

Relicte, martori ai unor procese evolutive complexe ale ecosistemelor montane din Carpați: procese istorice și tendințe viitoare" cod proiect: **PN-II-ID-PCE-2012-4-0595**, nr. contract: **50/ 02.09.2012**

Rezultate științifice sintetizate pentru anul 2013:

Pentru testarea statutului de relict terțiar ai unor specii prezente în flora și faunei României, în anul **2013** au fost realizate sinteze cuprinzătoare a datelor faunistice și floristice a speciilor țintă, bazate atât pe datele din literatură de specialitate, cât și o prelucrare a datelor colecțiilor personale. Rezultatele vor fi sintetizate după cum urmează:

1. **Speciile de plante ținte** au fost selectate după statutul lor de relicte terțiare sugerate de datele din literatură cât și de datele de distribuție actuală precum și localizarea rudelor celor mai apropiate. Aceste specii sunt *Syringa josikae*, *Hepatica transilvanica* și *Campanula carpatica*.

1.1. *Sinteza datelor din literatura de specialitate.* Studiarea literaturii de specialitate privind speciile de plante cu caracter relictar avea două obiective principale: **i)** culegerea informației despre poziția filogenetică a speciilor țintă, studiile anterioare de filogenie moleculară și cariologice pe gen, respectiv **ii)** identificarea a câtor mai multe populații de *S. josikae*, *H. transilvanica* și *C. carpatica* din Carpați. Conform datelor din literatură de specialitate *S. josikae* este prezentă numai în România în Valea Crișurilor, Arieșului, Someșului Cald și Valea Galbenă și Ucraina, Carpații Păduroși (Kohut 2003). Ruda cea mai apropiată, *Syringa woolfi* este localizată în sudul Chinei, potrivit datelor extrase dintr-o serie de lucrări care se ocupă de clarificarea filogeniei genului *Syringa* (Kim și Jansen 1998, Wallander și Ablert, 2000, Zhang și Alexander, 2001, 2002, Rzepka-Plevneš, et al. 2006, Li et al. 2012). În ceea ce privește specia *H. transilvanica* cele mai importante date de distribuție au fost identificate într-un număr de 45 de lucrări de specialitate, iar datele de filogenie și legăturile de rudenie (cu *H. falconeri* din Himalaia) am identificat în lucrările lui Ogisu et al. 2002; Mabuchi et al. 2005; Weiss-Schneeweiss et al. 2007; Zonneveld 2010; Pfosser et al. 2011; Hoot et al. 2012). În cazul speciei *C. carpatica* datele de distribuție au fost extrase din 50 de lucrări de specialitate, iar legăturile de rudenie (cu *C. pyramidalis* din sudul Balcanilor) și datele de filogenie din lucrările lui Cano-Maqueda et al. 2008; Baltisberger and Widmer 2009; Borsch et al. 2009; Cellinese et al. 2009; Alarcón et al. 2013; Lakušić et al. 2013). Totodată, am consultat în Herbarul din Cluj-Napoca 81 coli de herbar pentru speciile respective.

