



**Populációstruktúra, -dinamika és peterakási preferencia vizsgálatok egy veszélyeztetett lepkefajnál (*Maculinea alcon*, Lepidoptera: Lycaenidae)**

Population structure, dynamics and egg-laying preference in a threatened butterfly (*Maculinea alcon*, Lepidoptera: Lycaenidae)

Ph.D. thesis

Árnyas Ervin Mihály

Debreceni Egyetem  
Természettudományi Kar  
Debrecen, 2007.



## 1. Bevezetés

A nappali lepkék állományainak jelentős csökkenése, életterük beszűkülése különösen nagymértékű kontinensünkön. Ez a tendencia figyelhető meg a *Maculinea* van Eecke, 1915 (Lepidoptera: Lycaenidae) nemzetség fajainak esetében is, melyek mára már Európa-szerte veszélyeztetettek, és sok területről ki is pusztultak. A hangyaboglárkák fenyegetettsége egyrészt speciális életmenetük, másrészt természetes élőhelyeik eltűnéséből, degradációjából adódik. A genus fajaira irányuló ökológiai kutatások tisztázták a lepkék obligát myrmecophil életmódját, ami igen szoros kapcsolatot feltételez a *Maculinea* és a *Myrmica* Latreille, 1804 (Hymenoptera: Formicidae) fajok között.

A *Maculinea* genust Magyarországon négy faj képviseli: *Maculineaalcon* ([Denis & Schiffermüller], 1775) (= *M. rebeli* auct. nec Hirschke, 1904); *Maculinea teleius* (Bergsträsser, 1779); *Maculinea nausithous* (Bergsträsser, 1779) és a *Maculinea arion* (Linnaeus, 1758). A *Maculineaalcon* taxonómiai megítélése sokáig vitatott volt. Az újabb kutatások szerint a *M.alcon* (szürkés hangyaboglárka) és a *M. rebeli* (sztyeppvidéki hangyaboglárka) sem morfológiailag, sem genetikailag nem különül el egymástól, így megkülönböztetésük csupán ökológiai bélyegekre (élőhely, tápnövény, hangyagazda, stb.) alapozható. Dolgozatomban a két taxont a *M.alcon* ökotípusainak tekintem. A szárazgyepi ökotípus lárvális tápnövénye a *Gentiana cruciata* L. (Szent László tárnics), hangyagazdái pedig *Myrmica. sabuleti* Meinert, 1860, *My. scabrinodis* Nylander, 1846, *My. sulcinodis* Nylander, 1846, *My. specioides* Bondroit, 1918, *My. lonae* Finzi, 1927 és a *My. schencki* Viereck, 1903 lehetnek. A Palearktikum nyugati felében vele szimpatikusán, de allotopikusán fordul elő a nedvesréti-lápréti ökotípus, melynek nőstényei a *Gentiana pneumonanthe* L. (kornistárnics) hajtásaira petéznek, lárváit pedig élőhelyenként eltérően három fő *Myrmica* faj adoptálhatja *My. scabrinodis*, *My. ruginodis* Nylander, 1846 és a *My. rubra* (Linnaeus, 1758).

Vizsgálatainkat a *Maculinea alcon* szárazgyepi ökotípusának tohonya-völgyi populációján végeztük 2002 és 2006 között.

Kutatásunk céljai, lépései:

(i) Az alapvető populáció dinamikai paraméterek becslése

A 2002 és 2004 között végzett jelelölés-visszafogás vizsgálatok során az egyes mintavételi években a populáció egyedszámának, az ivararányának és a rajzásgörbe menetének megállapítását tűztük ki célul. Az általunk használt modellek (CJS modellek) révén a látszólagos túlélési ráta ( $\varphi$ ) és a visszafogási valószínűség ( $p$ ) is becsülhető, így következtethettünk a be- és kivándorlás mértékére, vagyis arra, hogy a populáció mozgási értelemben nyitott-e vagy zárt.

