

Zárójelentés
Az OTKA K 68538 számú
„Molekuláris és morfo-taxonómiai kutatások a Rubiaceae családban”
című pályázatáról.
(2007–2012)

ELŐZMÉNYEK

A Rubiaceae család a Föld negyedik legnépesebb virágos növény családjá több mint 700 nemzetséggel és több mint 13.000 fajjal. A közel 2 millió km²-nyi területű Mexikói Államszövetség flórája a Föld negyedik leggazdagabb növényvilága. Ebben a Rubiaceae a negyedik legnagyobb nemzetség- és fajszámú család, amely még további feltárást igényel.

A családot mindenütt specialisták kutatják és dolgozzák fel. Világviszonylatban mintegy 15–20 ilyen specialista van. A témavezetőt a Karib térség szakértőjeként 2000-ben kérte fel a mexikói UNAM a Flora deGuerrero projektben való részvételre, miután 1992 óta vesz részt a mexikói flóra feltárásában. A korszerű vizsgálatokhoz 2000-től felállt egy mikromorfológiai-molekuláris team, amely külföldi neves kutatóműhelyekkel részben együttműködésben, (Göteborg, New York) részben versenyben (Missouri, Stockholm, Texas), végezte kutató tevékenységét.

Ennek eredményeként született meg 41 tudományos közlemény és az Akadémiai Kiadó gondozásában 2006 november végén megjelent **Rubiáceas de México** című flóramű 512 oldalon, spanyol nyelven 107 eredeti művészi tollrajz ábratáblával.

A könyv unikális abban a tekintetben, hogy a mai napig az egyetlen olyan flóramű, amely egy nagy növénycsalád feldolgozását a 32 tagállamot magába foglaló Mexikói Államszövetség egész területére tartalmazza, és abban a tekintetben is, hogy alapjaiban molekuláris filogenetikai kutatások eredményeire támaszkodik.

A flóramű első kiadása is részben az OTKA, valamint a Szilárd Leó kutatási ösztöndíj támogatásával jelent meg.

CÉLKITŰZÉS

Az új kutatási programot a K58638 számú OTKA pályázat keretében kettős célkitűzéssel indítottuk:

1. A mexikói flóra további feltárása klasszikus kutatási eszközökkel. Ezt a célt az indokolta, hogy a flórakutatás új intenzív szakaszba lépett. A Mexikói Botanikai Kongresszus (Oaxaca, 2004) elhatározta, hogy mind a 32 szövetségi állam megkezdi a saját területi flóra megalapozását elősegítő gyűjtemény kialakítását. Ennek eredményeként 2007-re hatalmas új tudományos anyag keletkezett, amelynek feldolgozására – a Rubiaceae család tekintetében – a témavezető kapott felkérést.
2. A szakmai szempontból kritikus és vitatott növénycsoportok taxonómiai helyzetének korszerű – mikromorfológiai és molekuláris taxonómiai – eszközök kombinált alkalmazásával való tisztázása. Ezek a feladatok két csoportra oszlottak:
 - 2.1. Molekuláris kutatások eredményeként kialakított taxonómiai csoportok morfológiai jellemzése túlnyomórészt mikromorfológiai bizonyítékok felkutatás alapján.
 - 2.2. Morfológiai kutatások alapján el nem dönthető, vitatott taxonómiai csoportok molekuláris vizsgálatokkal történő megerősítése vagy elvetése, esetleg új taxonómiai egységek molekuláris vizsgálatokkal való felfedezése.

BEVEZETÉS

A *Deppea* nemzetség a Rubiaceae család Hamelieae tribuszába tartozik és ma mintegy 25 fajt ismerjük, amelyek mindegyike Mexikóban és a szomszédos Guatemalában él. A nemzetséget Chamisso és Schlechtendahl írták le 1830-ban. LORENCE és DWYER 1988-ban

közölték a genusz makromorfológiai vizsgálatokon alapuló taxonómiai monográfiáját. Az erőltetetten integrációs szellemű munka kiterjesztette a nemzetség diagnózisának eredeti határait, és ide vonta a brazíliai *Schenckia* (K. SCHUMANN, 1889), és a mexikói *Edithea* (STANDLEY 1933) genuszt, továbbá egy *Omittemia* fajt és egy bizonytalan származású panamai növényt. Borhidi a Rubiaceae család mexikói család monográfiája részére (2006) munkatársaival, Darók Judit, Kocsis Mariann, Stranczinger Szilvia és Kaposvári Ferenc közreműködésével revideálta a korábbi monográfiát (2004), és elektronmikroszkópos vizsgálatok segítségével addig ismeretlen mikromorfológiai tulajdonságok feltárásával bizonyította a kiterjesztett értelmű *Deppea* nemzetség polifiletikus voltát. Visszaállították az *Edithea* nemzetséget és két új növénynemzetséget írtak le *Bellizinca* és *Csapodya* néven.

Az új taxonómiai egységek szétválasztására az alábbi analitikai kulcsot dolgozták ki:

- 1 a A párta kerék alakú, csöve sokkal rövidebb a cimpáknál.....*Deppea*
 1 b A párta hosszú csöví, többszörösen hosszabb a cimpáknál.....2
 2 a A csészecimpák háromszögűek vagy lándzsásak 1-2 mm hosszúak,
 porzósál nincs, a porzók a párta torkában ülnek.....*Edithea*
 2 b A csészecimpák levélszerűek, 8–25 mm hosszúak a porzósálak
 hosszúak, a pártacsó közepén vagy alján erednek.....3
 3 a A virágzat felálló, a csészecimpák páronként különbözők, zöldek,
 a porzók a párta tövén erednek.....*Bellizinca*
 3 b A virágzat lecsüngő, csészecimpák színesek, egyformák, a porzók
 a pártacsó közepe fölött erednek.....*Csapodya*

A virágrészek fontosabb különbségeit az alábbi táblázat mutatja be:

Tulajdonságok	<i>Deppea</i>	<i>Edithea</i>	<i>Bellizinca</i>	<i>Csapodya</i>
Fajok száma	23	2	1	3
Csészecimpák	0.2–7 mm zöld	0,8-2 mm zöld	8–18 mm zöld	15–25 mm piros
Párta alakja	kerék v. tölcser	gyertyatartó	csöves	csöves
Pártacsó hossza	0,4–8 mm	10–35 mm	14–26 mm	50–55 mm
cimpák hossza	2.5–14 mm	1,5–4,5 mm	9–15 mm	8–14 mm
cső/cimpa arány	0,1–1.2	8–15	1,8–2,5	4–7
Porzósál	hengeres	szalagszerű	hengeres	szalagszerű
hossza	0,5–6 mm	2.5–6 mm	15–22 mm	15–22 mm
helye	pártatorok	pártatorok alatt	pártacsó tövén	pártacsó közepén
Portok	kiálló	bezárt	bezárt	bezárt
Bíbeszál	kopasz	kopasz	kopasz	szőrös
Diszkusz	gyűrűs	domború	2-osztatú	4-osztatú
Magház belseje	szőrös	szőrös	kopasz	kopasz
Mag	megnyűit	lencsealakú	lencsealakú	kifli alakú
beizestülése	szubcentrális	centrális	centrális	laterális
hosszanti sejtfal	keresztben vastagodott	tompán gödörkés	tompán hullámos	mélyen gödörkés
vízszintes sejtfal	tompán gödörkés	sűrűn gödörkés és vonalas	hálózatos	hálózatos

Stranczinger és munkatársai (2010) filogenetikai vizsgálatokkal alátámasztották a *Deppea* komplex polifiletikus voltát, rávilágítottak több faj (*Deppea tubaeana*, *D. hernandezii*, *D. foliosa*) bizonytalan taxonómiai helyzetére. Morfológiai alapokon tovább elemezték a kérdéses növénycsoportot, és egy új nemzetséget írtak le *Deppeopsis* néven (Borhidi & Stranczinger 2012).

A jelen tanulmány célja, hogy a molekuláris szekvenciák segítségével eldöntsük, hogy az 1988-as makromorfológiai, vagy a 2004-es makro- és mikromorfológiai tanulmány fejezi-e

ki helyesen a származási kapcsolatokat. A vizsgálatba vont Deppea-komplex (*Deppea*, *Edithea*, *Bellizinca*, *Csapodya*) mellé vettük még a Hamelieae tribusz 5 nemzetségét (*Hamelia*, *Omiltemia*, *Pseudomiltemia*, *Hoffmannia*, *Renistipula*), valamint a Rubiaceae család két rendszertanilag távolabb álló tribuszának a Cinchonoideae tribusznak 4 nemzetségét (*Coutaportla*, *Lorencea*, *Hintonia*, *Ceratopyxis*, *Claramosa*), valamint a Rondeletieae tribusz 4 nemzetségét (*Rondeletia*, *Roigella*, *Rogiera*, *Rovaeanthus*, *Suberanthus*) több fajjal.

ANYAG ÉS MÓDSZER

DNS izolálás

A totál DNS tisztítást FCME (Mexican Herbarium called Herbario De La Facultad De Ciencias) herbáriumából származó levél anyagból végeztük (1. táblázat). A minták feltárása Disruptor Genie (Scientific Industries, US.) homogenizátorral 0.5 mm-es üvegyöngyök jelenlétében történt. A DNS kivonáshoz és tisztításhoz Zenogene 40 növényi szövet DNS tisztító kitet (Zenon Bio Kft., Szeged) használtunk, követve a gyártó leírását. A vizsgált DNS szakaszok (*trnL-F* kloroplaszt intron és ITS nukleáris DNS) felszaporítása PTC-200 GradientCycler (MJ Research, INC.) készülékben történt. Az ITS szakasz amplifikálása ITS4 és ITS5 primerrel, míg a *trnL-F* régió felszaporítása két részletben („c”, „d”, „e” és „f” primerekkel) történt PTC-200 thermal cycler (MJ Research, US) készülékben.

A PCR reakcióban résztvevő elegy végtérfogata 23 µl volt, amely 0,5 µg DNS templátot, 1,0 mM primert, 2,3 µl Dream Taq™ puffert, 0,5 mM dNTP mixet, 1 U Dream Taq™ polimerázt (Thermo Scientific, US.) tartalmazott. A PCR reakció egy 3 perces 94°C-os kezdeti denaturációval indult, amelyet 35 ciklus követett az alábbi lépésekkel: 1 perces 94°C-os denaturációs szakasz, 1 perces 50°C-os extenzió és 1 perces 72°C-os elongációs szakasz. A program 7 perces 72°C-on történő utópolimerizációval zárult. A mintákat 1%-os, etidium bromiddal festett gélen futtattuk, amelynek eredménye egy-egy megközelítőleg 700 bp hosszú *trnLF* és ITS fragment lett. A géleképeket UVP BioDoc It videokamerával felszerelt rendszer segítségével fotóztuk és tároltuk. Az amplifikált PCR termékek tisztítását a szekvenálási reakcióhoz ZenoGene 40 PCR/DNS tisztító kit segítségével végeztük. A szekvenálási reakcióelegyet BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit-tel (Applied Biosystems) állítottuk elő a gyártó cég leírása alapján. A vizsgált DNS szakaszok szekvenálásához az amplifikálásukhoz használt primereket alkalmaztuk.

1. táblázat. A vizsgálatokban szereplő fajok gyűjtési helye és a szekvenciák génbank száma.