1.2. *Datele colectărilor proprii.* În urma investigațiilor pe teren din anii 2012 și 2013 am reușit să cartăm exemplarele de *S. josikae* existente ale populațiilor de odinioară din văile Crișurilor (Crișul Negru, Crișul Repede și afluenți: Valea Iadului – Stâna de Vale, Valea Drăganului (doar în grădini) și Valea Henți) și Arieș, dar totodată am sesizat faptul că specia nu se mai regăsește în unele localități menționate în literatură (Valea Someșului Cald, Valea Drăganului). În total au fost identificate 116 exemplare/clonă, dintre care: (1) pe Arieș 8 exemplare izolate (dintre care 2 plantate în grădini); (2) Pe Valea Crișului Negru 5 exemplare izolate; (3) pe Valea Hențului 3 exemplare izolate; (4) pe Valea Drăganului 2 exemplare plantate în grădini; (5) pe Valea Iadului 98 exemplare, din care 81 Clonă de-a lungul firului apei. pe un afluent de stânga – Valea Serenad 12 exemplare și la Stâna de Vale de-a lungul pârâului o clonă extinsă și 2 exemplare izolate, 3 exemplare în grădini. În cursul anului 2013 am eșantionat mai multe populații de *H. transilvanica* (Fig. 1B), respectiv *C. carpatica* (Fig. 1A) din România pentru materialul biologic necesar testării și selectării markerilor moleculari. Probe de *H. transilvanica* am colectat de la următoarele locații: M-ții Hășmaș (Zona Cheile Bicazului, M-ții Postăvaru, Cheile Dâmbovicioarei și M-ții Țarcu (Rez. naturală Fața Fetii)). Probe de *C. carpatica* care vor fi utilizate pentru studiile preliminare de genetica populațiilor provin de la următoarele locații: M-ții Hășmaș (Zona Bălanului), M-ții Postăvaru și Cheile Dâmbovicioarei. Am obținut recent material de *Hepatica falconeri* colectat de Harry Jans (Olanda) în Kârgâzstan în 2013. Acesta va fi utilizat pentru testarea ipotezei de origine aloploidă (hibridă) pentru *H. transilvanica*. Achiziționarea restului speciilor de *Hepatica* (care nu cresc în România) este în curs de procesare.

1.3. *Sinteza datelor de distribuție și o scurtă caracterizare a arealelor.*

Syringa josikaea. În habitatele investigate specia se găsește la altitudini cuprinse între 500 – 1100 m (Fig. 1). Deoarece prezența speciei este legată de râurile montane, orientarea exemplarelor diferă în funcție de orientarea cursului apei. Clonele găsite au dimensiuni variabile până la 1000 m². În ceea ce privește dimensiunea speciilor, acestea au perimetrul trunchiului (măsurat la 50 cm de la pământ) până la 24 cm, iar înălțimea maximă de 4,5 metri. Datele noastre arată ca specia este prezentă în următoarele tipuri de habitate (1) de-a lungul râurilor montane pe stânci, grohotișuri; (2) malul râurilor montane, chiar deasupra apei; (3) lunca râurilor din zona de deal (4) forma cultivată (plantat în grădini).

Campanula carpatica. Este un endemism Carpatic, cu răspândire generală în tot lanțul Carpatic. Planta vegetează pe coaste abrupte, stâncării, grohotișuri, în locuri pietroase, pe surpături, șisturi calcaroase din etajul montan până în zona alpină.

Hepatica transsilvanica. Este o specie endemică pentru Carpați, se găsește doar în România în regiunea montană, în păduri și tufișuri umbroase în Carpații Meridionali și Orientali. Prezența speciei în Munții Apuseni este incertă.

