátori, E., Rákossy, L., Varga, Z. (2012) Pattern of genetic and morphometric differentiation in *Maculinea nausithous* (Lepidoptera: Lycaenidae) in the Carpathian Basin. *Acta Zoologica Hungarica* 58(1): 87-103.
8. J De la Riva, F Le Pont, V Ali, A Matias, S Mollinedo, JP Dujardin (2001) Wing Geometry as a Tool for Studying the *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) Complex, *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* Vol. 96(8): 1089-1094.
9. Ludoóki, J., Francuski, L., Vujic, A., Milankov, V. (2008) The *Cheilosia canicularis* group (Diptera: Syrphidae): species delimitation and evolutionary relationships based on wing geometric morphometrics. *Zootaxa* 1825: 40–50.
10. Marko. M., és Ethersia. P., (2007) Subjective visual evaluation vs. traditional and geometric morphometrics in species delimitation: a comparison of moth genitalia. *Systematic Entomology* (2007), 32, 371–386.
11. McAlpine J.F., és Wood DM E., (1981) *Manual of Nearctic Diptera*. Research Branch, Agriculture Canada, Ottawa.
12. Mutanen, M., Kaitala, A., Monkkonen, M. (2006) Genital variation within and between three closely related *Euxoa* moth species: testing the lock-and-key hypothesis. *Journal of Zoology*, 268, 109–119.
13. Oosterbroek P. (2006) *The European Families of the Diptera*. Identification, diagnosis, biology. KNNV Publishing, Amsterdam, The Netherlands.

14. Peus, F. (1958) *Liriopidae*. In LINDNER, E.: Die Fliegen der Palaearktischen Region Bd. III, 10b: 10-44, 7.
15. Rozkošný R. (1997) *Family Ptychopteridae*. In: Papp L. and Darvas B. (eds.): *Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera*, Volume 2. Nematocera and Lower Brachicera. Science Herald, Budapest. 291-296.
16. Salmela, J. (2010) Crane fly (Diptera, Tipuloidea & Ptychopteridae) fauna of Limhamn limestone quarry (Sweden, Malmö) – diversity and faunistics viewed from a NW European perspective. *Norwegian Journal of Entomology* 57, 123–135.
17. Tjeder B. (1968) Notes on the Scandinavian Ptychopteridae, with description of a new species (Diptera). *Opuscula Entomologica* 33: 73-79.
18. Tóth, J. P., és Varga, Z. (2011) Inter- and intraspecific variation in the genitalia of the “*Melitaea phoebe* group” (Lepidoptera, Nymphalidae). *Zoologischer Anzeiger. Journal of Comparative Zoology*, 250(3), 258–268.
19. Ujvarosi, L.; Balint, M. (2012) Discovery of the second European *Amalopsis* species: an integrative survey of the widespread *Pedicia (Amalopsis) occulta* (Meigen, 1830) (Insecta, Diptera, Pediciidae). *Zootaxa* 3189: 1-28.
20. Ujvarosi, L.; Balint, M.; Meszaros, N.; Popescu, O. (2009) Genetic diversity with morphological imprints among *Pedicia (Amalopsis) occulta* (Meigen, 1830) (Diptera, Pediciidae) populations in the Carpathian area: Preliminary results. *Lauterbornia* 68: 47-58.
21. Ujvárosi, L., Kolcsár, L.P., Török, E. (2011) An annotated list of Ptychopteridae (Insecta, Diptera) from Romania, with notes on the individual variability of *Ptychoptera albimana* (Fabricius, 1787). *Entomologica romanica* 16: 39-45.
22. Villemant, C., Simbolotti G., Kenis, M. (2007) Discrimination of *Eubazus* (Hymenoptera, Braconidae) sibling species using geometric morphometrics analysis of wing venation *Systematic Entomology*, 32, 625–634.
23. Willemart, R. H., Osses, F., Chelini, M. C., Macías-Ordóñez, R., Machado, G. (2009). Sexually dimorphic legs in a *Neotropical harvestman* (Arachnida, Opiliones): ornament or weapon? *Behavioural processes* 80(1), 51–9.
24. Zelditch, M. L., Swiderski, L. D., Sheets, D., Fink, L., W. (2004) *Geometric Morphometrics for Biologists: A PRIMER*. Elsevier (USA).
25. Zwick P. and Statarý J. (2002) *Ptychoptera delmastroi* sp. n. (Diptera, Ptychopteridae) from Italy. *Aquatic Insects* 25: 241-246.

8. Függelék

1.Táblázat. Az alábbi táblázatban fel van tüntetve a példányok kódjai, példányszámaik, pontos gyűjtési dátumaik és helyeik.