Taxon	Gyűjtési szám, azonosító adat	Mintagyűjtési helyek	Acc. no. ITS	Acc. no. <i>trnLF</i>
<i>Arachnothryx jurgenseni</i> (Hemsl.) Borhidi	Jurgensen 248	Mexico, Oaxaca, Sierra San Pedro Nolasco	JX474879	
<i>Arachnothryx scabra</i> (Hemsl.) Borhidi	C. Jurgensen 926	Mexico, Oaxaca, Sierra San Pedro Nolasco	JX474880	
<i>Bellizinca scoti</i> (J. H. Kirkbr.) Borhidi	C. E. Smith jr., F. A. Peterson & N. Tejada 4137	Mexico, Puebla	JX474881	JX474891
<i>Csapodya challenger</i> Borhidi & Reyes-García	A. Reyes-García, D. Gómez, E. Montejo 4877	Mexico, Chiapas	JX474882	
<i>Csapodya splendens</i> Breedlove & Lorence Borhidi	D. E. Breedlove 40258	Mexico, Chiapas		JX474892

<i>Deppea amaranthina</i> Standl. & Steyerl.	J. A. Steyerl 30926	Guatemala, Chiquimula	JX474883	JX474893
<i>Deppea cornifolia</i> (Benth.) Benth.	Morelia, T. Hartweg 299	Mexico, Michoacán		JX474894
<i>Deppea erythrorhiza</i> Cham. & Schltdl.	C. J. W. Schiede & F. Deppe 388	Mexico, Veracruz	JX474884	JX474895
<i>Deppea grandiflora</i> Schltdl.	Leibold 235, 253, 263	Mexico, Veracruz	JX474886	JX474897
<i>Deppea inequalis</i> Standl. & Steyerl.	J. A. Steyerl 37974	Guatemala, San Marcos	JX474888	
<i>Deppea microphylla</i> Greenm.	C. G. Pringle 8907	Mexico, Hidalgo	JX474889	JX474900
<i>Deppea obtusiflora</i> Benth.	T. Hartweg 473	Mexico, Oaxaca	JX468347	JX474902
<i>Deppea purpurascens</i> Lorence	D. Lorence, R. Cedillo T. & G. Ibarra M. 4141	Mexico, Veracruz	JX468348	JX474903
<i>Deppea purpusii</i> Standl.	C. A. Purpus 6260	Mexico, Veracruz	JX468349	JX474904
<i>Deppea rubrinervis</i> Borhidi	P. Tenorio 15514	Mexico, Veracruz	JX468350	JX474905
<i>Deppeopsis foliosa</i> (Borhidi, S. Salas-Morales & E. Martínez) Borhidi & Stranzinger	J. Rivera 1739	Mexico, Oaxaca	JX474885	JX474896
<i>Deppeopsis hernandezii</i> (Lorence) Borhidi & Stranzinger	R. Hernandez M. & D. Rodriguez 5466	Mexico, Hidalgo	JX474887	JX474899
<i>Deppeopsis tubaeana</i> (Borhidi) Borhidi & Stranzinger	A. Campos 2106 con H. Hernández	Mexico, Oaxaca	JX468351	
<i>Editheia oaxacana</i> (Lorence) Borhidi & Stranzinger	R. Torres C. & C. Martinez 7956	Mexico, Oaxaca	JX474890	JX474901
<i>Editheia guerrerensis</i> (Dwyer @ Lorence) Borhidi & Stranzinger	R. M. Straw & D.P. Gregory 1081	Mexico, Guerrero		JX474898
<i>Editheia schiblii</i> Borhidi	Kenia Velasco G. 261	Mexico, Oaxaca	JX468352	JX474906
<i>Hamelia patens</i> Jacq.	Jacq. s. n.	Santo Domingo	JX468353	JX474907
<i>Hamelia xorullensis</i> Kunth in HBK.	A. Bonpland s. n.	Mexico, Michoacán		JX474908
<i>Hoffmannia culminicola</i> Standl. & L. O.	P. C. Standley 4797	Honduras, Morazán, Cerro de Uyuca	JX468354	
<i>Hoffmannia oaxacensis</i> Lorence & Dwyer ex Borhidi	Alvaro Campos V. 3334	Mexico, Oaxaca	JX468355	
<i>Hoffmannia silviarum</i> Borhidi	P. Tenorio L. 11263 y C. Romero de T.	Mexico, Oaxaca	JX468356	
<i>Rogiera langlassei</i> (Standl.) Borhidi	E. Langlassé 797	Mexico, Guerrero, Sierra Madre	JX474878	

A szekvenciák statisztikai kiértékelése

A szekvenciák összerendezését (alignment) elsőként JalView (ClustalW) program segítségével végeztük el. A DNS szekvenciákat ezután GeneDoc v2.3 programmal újrendeztük és javítottuk, a megfelelő DNS szekvenciát alapul véve. Az alignmentek optimalizálása után kialakult réseket (gap), a végső filogenetikai analízisek során, mint hiányzó karakterek kezeltük. A kladsztikai analíziseket PAUP* 4.0 szoftver Windows® XP® verziójával készítettük a „legnagyobb takarékoság” (Maximum Parsimony) módszerét alkalmazva. A kapott filogenetikai fa pontosságának és megbízhatóságának tesztelését bootstrap vizsgálatokkal végeztük. A 85–100% bootstrap értékeket magasnak tekintettük, az adott elágazás topológiáját alátámasztottnak vettük. 75–84% bootstrap érték mérsékelt, míg 50–74% csak alacsonyán támogatja az adott elágazás kapott topológiáját (MOTLEY és mts., 2005).

A Bayesian analízist MrBayes (Ronquist & Huelsenbeck 2003) programmal Markov chain Monte Carlo model használatával végeztük (B/MCMC). A legjobban illeszkedő szubsztitúciós model kiválasztása ModelTest 3.7 (Posada & Crandall 1998) segítségével történt.