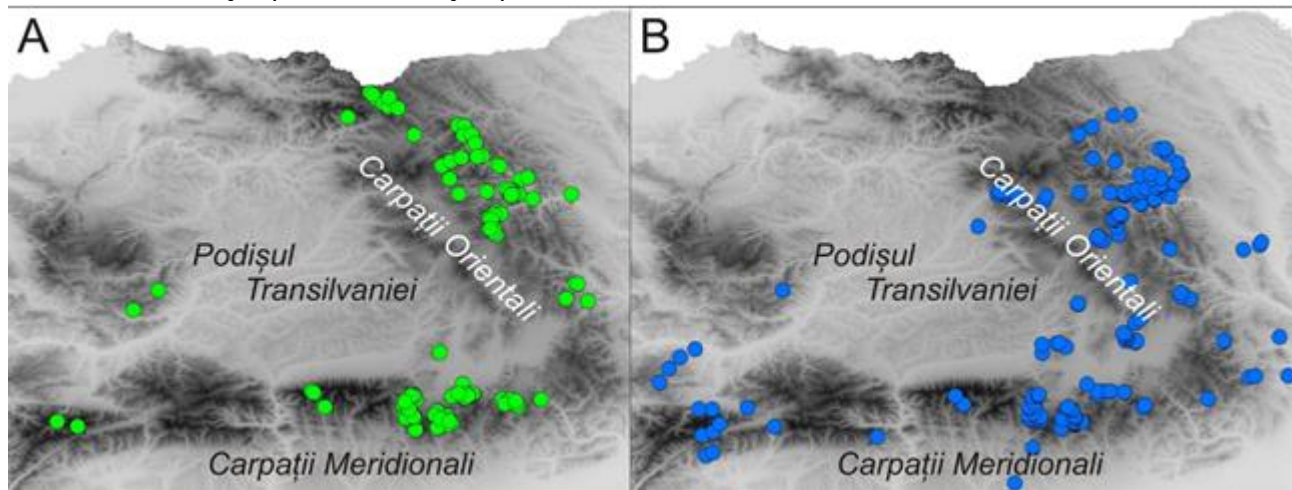


Fig. 1. A – Distribuția speciei *Campanula carpatica* (A) și *Hepatica transsilvanica* (B) în Carpații Românești

1.4. *Rezultate genetice preliminare la Hepatica transsilvanica și Campanula carpatica*. Analizele genetice necesită testarea și selectarea markerilor moleculari cu moștenire diferită (maternală în cazul markerilor cloroplastici respectiv biparentală în cazul markerilor nucleari). Am achiziționat în cadrul proiectului un set de amorse (primeri) pe care am început să-i testăm (în reacții PCR) pentru amplificarea regiunilor de ADN țintă. Unul dintre markerii cel mai utilizați la plante (atât la studii de filogenie cât și la cele de filogeografie) este regiunea intergenică cloroplastică rpl32-trnL. Utilizând PCR am amplificat această regiune cu amorse noi concepute din probe de *Hepatica*. Variabilitatea markerului urmează să fie testată după primele reacții de secvenare. În ceea ce privește markerii nucleari pentru studiul de filogenie moleculară la *Hepatica*, am ales pe regiunile nucleare LFY intronul 2 și regiunea At103. Pentru amplificarea regiunii LFY intron 2 am conceput amorse noi care urmează să fie testate iar pentru amplificarea regiunii At103 am folosit cu succes amorsele găsite în literatură (Li et al. 2008). Primii produși PCR de At103 din *H. transsilvanica* respectiv *H. falconeri* au fost deja trimise la secvenare. Pentru studiul pe *Campanula carpatica* am constatat că regiunea cloroplastică intronică petB-petD (Borsch et al, 2009) prezintă variabilitate între probele provenite din populații/regiuni diferite ale speciei (pe baza secvențelor publice găsite în GenBank: JX915231, JX914755, JX914675, FN396996). Prin urmare, această regiune (posibil în combinație cu alte regiuni ADN) va fi folosită în studiul de filogeografie al speciei. Pentru studiul de filogenia moleculară la *C. carpatica* vom folosi markerii cloroplastici și nucleari (psbA-trnH, psbZ-trnfM, trnG-trnS, ITS) utilizați de Lakusic et al. (2013) în *C. pyramidalis* despre care se știe că este strâns înrudită cu specia noastră țintă.