(ii) A természetvédelmi kezelés eredményének vizsgálata

Munkánk következő részében a 2001-től elkezdett természetvédelmi kezelés hatását kívántuk nyomon követni az élőhelyen, ezért célul tűztük ki a *Gentiana cruciata* állományának és a rajtuk elhelyezett peték mennyiségének részletes felmérését. Mivel a területen kutatócsoportunk tagjai már a rekonstrukció előtt is több éven keresztül végeztek *Gentiana* térképezést és peteszámlálást, a jelenlegi és a korábbi vizsgálatok adatainak összevetése révén le tudtuk írni mind a tápnövény állományának alakulását, mind pedig a *Maculinea* populáció dinamikájának a változását a kezelés utáni időszakban. Többéves adatbázisunk ezért monitorozási célokra is alkalmas volt.

(iii) Peterakási preferencia vizsgálatok

A vizsgálat sorozat keretében (2004-2006) célunk volt, hogy megállapítsuk azokat a tényezőket, amelyek befolyásolhatják a *Maculinea alcon* nőstényeket a peterakó hely kiválasztásában. Először elemeztük a peték mennyisége és a *Gentiana*-tövek hajtásszáma közötti összefüggést, majd a peterakás szempontjából a hajtások legvonzóbb részeit ill. szerveit határoztuk meg.

Mivel a *Gentiana* fajokon viszonylag ritkán jelennek meg pathogének, ezért ezeknek a specifikus kórokozó fajoknak a petezésre gyakorolt hatását eddig figyelmen kívül hagyták. A tohonya-völgyi *Gentiana*-populációban azonban relatíve nagy gyakorisággal találtunk levéltetűvel (*Aphis gentianae* Börner, 1940), illetve rozsdagombával (*Puccinia gentianae* (Strauss) Röhl., 1813) fertőzött hajtásokat. Így lehetővé vált annak a vizsgálata, hogy befolyásolja-e a nőstények tápnövény választását a hajtások kórokozó fajokkal való fertőzöttsége. A fertőzött és az ép hajtások összehasonlítása révén feltártuk a petezés intenzitása és a hajtás tulajdonságai közötti kapcsolat számos vonatkozását.

## 2. Vizsgálati terület

A vizsgált populáció elterjedési területe megközelítőleg 3 ha, amely egy enyhén lejtő, lapos hegyháton a Lófej és a Tohonya-völgy között húzódik az Aggteleki Nemzeti Park és Bioszféra Rezervátum átmeneti zónájában. (Jósvafő, 48°29'É/20°32'K; 290 m). Az élőhelyén belül egy 0,75 ha kiterjedésű mintavételi területet választottunk ki, amit 10 x 10 m-es kvadrátokra osztottuk fel. Ezekben a kvadrátokon belül végeztük a jelölés-visszafogás vizsgálatokat, valamint ezekben az egységekben történt a tápnövények térképezése és a peték számlálása is.

## 3. Módszerek

### 3.1. Alapvető populációdinamikai paraméterek becslése

#### 3.1.1. Jelölés-visszafogás módszere

A populációt jellemző paraméterek becsléséhez a jelölés-visszafogás módszerét (Mark-Release-Recapture) használtuk. A módszer lényege az, hogy egy mintavételi időszak alatt a populáció minél több egyedét megfogjuk, megjelöljük, majd elengedjük. Bizonyos idő elteltével újabb mintavételt végzünk, melynek során a fogott jelölt és jelöletlen állatok arányából becsülhetjük az alapvető populációdinamikai

változókat. A vizsgálatokat naponta végeztük, így egy napot tekinthetünk egy mintavételi eseménynek.