EREDMÉNYEK

Az ITS régió analízise

A teljes ITS régió, amely magában foglalja az ITS1, ITS2 és 5,8S rDNS szekvenciákat, megközelítőleg 560 bp hosszúságú volt a tanulmányozott taxonoknál (1. ábra). A belsoport 28 fajt tartalmazott, amelyek nagy részének ITS szekvenciáját mi határoztunk meg elsőként (1. táblázat). A külsoportot képező taxon szekvenciáját a GenBankból választottuk.

```

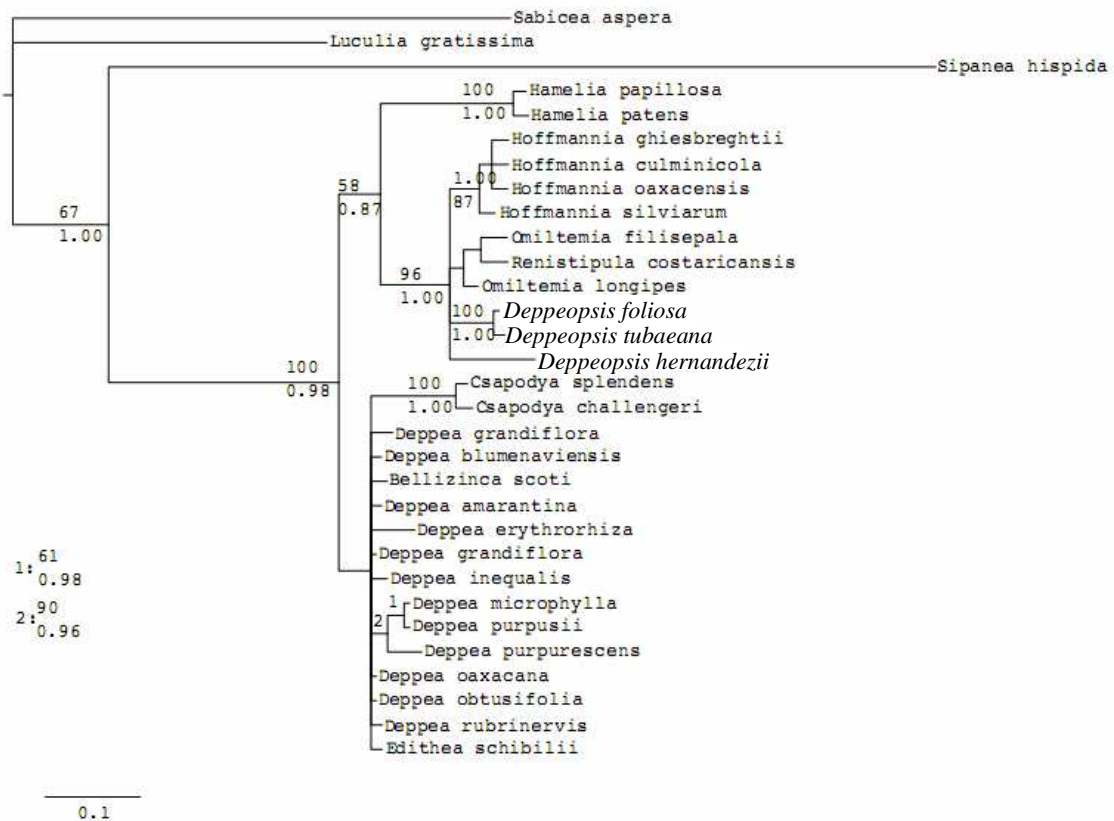
*          120          *          140          *          160          *          180          *          200          *
Deppeasple : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 211
Csapodyach : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 211
Bellizinca : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeagran : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 211
Deppeablum : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeamar : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppearyt : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeagran : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeaineq : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeamicr : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeaoaxa : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeaobtu : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeapurp : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeapurp : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeaurub : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeahern : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeafoli : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Deppeatuba : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Editheashi : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Hameliapap : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Hameliapat : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Hoffmannia : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 211
Hoffmannia : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 211
Hoffmannia : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 211
Hoffmannia : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 211
Omltemiaf : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Omltemial : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
Renistipul : CAACCCCTGAGCCCGCTTGGCGGTGCGCGGAGGTTGGCGGGGCTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC : 210
gcaCcc  GAGCCCGCTTGGCGGTG  ggcg  GAGGTggcgGgGgTCTATTGTAACCAAAAACGACTCTGGCAACGGATATCTGGCTCTGGCATCGATGAAGAAC

```

1. ábra

A végső, filogenetikai analízisbe bevont mátrix 501 karaktert tartalmazott, amelyek közül 334 (66,7%) konstans, 58 (11,6%) változó, de parsimóniailag nem informatív, és 109 (21,8%) a parsimónia vizsgálatban informatív volt. Az ITS régió MP analízisével kapott filogenetikai törzsfá 284 egység hosszúságú, konzisztencia index (CI) 0,8065 abban az esetben, ha az összes karaktert bevontuk az elemzésbe, ezek kizárásával CI = 0,7954, az összetartozási index (RI) 0,8182. A végső konszenzus fát az 2. ábra mutatja. A Deppea komplex tagjai 100% bootstrap érték mellett válnak el a külsoport tagjaitól. A komplexen belül ugyan elkülönültek a *Deppea*, *Bellizinca*, *Editheia* és *Csapodya* fajok, de bootstrap támogatást egyedül a *Csapodya* nemzetség