2. Speciile de gargarite tinte.

2.1. *Sinteza datelor din literatura de specialitate*. Specia țintă *Otiorhynchus (Elechranus) remotegranulatus* Stierlin, 1891 (sin. *peterfii* Mallasz, 1903) este endemică în Carpați fiind prezentă doar în România în localități din Transilvania, Crișana și Banat așa cum rezultă din lucrările mai vechi în care se fac referiri la această specie (Stierlin, 1891; Mallász, 1903, citat de Petri, 1912; Petri, 1912, 1925/1926; Endrödi, 1960, 1961 a, b) dar și din cele mai recente publicate de noi (Teodor, Crișan și Beldean, 2002;

Teodor și Crișan, 2004; Teodor și Antonie Vlad, 2005, 2007; Teodor, 2011) sau de alți autori (German și Sprick, 2008). În total există date referitoare la această specie în 13 lucrări științifice. Specia țintă *O. remotegranulatus* a fost descrisă de Stierlin în 1891 fără a specifica localitatea de unde a fost semnalată. Se cunoaște că materialul provenea de pe Valea Ponorului, Munții Bihor (Endrödi, 1961). A mai fost semnalată la: Detunata (Mallász, citat de Petri, 1912), Munții Cibin, Deva (Petri, 1925/1926), Onceasa, Valea Ponorului, Cuciulata, Vârful Cucurbăta, Zalău, Stâna de Vale, Remeți, Văliug (Endrödi, 1960). Noi am colectat indivizi din această specie anterior derulării proiectului din Munții Bihor, Munții Metaliferi iar în cadrul proiectului din Munții Gilău: 2♂♂, 3♀, 30.IV.2012, 15 exemplare, 15.VI.2013, 1237 m alt., Mărișel; Muntele Băișorii: 40 exemplare, 25.V.2012, 1280 m alt., izvoare mai sus de Stațiunea Muntele Băișorii; Munții Bihor: 30 exemplare, 17.05.2013, 1234 m alt., Molhașul Mare. Materialul se află în colecția noastră (L. Teodor). Materialul colectat recent (2012 și 2013) este păstrat în alcool 96 % pentru cercetări de morfometrie și genetice.

În concluzie putem afirma că pe baza datelor de distribuție actuală *O. remotegranulatus* este o specie endemică cu caracter relictar, răspândită în păduri de molid sau de amestec molid cu fag, cât și în pajștile și poienile vecine cu aceste păduri. Este o specie polifagă întâlnită pe *Picea abies*, *Rubus idaeus*, *Salix caprea* și *Fagus sylvatica*. Populații cu număr ridicat de indivizi au fost găsite de noi în **Munții Bihor**: Valea Gârda Seacă, Padiș și Molhașul Mare (Parcul Național Apuseni), **Muntele Băișorii**: izvoare mai sus de Stațiunea Muntele Băișorii și în **Munții Gilău**: localitatea Mărișel.

Pentru specia respectivă nu există încă date filogenetice publicate.

3. Speciile de opilionide tinte.

3.1. *Sinteza datelor din literatura de specialitate.* Specia *Ischyropsalis manicata* L. Koch 1869 a fost studiat pe teritoriul României de o serie de specialiști. Din prima jumătate a secolului XX Roewer și Kolosváry menționează specia într-o serie de articole în care publică date despre anatomia, biologia speciei, dar în același timp și date faunistice. Din anii '60 Avram și Dumitrescu publică o serie de articole despre răspândirea și ecologia speciei, menționând colecții proprii din populații din peșteri. În 1975 Weiss publică despre ecologia și fenologia opilionidelor (între acestea și specia *Ischyropsalis manicata*) din sudul Podișului Transilvaniei. În 2002, după aproape 30 de ani în care nu s-a publicat date noi despre *I. manicata* în România, Ilie publică o listă a opilionidelor cavernicole din România, în care sumarizează datele existente despre *I. manicata*. De la 2003 Băbălean publică mai multe articole în care descrie caracteristicile morfometrice a unor indivizi de *I. manicata*, folosind colecții existente dar și unele colecții proprii. Datele cele mai recente despre populații de *I. manicata* din România este oferit de Lengyel și Páll-Gergely în 2010. Fauna de *I. manicata* din restul Carpaților este studiat mai ales de Jochen Martens, un recunoscut specialist al opilionidelor, date importante despre biologie, etologia și morfologia speciei fiind publicate în 1969 într-un articol dedicat genului, și în 1978 într-o carte, care până astăzi constituie baza sistemului taxonomic al opilionidelor, dar și din publicațiile lui Klimeš (2000), Blick și Komposch (2004), Bezdecka (2010), Mihál și Astaloš (2011). Datele de referință privind filogenia genului *Ischyropsalis* vor fi extrase dintr-o lucrare mai recentă a lui Schönhofer (2013).