### 3.1.2. Adatelemzés

A jelölés-visszafogás adatainkat a Cormack-Jolly-Seber (CJS) modellek segítségével elemeztük. Ezen modellek alkalmazásával megbecsülhető a látszólagos túlélési ráta ( $\phi$ ) és a visszafogási valószínűség ( $p$ ). A számításokhoz a MARK 4.0. programcsomagot használtuk. A program segítségével modelleket építhettünk, amelyek közül szelekció révén választottuk ki az optimálisat, melynek elfogadtuk a becsléseit. Az ivararányok becsléséhez az adott napon fogott egyedszámot használtuk. A becsült érték a fogott hímek és az összes fogott egyed számának a hányadosa. A populáció egyedszámának becslését a Popan-5 programcsomag Jolly-Seber modelljével végeztük.

## 3.2. A természetvédelmi kezelés eredményének vizsgálata

### 3.2.1. Mintavétel és adatelemzés

Első lépésként feltérképeztük a kiválasztott 150 x 50 m-es mintaterületet, a hegyháton található, kővel megjelölt térképezési magassági pontból kiindulva. A felmérés során megszámoztuk a területen található *Gentiana cruciata* töveket, majd pontosan rögzítettük azok helyzetét, hajtásaik számát és állapotát. A hajtásokat állapotukat tekintve három kategóriába soroltuk: (i) ép virágos, (ii) ép steril, (iii) leharapott.

Az élőhely természetvédelmi kezelése előtt a tápnövények felmérése és a peték számolása egy nagyobb mintavételi területen történt, mint a kezelés megkezdése után: 1992-ben és 1993-ban 75 kvadrátban, míg 1998-ban 200 kvadrátban. 2003-ban csak 20 kvadrátban volt felvételezés. 2004-ben és 2005-ben részletes vizsgálatokat végeztünk az élőhelyen, melynek során 2004-ben 95 (átfogóbb mintavétel miatt, a 7500m<sup>2</sup>-es területen kívül további 20 kvadrátot jelöltünk ki), 2005-ben 75 kvadrátban

végeztük el a *Gentiana*-tövek térképezését. A peteszámlálás 2004-ben 50, 2005-ben 40 véletlenszerűen kiválasztott kvadrátban folyt. Vizsgálatainkat közvetlenül az imágók rajzása után végeztük (július eleje-közepe). Ekkorra a *Gentiana cruciata* vegetatív és generatív részei már jól láthatóak voltak, de a *M. alcon* lárvák még nem jelentek meg. Mivel a felvételezés módja lényegében ugyanaz volt a korábbi vizsgálatok során is, ezért az eredmények összehasonlíthatóak voltak a kezelés előtti évekkkel.

Az adatok kiértékelését generalizált lineáris modellek (GLM) alkalmazásával végeztük. Mivel mind a hajtásszámok, mind pedig a peteszámok diszkrét változók voltak, ezért a modellekben Poisson eloszlást és logaritmikus kapcsolt függvényt alkalmaztunk. A hajtások különböző kategóriák közötti megoszlását a kezelés előtt és után Fisher-féle egzakt teszttel elemeztük. Az analízisekhez a GLIM 4 programcsomagot használtuk.

### 3.3. Peterakási preferencia vizsgálatok

#### 3.3.1. Mintavétel

Két egymást kiegészítő vizsgálat-sorozatban tanulmányoztuk a *Maculinea alcon* nőstények peterakási preferenciáját:

(i) A *Gentiana cruciata* tövek hajtásszáma és a peték denzitása közötti összefüggés, valamint a peték térbeli eloszlásának vizsgálata során 2004-ben 50, 2005-ben 40 véletlenszerűen kiválasztott kvadrátban dolgoztunk.