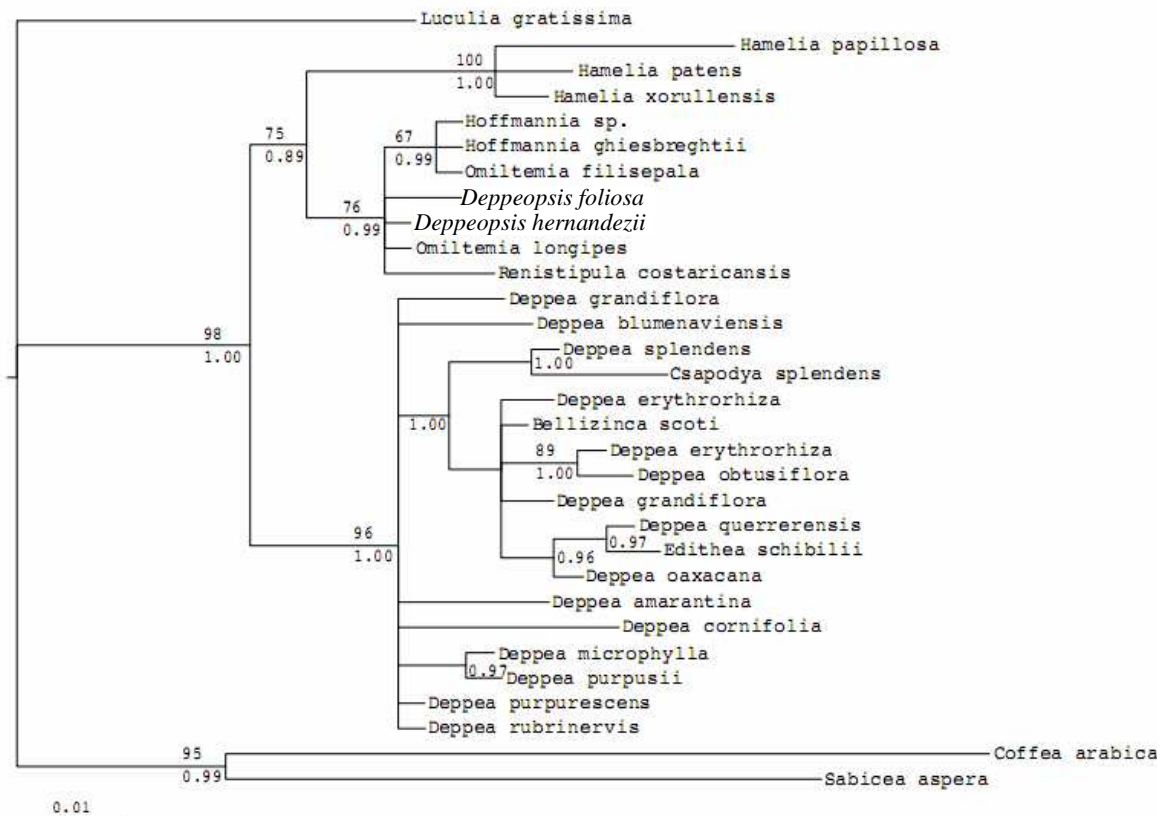
esetében kapunk (100%). A *Hamelia*, *Hoffmannia*, *Omiltemia*, *Pseudomiltemia*, *Renistipula* és *Deppeopsis* nemzetség fajai jól elkülöníthetők a tágabb értelemben vett *Deppea* nemzetségtől. A csoporton belül magas (100%) bootstrap értékkel különülnek el a *Hamelia* fajok, illetve 96%-os valószínűséggel a *Hoffmannia* nemzetség vizsgált tagjai. A *Deppeopsis* nemzetség fajai egyértelműen külön csoportot alkotva inkább a fent említett nemzetségekkel, mint a *Deppea* fajokkal vannak közeli filogenetikai kapcsolatban.



2. ábra

A *trnL-F* régió filogenetikai analízise

Az *Deppea* komplexen belüli pontosabb filogenetikai kapcsolatok megismeréséhez 28 taxon *trnL-F* szekvenciáját vizsgáltuk. A filogenetikai analízisbe bevont végső mátrix 689 pozíciót tartalmazott, amelyből 501 állandó, 124 (18%) variábilis, de az MP vizsgálatban információt nem hordozó, 64 (9,3%) informatív volt. Az *trnL-F* adatok filogenetikai analízisével kapott filogenetikai törzsfá 239 egység hosszúságú (CI az összes karakterrel = 0,8703; CI az információt nem hordozó karakterek kizárásával = 0,7103; RI = 0,8826). A végső, konszenzus fa (3. ábra) a Hamelieae tribusz vizsgált taxonjain belül két nagy csoportot mutat, amely megfelel egyrészt a *Hamelia*, *Hoffmannia*, *Deppeopsis*, *Omiltemia*, *Pseudomiltemia*, *Renistipula* nemzetségeknek, másrészt a *Deppea*, *Editheia*, *Csapodya* és *Bellizinca* nemzetségeknek. Ez utóbbi csoport tagjai között ugyan érzékelhető a belső tagolódás, bootstrap támogatás azonban csak a *Csapodya* és *Editheia* fajoknál jelentkezik. Ezen régió vizsgálatánál is jól elválasztható az eredeti *Deppea* fajoktól a *Deppeopsis* nemzetség, filogenetikai szempontból is a Hamelieae csoportba mutat közeli kapcsolatot (98%).



3. ábra

KÖVETKEZTETÉSEK

A Hamelieae tribusz filogenetikai vizsgálatába egy új, eddig még nem tanulmányozott DNS szakaszt, az ITS régiót vontuk be. Az eredmények megerősítették a komplexek polifiletikus voltát.

Mindkét vizsgált DNS szakasz (ITS, *trnL-F*) filogenetikai analízise megerősítette a *Deppeopsis* nemzetség elkülönülését a *Deppea* nemzetségtől. Ugyancsak bizonyítást nyert az *Omitemia* és *Pseudomitemia* nemzetségek elválasztása, a *Renistipula* nemzetség átsorolása a Hamelieae tribuszba.

A *trnL-F* régió szekvencia analíziséből kiderült, hogy ezen cpDNS szakasz elsősorban a vizsgált fajok tribusz szintű elkülönítésére alkalmas. A *Deppea* komplexen (*Deppea*, *Editheia*, *Bellizinca*, *Csapodya*) belül a fajok *trnL-F* régió szekvenciája olyan nagy hasonlóságot mutatott, hogy a nemzetség határok alacsonyan támogatottak. A komplexen belüli filogenetikai viszonyok vizsgálatára az ITS régió és az azon belül az ITS1 és ITS2 intron bizonyult megfelelőnek. A nagyobb szekvencia variabilitás ellenére sem kaptunk minden esetben akkora bootstrap támogatást, hogy a mikromorfológiai vizsgálatokból következő nemzetség határokat egyértelműen bizonyítanák a filogenetikai elemzések.

ÖSSZEGZÉS

Az Akadémiai Kiadó gondozásában 2006 novemberében megjelent Borhidi Attila: *Rubiáceas de México* című tudományos könyve, 340 példányban, 36 ív terjedelemben, a 2006 augusztusában megkötött kiadói szerződés értelmében.

A könyv tudományos újdonságainak elismeréseképpen az OTKA illetékes bizottsága a 2007-2012 időszakra a K 68538 számú pályázatban (vezető kutató: Prof. Borhidi Attila) 16795 eFt támogatással biztosította a kutatások folytatását téma címmel. A kutatások annyi új eredményt hoztak felszínre, hogy a tervezettnél hamarabb kell sort keríteni egy új, bővített kiadás megjelentetésére, amelyre az OTKA 2,410 mFt összegű támogatást nyújtott.