3.2. *Datele colectarilor proprii.* Au fost efectuate mai multe ieșiri pe teren (primele observații în habitatele probabile a speciei, testarea metodelor de colectare) la datele 25-26 octombrie la Stâna de Vale – Vlădeasa; 30 octombrie - 1 noiembrie la Tulgheș - Munții Giurgeului, Munții Hășmașu-Mare; la 7-10 noiembrie la Doicești, Munții Bucegi care însă nu a condus la colectarea speciei, dar au fost amplasate capcane Barber în habitatele speciilor, iar materialul prins de aceste capcane vor fi prelevat ulterior.

3.3. *Sinteza datelor de distribuție și o scurtă caracterizare a arealelor.* Specia *I. manicata* este un relict endemic ai Carpaților, care a fost colectată mai ales din peșteri, dar și din păduri de molid cu sol de la umed spre foarte umed, de obicei acoperit de un strat gros de mușchi. În România majoritatea populațiilor se află în Carpații Occidentali, de unde au fost colectate indivizi exclusiv din peșteri și în Carpații Orientali de unde s-au colectat indivizi din peșteri dar și din păduri de molid. Cele mai multe exemplare au fost colectate din peșterile din partea vestică a Carpaților Occidentali (peste 25 de exemplare în total, din care 15 din peștera Măgura de la Sighiștel), și din numeroasele peșteri din Cheile Vârghișului (peste 15 exemplare din care 5 din Peștera Mare de la Merești). În totalitate am colectat date despre 46 populații din peșteri și 17 populații din păduri din România, din 17 articole de specialitate. În cazul populațiilor din alte țări, am identificat 15 populații (Polonia – 6, Slovacia- 8, Ucraina - 1).

4. Speciile de diptere tinte.

4.1. *Sinteza datelor din literatura de specialitate.* Grupul de specii țintă este *Pedicia* (*Crunobia*) *saryi*, care este alcătuit din cinci specii: *Pedicia* (*Crunobia*) *straminea* (Meigen, 1838), *Pedicia* (*Crunobia*) *spinifera* (Starý, 1974), *Pedicia* (*Crunobia*) *saryi* (Savchenko, 1978), *Pedicia* (*Crunobia*) *lobifera* (Savchenko, 1986) și *Pedicia* (*Crunobia*) *apusenica* (Ujvárosi és Starý, 2003) dintre care 3 specii sunt endemice în Carpați, care vor fi prezentate mai detaliat. *P. saryi* este o specie endemică în Carpați. În 1986 Savchenko consideră un endemism al Carpaților Păduroși din Ucraina. În România a fost semnalată pentru prima dată de Ujvárosi în 2005a, din Munții Bucegi (la 1320m), datele de distribuție fiind completată ulterior cu Munții Rodnei (la 1000m) și Gutin (la 800m) (Ujvárosi 2005b). *P. lobifera* a fost descrisă din Ucraina, locul tipic de colectare fiind în apropierea satului Newicke din Rutenia subcarpatică. Savchenko (1986) menționează câteva locuri de colectare din Ucraina, dar ca și în cazul *P. saryi* acestea sunt doar regiuni, fără informații exacte. În România specia este menționată pentru prima dată de Ujvárosi (2007) din Munții Hașmaș, la o altitudine de 1404m. *P. apusenica* a fost descrisă în 2003 de către Ujvárosi și Starý din Munții Apuseni, mai exact din Aria Protejată Platoul Carstic Padiș de lângă peștera Cetatea Rădesii (1320m). Este o specie microendemică din munții Apuseni, habitatul specific fiind izvoarele carstice, reocrene și solul foarte umed. Colectarea din acest an a suplimentat numărul de indivizi din Aria Protejată Platoul Carstic Padiș și a adăugat colecției o nouă populație din Munții Pădurea Craiului (la altitudinea de 1100m)

Habitatele specifice acestor specii sunt cele cu izvoare montane mici aflate între 800m și 1500m. Pentru aceste specii nu există încă date filogenetice publicate.