Kód	Peldány	Gyűjtési dátum	Gyűjtési hely
AHA-BG-01	1 hím	6/12/2008	BG.VE.Velingrad. Rodopi hegység, 870 m
AHA-RO-01	2 hím	7/19/2006	RO.CV.Kovászna (Covasna). Kommandó (Comandau). Fenyőerdő, forráskifolyó, 1009 m
AHA-RO-02	4 hím, 1 nőstény	6/21/2010	RO.CJ,Kolozs (Cluj). Erdőfelek (Feleacu). Malom völgye, patakpart, 640 m
AHA-RO-04	1 hím	7/6/2011	RO,Erdély,HR, Vasláb (Voşlăbeni), Gyergyói-medence (Depresiunea Giurgeni), Szenéte (Senetea), 764 m
AHA-RO-05	2 hím	6/29/2011	RO,Erdély,BH, Vasaskőfalva (Pietroasa), Boga (Boga), Bihari hegyek (Munții Bihor), Pádis(Padiș), Boga-völgye (Valea Boga), 900 m
AHA-RO-06	1 hím	8/4/2012	RO,Erdély,HR, Újfalu (Suseni), Görgényi-havasok (Munții Gurghiu)/Hargita-hegység (Munții Harghita), Szenéte-patak, forrás környék, 1047 m
AHA-RO-07	1 hím	7/10/2012	RO,Erdély,HR, Vasláb (Voşlăbeni), Gyergyói-medence (Depresiunea Giurgeni), Heveder, kis vízfolyás mentén, 793m
ALA-BG-01	1 hím	6/12/2008	BG.VE.Velingrad. Rodopi hegység, 870 m
ALA-BG-02	3 hím	4/30/2012	BG, Dabravka, Dabravka víztározó tó, 350 m
ALA-RO-01	2 hím	5/21/2006	RO.BH.Bihar (Bihor). Jád völgye (Valea Iadului). Lesi tó környéke, Jadolina vízesés, 920 m
ALA-RO-02	1 hím	5/28/2007	RO.AB.Fehér (Alba). Torockó (Rimetea).Torockó pataka, Kati néni panziója, 480 m
ALA-RO-03	3 hím	6/16/2008	RO.CS.Krassó-Szörény (Caras-Severin). Almásmező (Poiana Marului). Szörényi havasok, 970 m
ALA-RO-04	4 hím	5/8/2009	RO.CS.Krassó-Szörény (Caras-Severin). Új Szászka (Sasca Romana), Bég völgye, 240 m
ALA-RO-05	1 nőstény	7/9/2006	RO.CS.Krassó-Szörény (Caras-Severin). Herkulesfürdő (Baile Herculane), 151 m
ALO-RO-01	4 hím	6/2/2005	RO.TL.Tulcea. Telita, Macin hegység, Celic Dere kolostor környéke, 109 m
ALO-RO-02	5 hím	6/10/2006	RO.TL.Tulcea. Luncavita, Macin hegység, Valea Fagilor, 151 m
ALO-RO-03	1 nőstény	6/28/2012	RO,Azuga, Bucegi hegység, Valea Casariei, 1024 m
ALO-RO-04	1 hím	6/15/2012	BG, East C. Balkan, Stara Reka, limestone mine, mellék patak, 597 m
APSI-RO-01	1 hím	7/23/1998	RO.CJ.Kolozs (Cluj). Mezőszovát (Suatu), Mezőszováti sztyepprét, 340 m