Az új kiadás 110 nemzetséget és 655 fajt tartalmaz az első kiadás 103 nemzetségével és 585 fajával szemben. A több mint 15%-nyi terjedelmi bővülés a nemzetségek és fajok 75%-át érinti, ami szükségessé tette a határozókulcsok teljes átdolgozását. Ennek megfelelően az új kiadás 48 ívnyi terjedelemben, 127 egész oldalas ábrával jelenne meg. Az új kiadást indokolta az a tény is, hogy ebben az évben tervezik megjelentetni a *Flora Mesoamericana Rubiaceae*-kötetét, amely a mexikói flórának csak kis töredékét érinti, ezért az új kiadás egyúttal fontos kiegészítő funkciót lát el a térségben.

A központi gyűjtemények (MEXU, FCME, INEGI) évenkénti folyamatos gyarapodásának vizsgálata mellett revízióra került 6 szövetségi állam (Aguascalientes, Guerrero, Oaxaca, Querétaro, San Luis Potosí, Tabasco) gyűjteményeinek kritikai revíziója. Ezek eredményeként 70 a tudományra új faj került leírásra, összesen 12, legnagyobb részt a *Bouvardia*, *Csapodya*, *Deppea*, *Didymaea*, *Mitracarpus*, *Psychotria*, *Randia* és *Rogiera* nemzetségekből.

IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- BORHIDI A. & STRANCZINGER SZ. (2012): *Deppeopsis*, a new genus (Hamelieae, Rubiaceae) from Mexico and Guatemala: *Deppeopsis*, un Género Nuevo (Hamelieae, Rubiaceae) de México y Guatemala. – *Acta Botanica Hungarica* 54 (1-2): 85-90.
- BORHIDI A. & STRANCZINGER SZ. (2012): New combinations in the family Rubiaceae in the flora of Mexico: *Combinaciones Nuevas en la Familia Rubiaceae de la Flora de México*. – *Acta Botanica Hungarica* 54 (1-2): 81-84.
- BORHIDI A., DARÓK J., KOCSIS M., STRANCZINGER SZ., KAPOSVÁRI F. (2004): Critical revision of the *Deppea* complex (Rubiaceae, Hamelieae). – *Acta Botanica Hungarica* 46 (1-2): 77-89.
- LORENCE D. H. & DWYER J. D. (1988): A revision of *Deppea* (Rubiaceae). – *Allertonia* 4(7): 389-436.
- MOTLEY T. J., WURDACK K. J. & DELPRETE P. G. (2005): Molecular Systematics of the Catesbaeae-Chiococceae complex (Rubiaceae): Flower and fruit evolution and biogeographic implications. – *Amer. J. Bot.* 92(2): 316-329.
- POSADA D & CRANDALL K. A. (1998): Modeltest: testing the model of DNA substitution. – *Bioinformatics* 14(9): 817-818.
- RONQUIST F. & HUELSENBECK J. P. (2003): MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. – *Bioinformatics* 19(12): 1572-1574.
- STRANCZINGER SZ., GALAMBOS A., BORHIDI A. (2010): Phylogenetic study on genus and species level of the *Deppea* complex (Hamelieae section). – The Fifth International Rubiaceae and Gentianales Conference, Biodiversity in the light of historical information, Stockholm, Sweden, september 6-10. The Royal Swedish Academy of Sciences, Stockholm University (szerk.) p.58.

A projekt keretében megjelent publikációk (2007-2012):

Könyvek

- Borhidi, A. & N. Diego-Pérez 2008: *Flora de Guerrero*. Vol. 35. Coussareae, Gardenieae, Hedyotideae, Mussendeae, Naucleae, Rondeletieae (Rubiaceae). – Fac de Ciencias, UNAM. 1–122.
- Borhidi, A. & Diego-Pérez, N. 2010: *Flora de Guerrero*. No. 41. Crusea (Spermacoaceae, Rubiaceae). – Fac. de Ciencias, UNAM. 1–43.
669. Borhidi, A. 2012: *Rubiáceas de México*. Segunda y ampliada edición. – Akadémiai Kiadó, Budapest. 610 pp.

Folyóirat cikkek

- Borhidi, A. & Reyes-García A. 2007: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XI. Revisión del género *Csapodya* Borhidi (Rondeletieae) endémico de Chiapas con tres especies. – *Acta Bot. Hung.* **49**: 67–79.
- Borhidi, A. & Lozada L. 2007: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XII. El género *Mitracarpus* Zucc ex Schult. et Schult. f. (Spermacoaceae) en México. – *Acta Bot. Hung.* **49**: 81–98.
- Borhidi, A., Martínez Salas E. & Saynes, A. 2007: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XIII. Dos especies nuevas del género *Deppea* Cham. Et Schltl. – *Acta Bot. Hung.* **49**: 99–103.
- Borhidi, A. García-Gonzalez, I. & Martinez Salas E. 2007: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XIV. Tres taxa nuevos del género *Randia* L. – *Acta Bot. Hung.* **49**: 105–109.
- Borhidi, A. & Reyes-García A. 2007: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XV. Una especie nueva del género *Guettarda* de Chiapas. – *Acta Bot. Hung.* **49**: 111–113.
- Borhidi, A. 2007: Una especie nueva del género *Chiococca* P. Browne (Rubiaceae) de Guatemala. – *Acta Bot. Hung.* **49**: 115–117.
- Stranzinger, Sz., Borhidi, A., Szentpéteri, J.L. & Jakab, F. 2007: The phylogenetic relationships among some *Randia* (Rubiaceae) taxa. – *Acta Biol. Hung.* **58**: 235–244
- Borhidi, A. 2007: An attempt to transform molecular cladistic trees of angiosperms into a comprehensive system. – *Acta Bot. Hung.* **49**: 305–310.
- Borhidi, A. 2007: *Resinanthus*, género nuevo de Rubiaceae (Guettardeae). – *Acta Bot. Hung.* **49**: 311–317.
- Borhidi, A. 2008: Revalidation of the genus *Tournefortiopsis* Rusby (Guettardeae) and a new *Guettarda* from Costa Rica. – *Acta Bot. Hung.* **50**: 61–70.
- Borhidi, A. 2008: Taxa et combinationes novae Florae Antillanae. – *Acta Bot. Hung.* **50**: 275–280.
- Borhidi, A. & Lorea-Hernández, F. G., 2008: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XVI. *Psychotria lozadae*, una especie nueva en la flora del estado Guerrero. – *Acta Bot. Hung.* **50**: 281–285.
- Borhidi, A. & Salas-Morales, S. 2008: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XVII. Dos especies nuevas en el género *Hoffmannia* Sw. (Rubiaceae, Hamelieae). – *Acta Bot. Hung.* **50**: 287–292.
- Borhidi, A. & Salas-Morales, S. 2008: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XVIII. Una nueva especie del género *Crusea* Schltl. et Cham. (Rubiaceae, Spermacoaceae). – *Acta Bot. Hung.* **50**: 293–296.
- Borhidi, A. & Serrano-Cárdenas, V. 2008: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XIX. Novedades en el Herbario de Querétaro “Dr. Jerzy Rzedowski” (QMEX). – *Acta Bot. Hung.* **50**: 297–303.
- Borhidi, A., Martínez-Salas, E. & Salas-Morales, S. 2008: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XX. Cuatro especies nuevas del género *Bouvardia* (Spermacoaceae) de Oaxaca y Chiapas. – *Acta Bot. Hung.* **50**: 305–314.