4.2. *Rezultate morfometrice.* Analizele morfometrice au avut la bază indivizi masculini aflate în colecții de Diptere de la Facultatea de Biologie și Geologie din Cluj Napoca. Au fost măsurate 12 caractere în cazul genitalilor masculini. Pe Datele morfometrice au fost prelucrate statistic folosind Analiza Discriminanței Lineare și arată o diferență mare între cele trei specii carpatine și restul speciilor acestui grup (Fig. 4). Aceeași analiză bazată doar pe cele trei specii carpatine arată prezența a patru grupuri bine diferențiate care corespund speciilor *P. lobifera* și *P. apusenica*, și populațiilor de *P. saryi* provenind din Munții Bucegi respectiv Munții Rodnei (Fig. 5). Diferențierea celor două populații de *P. saryi* este posibil pe baza unui caracter micromorfologic bine definit care arată o diferență semnificativă din punct de vedere statistic.

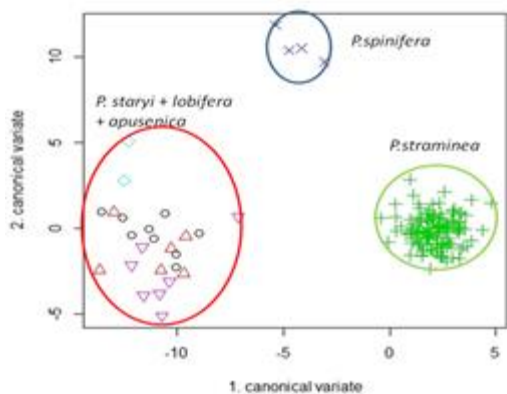


Fig. 4. Rezultatul AD lineare la grupul de specii *P. saryi*

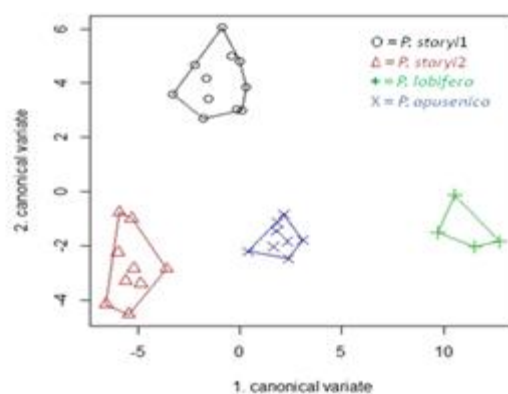


Fig. 5. Rezultatul AD la specii endemice de *P. saryi*

4.3. *Markeri moleculari și rezultate preliminare.* Markerii selectați pentru analizele filogenetice moleculare sunt: COI (mitochondrial), CPS (prima parte a genei CAD - nuclear) și *wingless* (din familia *wnt* - nuclear). Rezultatele filogenetice (Fig. 7) preliminare bazate pe secvențele mitocondriale ale citocromoxidazei C-I (COI; >650) provenite din colaborarea cu sistemul "Barcoding of Life", Canada arată o distanță mare între *P. straminea* și grupul alcătuit de *P. lobifera*, *P. apusenica* și *P. saryi*. În cadrul speciei *P. straminea* putem observa existența a două linii genetice bine diferențiate, una reprezentată de populațiile din Alpi și Mti. Bucegi, iar cealaltă de populațiile din Mti. Bihor și Parâng, și din Carpații Orientali. De asemenea putem observa două linii genetice separate și în cadrul speciei *P. saryi*, unde populațiile din Bucegi respectiv Mti. Rodnei sunt bine diferențiate. În cazul acestei specii cele două structuri genetice coincid cu cele două grupe morfologice.