TSI-RO-01	2 hím	5/26/2012	RO,MM, Baia Sprie, Gutin-havasok, Gutin hágó, forrás patak, 997m
TAL-BG-01	1 hím	6/12/2008	BG.VE.Velingrad. Rodopi hegység, 870 m
TAL-BG-02	1 hím	4/30/2012	BG, Dabravka, Dabravka víztározó tó, 350 m
TAL-BG-03	1 hím	7/15/2012	BG, Rodope Mtsai, Velingrad, Yundula, 867 m, madicolous habitat
TAL-DE-01	13 hím, 1 nőstény	5/16/1979	DE.Hessen. Schlitz, Bambey, 265 m
TAL-DE-03	1 hím	5/16/1982	DE.Schleswig-Holstein. Grebin, Lütjen lake shore, 33 m
TAL-FR-01	3 hím	1/7/2012	France Lanslebourg-Mont-Cenis Vanoise NP, Rhone-Alps, Les Rivets, 2092 m
TAL-LU-01	1 hím	9/4/2005	LU.Luxembourg. Grewenmacher. Echternach, 312 m
TAL-RO-01	2 hím	5/22/2010	RO,Erdély,HR, Vasláb (Voşlăbeni), Gyergyói-havasok (Munții Giurgen), Ságó-patak, 907 m
TAL-RO-02	1 hím	12/4/2013	RO, CJ, Kolozsvár, Bükk, Gorbo pataka, 416m
TCO-BG-01	7 hím	5/2/2011	BG.BU.Burgas. Burgas, tó part, 17 m
TCO-BG-02	8 hím	5/7/2012	BG, Dragoman, Dragoman láp, 702 m
TCO-BG-03	1 hím	4/30/2012	BG, Dabravka, Dabravka víztározó tó, 350 m
TCO-RO-01	1 nőstény	5/10/2006	RO.CJ.Kolozs (Cluj). Kolozsvár (Cluj), Szénafüvek, koporsók, 472 m
TCO-RO-02	4 hím	4/25/2009	RO.CJ.Kolozs (Cluj). Kolozsvár (Cluj), Szénafüvek, koporsók, 472 m
TCO-RO-03	5 hím	7/9/2011	RO,Erdély,SM, Adorján (Adrian), Túr Menti Védett Terület (Ariile Protejate "Râul Tur"), 129 m
TCO-RO-04	1 hím	7/13/2011	RO,Erdély,SM, Sárköz (Livida), Túr Menti Védett Terület (Ariile Protejate "Râul Tur"), 136 m
TCO-RO-05	1 hím	7/7/2011	RO,Erdély,SM, Szárazberek (Bercu), Túr Menti Védett Terület (Ariile Protejate "Râul Tur"), Vármegyeárka (ér/csermely), 121 m
TCO-RO-10	1 hím	7/12/2012	RO,Bánát,MH, Cornereva, Țațu, Hehádai-hegység (Munții Mehedinți), Cserna-völgye (Valea Cernei), 349 m
TPA-BG-01	2 hím, 1 nőstény	7/16/2012	BG, Rhodope Mtsai., Fotinovo, 1547 m, small stream,
TPA-SRB-01	2 hím	5/7/2012	SRB, Temska, patak, Cerovo patak, 450 m
TSC-BG-01	1 hím	6/11/2008	BG.Dospat. Dospat, Rhodopi hegység, 1320 m
TSC-RO-01	3 hím	2005.08/25	RO,Erdély,HR, Vasláb (Voşlăbeni), Gyergyói-havasok (Munții Giurgen), Ságó-patak, 907 m
TSC-RO-02	2 hím	5/22/2010	RO,Erdély,HR, Vasláb (Voşlăbeni), Gyergyói-havasok (Munții Giurgen), Ságó-patak, 907 m
TSC-RO-03	1 hím	5/25/2010	RO,Erdély,HR, Gyergyóditró (Ditrău), Gyergyói-medence (Depresiunea Giurgen), Ditró-patak (Pârâul Ditrăului), 950 m
TSC-RO-04	1 hím	6/15/2010	RO,BN,Borsa telep. Radnai havasok, Stiol glaciális tó, 1657m
TSC-RO-05	1 hím	6/4/2011	RO,Erdély,HR, Gyergyóditró(Ditrău), Gyergyói-medence

			(Depresiunea Giurgeni), Faluban, 802 m
TSC-RO-06	1 hím	8/8/2011	RO,Erdély,HR, Gyergyóditró(Ditrău), Gyergyói-medence (Depresiunea Giurgeni), Faluban, 802 m
TSC-RO-07	1 nőstény	6/27/2011	RO,Erdély,BH, Pádis (Padiș), Bihari-hegység(Munții Bihor), Ponor-rét (Luncă Ponor), 1100 m
TSC-RO-08	2 hím	8/3/2012	RO,Erdély,HR, Balánbánya (Bălan), Hagymás-hegység (Munții Hășmaș), Gál-kút-patak, 884 m
TSC-RO-09	3 hím	8/5/2012	RO,Erdély,HR, Gyergyói-havasok (Munții Giurgeni), Gődücs (Lok)-patak, 1001 m

2.Táblázat. A PCA főtengek által magyarázott variancia százalékok a lineáris morfometriánál.

PC	Eigenvalue	% variance
1	2.58906	96.179
2	0.057565	2.1385
3	0.030104	1.1183
4	0.009325	0.34639
5	0.005223	0.19402
6	0.00064	0.02377

3.Táblázat. A PCA főtengek által magyarázott variancia százalékok a geometriai morfometriánál.

PC	Eigenvalue	% variance
1	0.00151585	49.718
2	0.000470065	15.418
3	0.000231692	7.5993
4	0.000150042	4.9212
5	0.000105086	3.4467
6	7.08E-05	2.323
7	6.19E-05	2.0297
8	6.00E-05	1.9669
9	5.01E-05	1.6431
10	4.36E-05	1.429
11	3.90E-05	1.2783
12	3.58E-05	1.1744