- Borhidi, A. & N. Diego-Pérez, 2009: Estudios sobre Rubiaceas Mexicanas XXI. Una nueva especie de *Arachnothryx* Planch. (Rondeletieae) en Guerrero. – Acta Bot. Hung. 51: 11-14.
- Borhidi, A. & S. Salas-Morales, 2009: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXII. *Psychotria oaxacensis* sp. n. y *Chomelia crassifolia* nueva para Oaxaca. – Acta Bot. Hung. 51: 15-20.
- Borhidi, A. & S. Salas-Morales, 2009: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXIII. Dos especies nuevas del género *Randia* L. en Oaxaca. – Acta Bot. Hung. 51: 21-26.
- Borhidi, A. & I. García-González, 2009: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXIV. Contribuciones al conocimiento de *Randia lanuginosa* Borhidi & I. García-González. – Acta Bot. Hung. 51: 27-28.
- Borhidi, A. y K. Velasco-Gutierrez: 2010: Estudios sobre Rubiaceas Mexicanas XXV. Una especie nueva en el género *Omittemia* Standl. (Hamelieae). – Acta Bot. Hung. 52:35–39.
- Borhidi, A. y K. Velasco-Gutierrez 2010: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXVI. *Paradeppea* sect. nova del género *Deppea* Cham. & Schltld. (Hamelieae) y dos especies nuevas de Oeste de Oaxaca. – Acta Bot. Hung. 52: 41–48.
- Borhidi, A., E. Martínez-Salas, y S. Salas-Morales 2010: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXVII. Una revisión breve y cuatro especies nuevas del género *Deppea* (Hamelieae). – Acta Bot. Hung. 52:49–65.
- Borhidi, A. 2010: Estudios sobre rubiáceas mexicanas XXVIII. El género *Coussarea* Aubl. (Coussareae) en México con dos especies nuevas. – Acta Bot. Hung. 52: 67–76
- Borhidi, A. y S. Salas-Morales 2010: Estudios sobre Rubiáceas Méxicanas XXIX. *Arachnothryx sanchezii* (Guettardeae) y *Bouvardia mitlensis* (Spermacoceae) nuevas especies de Oaxaca. – Acta Bot. Hung. 52:77–84.
- A. Borhidi, E. Martínez S. y J. Linares 2010: Una especie nueva de *Rudgea* Salisb. (Rubiaceae, Psychotrieae) de Honduras. – Acta Bot. Hung. 52:85–88.
- Borhidi, A. 2010: The inclusion of *Stevensia* Poit. (Rondeletieae, Rubiaceae) into *Rondeletia* L. – Acta Bot. Hung. 52: 247–250.
- Borhidi, A. & Lozada-Pérez, L. 2010: *Neomartensia* (Spermacoceae, Rubiaceae) género nuevo de México, o la posición final del vagabundo *Declieuxia galeottii* M. Martens. – Acta Bot. Hung. 52: 251–264.
- Borhidi, A. & L. Lozada-Pérez: 2011: *Martensianthus* nomen novum to replace *Neomartensia* Borhidi et Lozada-Pérez 2010 (Rubiaceae) non Yoshida et Mikami 1996 (Delesseriaceae). – Acta Bot. Hung. 53: 37–42.
- Borhidi, A. & E. Martínez-Salas 2011: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXX. Tres especies nuevas y un nombre nuevo en el género *Randia*. – Acta Bot. Hung. 53: 43–52.
- Borhidi, A., L. Lozada-Pérez & S. Salas-Morales: 2011. Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas. XXXI. *Trichosiphon* y *Gymnosiphon* Borhidi, sect nov. subgen. *Bouvardiastrum* (*Bouvardia* Salisb.) con seis especies nuevas. – Acta Bot. Hung. 53: 53–73.
- Borhidi, A., E. Martínez-Salas & S. Salas-Morales 2011: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXXII. Dos especies nuevas de *Bouvardia* Salisb. con revisión corta del subgen. *Bouvardioides* Schltld. – Acta Bot. Hung. 53: 75–84.
- Stranzinger, Sz., Galambos, A., Borhidi A. 2011: Molekuláris filogenetikai vizsgálatok újabb eredményei a *Deppea* (Rubiaceae, Hamelieae) nemzetségben. IX. Magyar Genetikai Kongresszus XVI. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok Siófok. 202. o.
- Borhidi, A. 2011: Dos especies nuevas en la flora de Hispaniola. – Acta Bot. Hung. 53: 235–239.