Rezultatele noastre preliminare au fost prezentate in forma de poster si prezentare in cadrul a doua conferinte, cum urmeaza:

1. Conferințe naționale: *Simpozionul: BIOTA: Biodiversitate: Tradiții și Actualitate, 8-9 noiembrie 2013, Cluj-Napoca, la Facultatea de Biologie și Geologie, Universitatea Babeș-Bolyai* cu comunicarea:

1.1. Comunicari

Titlul prezentarii: Comunități de curculionide (Coleoptera: Curculionoidea) în unele ecosisteme montane din Carpați cu referire specială la taxonii cu caracter relictar. Autori: Lucian Al. **Teodor**, Vlad Milin, Lujza **Keresztes**.

Titlul prezentarii: *Syringa josikae* Jacq., o specie endemică de pe paleta diversității florice a Carpaților. Autori: Kunigunda **Macalik**, Reka **Tamas**, Levente-Peter **Kolcsár**, Lujza **Keresztes**.

1.2. Postere

Titlul: Diversitatea și distribuția grupului de specii *Pedicia (Crunobia) staryi* Savch. (Insecta, Diptera) in Muntii Carpati. Autori: **Dénes, A.L., Kolcsár, L.P., Dragoș, N., Keresztes, L.,**

2. Conferințe internaționale: *Conferința internațională: The First Interdisciplinary Symposium – Biogeography of the Carpathians: Evolution of Biodiversity in a Spatiotemporal Context, 26-28 Septembrie, 2013, Cracovia, Polonia*

2.1. Comunicari. Titlul prezentarii: Diversity and distribution of the micro-endemic *Pedicia staryi* group (Insecta, Diptera) reveal complex evolutionary history in the Carpathian Area. Autori: Lujza Keresztes, Dénes Avar Lehel, Levente Peter Kolcsár.

2.2. Postere

Titlul: Carpathians as major geographic barriers shaping the phylogeographic history of *Erythronium dens-canis* (Liliacea) in Europe. Autori: **Bartha, L., Sramko, G., Volkova, P.A., Surina, B., Ivanov, A.L., Banciu, H.**

Titlul: *Ptychoptera albimana* Fabricius, 1787 (Diptera, Ptychopteridae), a complex with important lineage divergencies in the Carpathian Area. Autori: **Török, E., Keresztes, L., Kolcsár, L.P.**

3. Publicatii:

Abstractele au fost publicate in revista *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica, Vol. 55, suppl. 1., 2013* dupa cum urmeaza:

Keresztes, L., Dénes, A. L., Kolcsár, L.P. (2013): Diversity and distribution of the micro-endemic *Pedicia staryi* group (Insecta, Diptera) reveal complex evolutionary history in the Carpathian Area. *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica*, Vol. 55, suppl. 1. p. 25.

Bartha, L., Sramko, G., Volkova, P.A., Surina, B., Ivanov, A.L., Banciu, H. (2013): Carpathians as major geographic barriers shaping the phylogeographic history of *Erythronium dens-canis* (Liliacea) in Europe: insights from plastid DNA sequences. *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica, Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica*, Vol. 55, suppl. 1. p. 39.

Török, E., Keresztes, L., Kolcsár, L.P. (2013): *Ptychoptera albimana* Fabricius, 1787 (Diptera, Ptychopteridae), a complex with important lineage divergencies in the Carpathian Area. *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica*, Vol. 55, suppl. 1. p. 70.

Totodata a fost realizata si un site al proiectului, care poate fi accesata la adresa: <http://granturi.ubbcluj.ro/carpathianrelics/>