(ii) A kórokozó fajok és a hajtások tulajdonságainak a petezésre gyakorolt hatásának elemzéséhez (a véletlenszerűen kiválasztottak közül) csak azokat a kvadrátokat vettük figyelembe, amelyekben a fertőzött hajtástípusok előfordultak. 2004-ben mindössze 5, 2005-ben pedig 6 kvadrátban találtunk levéltetves hajtásokat. 2006-ban a 20 random kvadrátból 14-ben fordultak elő fertőzött hajtások. Mivel 2004-ben és 2005-ben nagyon kevés volt a levéltetűvel fertőzött hajtások száma, a két év

adatait összevontuk az elemzések során. 2006-ban a csapadékos nyár eleji időjárásnak köszönhetően a levéltetves hajtások száma jóval több volt az előző évekéhez képest, így elegendő adat állt a rendelkezésünkre az év önálló kiértékeléséhez.

A mintavételekre a rajzási időszakok végén került sor. Az alábbi adatokat rögzítettük kvadrátonként: (i) a tövek hajtásainak száma és állapota (így volt ép, steril, leharapott, levéltetűvel és rozsdagombával fertőzött); (ii) a hajtás magassága; (iii) a tövet körülvevő növényzet magassága (2004-ben ilyen jellegű méréseket még nem végeztünk); (iv) virágos levélkörök száma; (v) a hajtásokon található peték száma az alábbi felosztásban: a peték nódusonkénti száma a virágokon, illetve a bimbókon, a szártagokon, a levelek színén és fonákán. 2006-ban az előző két évnél részletesebb adatfelvétel történt, a fenti adatokon kívül felmértük a hajtásokon található (vi) generatív szervek számát és fenológiai állapotát, valamint (vii) a levéltetves hajtások kolóniáinak méretét és az őrzőhangyák számát. Ebben az évben a peték és a levéltetvek mennyiségének felvételezése a rajzási időszak során három alkalommal történt meg. A mintavételi események között nyolcnapos szüneteket tartottunk.

### 3.3.2. Adatelemzés

(i) A *Gentiana cruciata* tövek hajtásszáma és a peték denzitása közötti összefüggés, valamint a peték térbeli eloszlásának vizsgálata

Az elemzéseket generalizált lineáris modellek (GLM) segítségével végeztük. Mivel a változók diszkrétnek voltak, ezért Poisson eloszlást és logaritmikus kapcsolt függvényt alkalmaztunk. A tárnicsnövények hajtásszáma és a rajtuk talált peték mennyisége közötti összefüggést Fisher-féle egzakt teszttel elemeztük. A varianciaanalízis egyik változatát („deviance analysis”) használtuk, hogy meghatározzuk a peték eloszlásában mutatkozó különbségeket a hajtások egyes levélkörein és különböző szervein. A számításokat a GLIM 4 programcsomaggal végeztük.



(ii) A kórokozó fajok és a hajtások tulajdonságainak a petezésre gyakorolt hatásának vizsgálata

Az elemzések során a peteszám, és ahol szükséges volt a levéltetés szám logaritmusával ( $\log n+1$ ) számoltunk. Az értékeléshez varianciaanalízist (ANOVA) használtunk, amelyben a hajtástípusokat az alábbi változók esetében hasonlítottam össze: peteszám, virágos levélkörök száma, a vegetációból való kiemelkedés mértéke, generatív szervek és a kinyílt virágok száma. A páronkénti összehasonlításokat független mintás t- és Welch-próbák, valamint Tukey-Kramer tesztek segítségével végeztük. Vizsgáltam a változók korreláltságát, parciális korreláció segítségével kiszűrtük a mögöttes hatásokat, majd az így szerzett ismeretek révén több változós lineáris regressziós modellt illesztettünk. A peteszám és a hajtások fenológiai állapota közötti összefüggés vizsgálata során mindkét változóból kategóriákat képeztünk. A kategória-értékű változók közötti függetlenséget kontingencia táblázat és  $\chi^2$  próba segítségével vizsgáltuk. A peték és a levéltetvek előfordulásának elemzéséhez a fertilis hajtásokat minőségük alapján kategóriákba soroltuk, melyhez a rajtuk képződött generatív szervek számát használtuk. A felállított kategóriák között az ép virágos hajtások, a peték és a levéltetvek megoszlását Fisher-féle egzakt teszttel hasonlítottuk össze. A peték és a levéltetvek száma közötti interakció megállapításához a vizsgált változók alapján csoportra bontottuk az ép virágos hajtásokat. A kategóriákba sorolt változók függetlenségét  $\chi^2$  próba révén teszteltük. Annak eldöntésére, hogy a levéltetvek jelenléte közvetlen vagy közvetett módon hat-e a peterakó nőstények viselkedésére, a petés hajtások megoszlását összehasonlítottuk mind az összes fertilis, mind pedig azon hajtások között, amelyeken a harmadik felvételezés idején már nem találtunk levéltetveket, de az első vagy a második mintavételkor fertőzöttek voltak. A minták homogenitás vizsgálatát Fisher-féle egzakt teszttel végeztük. A statisztikai elemzésekhez az SPSS programcsomag 14-es verzióját használtuk.