- Borhidi, A. 2011: Transfer of the Mexican species of *Psychotria* subgen. *Heteropsychotria* to *Palicourea* based on morphological and molecular evidences. – *Acta Bot. Hung.* **53**: 241–250.
- Borhidi, A. 2011: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXXIII. Tres especies nuevas del género *Deppea* Schltld. et Cham. (Hamelieae). – *Acta Bot. Hung.* **53**: 251–260.
- Borhidi, A. 2011: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXXIV. *Hoffmannia silviarum* spec nova y una variedad nueva (Hamelieae). – *Acta Bot. Hung.* **53**: 261–266.
- Borhidi, A. 2011: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXXV *Chiococca motleyana* nomen novum. – *Acta Bot. Hung.* **53**: 267–268.
- Borhidi, A. & Fernández-Zequeira, M. 2011: Una *Rondeletia* nueva an Sur-Oriente de Cuba. – *Acta Bot. Hung.* **53**: 269–271.
- Borhidi, A., Darók, J. & Stranczinger, Sz. 2011: *Donnellyanthus* (Rubiaceae, Rondeletieae) a new genus in the flora of Mexico and Meso-America. – *Acta Bot. Hung.* **53**: 273–281.
- Borhidi, A. 2012: *Terrellianthus* género nuevo (Spermacoaceae, Rubiaceae) para México y Meso-América. – *Acta Bot. Hung.* **54**: 45–49.
- Borhidi, A. & Velasco-Gutierrez, K. 2012: Estudios sobre Rubiáceas Mexicana XXXVI. Dos especies nuevas en el género *Rogiera* Planch. (Rondeletieae) – *Acta Bot. Hung.* **54**: 51–58.
- Borhidi, A., Martínez-Salas, E. & Salas-Morales, S. 2012: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXXVII. Dos especies nuevas del género *Randia* L (Gardenioideae) en Oaxaca y Veracruz. – *Acta Bot. Hung.* **54**: 59–66.
- Borhidi, A. & Martínez-Salas E. 2012: Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXXVIII. Una especie nueva más de *Deppea* Schltld. (Hamelieae) de Oaxaca. – *Acta Bot. Hung.* **54**: 67–71.
- Borhidi, A. & Martínez-Salas, E. Estudios sobre Rubiáceas Mexicanas XXXIX. Dos especies nuevas de *Didymaea* Hook.f. y una especie nueva de *Mitracarpus* Zucc et Schult. et Schult.f. in Roem. et Schult. (Spermacoaceae) – *Acta Bot. Hung.* **54**: 73–79.
- Borhidi, A & Stranczinger, Sz. 2012: Combinaciones nuevas en la familia Rubiaceae de la flora de México. – *Acta Bot. Hung.* **54**: 81–84.
- Borhidi, A, & Stranczinger, Sz. 2012: *Deppeopsis*, un género nuevo (Hamelieae, Rubiaceae) de México y Guatemala.– *Acta Bot. Hung.* **54**: 85–90.
- Borhidi, A., 2012: *Bouvardia pascualii* spec. nova (sect. *Gymnosiphon*, Rubiaceae) en Oaxaca, México. – *Acta Bot. Hung.* **54**: (3-4) 41-46.
- Borhidi, A. & Fonseca R-M. 2012: Una subespecie nueva de la *Psychotria horizontalis* Sw. – *Acta Bot. Hung.* **54**: (3-4) 47-51

Konferencia előadások

- Borhidi, A. 2008: La familia Rubiaceae en la Flora de Cuba enfocada a los estudios moleculares. – VIII. Congreso de Botánica Internacional de Cuba, La Habana, 28 Jun. – 5 Jul. 2008.
- Borhidi A, Darók, J., Kocsis, M. & Stranczinger, S. 2008: The taxonomy of *Rondeletia* L. and its allied genera. – IV Intern. Symp. of Rubiaceae, Xalapa, México, 18-25 Oct. 2008. Sumarios. 23 p.
- Galambos, A., Stranczinger, Sz., & Borhidi, A. 2009: Génusz- és fajszintű molekuláris filogenetikai vizsgálatok a Rubiaceae család Hamelieae szekciójában. – VIII. Magyar Genetikai Kongresszus XV. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok Nyíregyháza. 2009. ápr. 17-19. Poszter (PG21). Összefoglalók p. 109-110.
- Borhidi, A. & L. Lozada-Pérez 2010: *Neomartensia* (Spermacoaceae, Rubiaceae): Género Nuevo De Mexico. The Fifth International Rubiaceae and Gentianales Conference Stockholm, Sweden. Abstracts 26. p.

- Stranzinger Sz., Galambos A., Borhidi A. 2010: Phylogenetic Study On Genus and Species Level of the Deppea Complex (Hamelieae Section). The Fifth International Rubiaceae and Gentianales Conference Stockholm, Sweden. Abstracts 58. p.
- Borhidi, A.: 2012: Földindulás vagy földosztás? A molekuláris filogenetikai növény rendszerek fejlődése napjainkig. – „Egy új korszak kezdetén...” Molekuláris biológiai módszerek az ökológiai és taxonómiai kutatás szolgálatában. MTA Közgyűlési előadások 2012. május 14.
- Stranzinger Sz., Szalontai, B., Galambos, A., & Borhidi, A., 2012: A Deppea-komplex (Rubiaceae, Hamelieae) szövedékének integratív filogenetikai felfejtése. – „Egy új korszak kezdetén...” Molekuláris biológiai módszerek az ökológiai és taxonómiai kutatás szolgálatában. MTA Közgyűlési előadások 2012. május 14.
- Borhidi, A., Darók, J., Stranzinger, Sz., Martínez Salas, E., & Ramos, H. C., 2012: molekuláris filogenetikai és morfometriai kutatások kölcsönhatásainak néhány eredménye a Boraginaceae és a Rubiaceae családban. . – „Egy új korszak kezdetén...” Molekuláris biológiai módszerek az ökológiai és taxonómiai kutatás szolgálatában. MTA Közgyűlési előadások 2012. május 14.

3 könyv, 45 folyóirat közlemény és 8 konferencia előadás