## 4. Eredmények és értékelésük

### 4.1. Jelölés-visszafogás vizsgálatok eredményei

2002-ben összesen 688 egyedet jelöltünk meg, amelyből 493 volt hím és 195 volt nőstény. A 688 jelölt lepkéből 292-t fogtunk vissza, tehát a jelölteknek 42,44%-át. 173 lepkét csak egy alkalommal, míg 34 példányt legalább háromszor visszafogtunk a mintavételi időszak során. 2003-ban összesen 806 lepkét jelöltünk meg a 10 mintavételi nap alatt, amelyből 566 volt hím és 240 pedig nőstény. A visszafogási arány 51,36% volt, 291 hímet és 123 nőstényt fogtunk vissza. Ebben az évben 223 lepkét fogtunk vissza egy alkalommal, míg legalább háromszor 81-et. 2004-ben 20 mintavételi napra került sor, melyek során 780 egyedet jelöltünk meg, 507 hímet és 273 nőstényt. Az összes jelölt 42,7%-át fogtuk vissza, vagyis 333 egyedet. 188 lepkét egyszer, míg 66 lepkét legalább háromszor sikerült visszafognunk.

#### *4.1.1. Látszólagos túlélési ráta ( $\varphi$ ) és visszafogási valószínűség ( $p$ )*

A 2002-es és a 2004-es adatsoron végzett modellszelekció eredménye alapján a legtámogatottabb modell a  $\varphi(\cdot)p(t)$ , vagyis a túlélési ráta időben állandó és azonos értékű a két ivarra nézve, míg a visszafogási valószínűség időben változó és megegyező a hímek és a nőstények esetében. A 2003-ban a  $\varphi(g)p(gt)$  modell bizonyult a legjobbnak, melyben a túlélési ráta konstans, és különböző értékű a két ivarnál, valamint a visszafogási valószínűség időben változó és eltérő a két nem esetében. A becsült látszólagos túlélési ráta értékekből megállapítható, hogy 2002-ben és 2003-ban az állatoknak még a 20%-a sem tűnt el (elpusztult vagy elvándorolt) egyik napról a másikra. 2004-ben a  $\varphi$  becsült értéke alapján a populáció 25%-ának „veszett nyoma” két mintavétel között. A visszafogási valószínűség értékei jelentős ingadozásokat mutatnak az egyes mintavételi napok között. Az irodalom és a terepi megfigyeléseink szerint egyes időjárás elemek nagyban befolyásolják a nappali lepkék aktivitását, így jelentős hatással vannak azok megfoghatóságára. A szél erősödésével és a felhőzet mennyiségének gyarapodásával jelentősen csökken a fogások száma, az állatok

elülnek az aljnövényzetben, és nehézkessé válik a megfogásuk. A lepkék alacsony intenzitású rajzását tapasztaltuk azokban a déli órákban is, amikor a levegő hőmérséklete 30 °C fölé emelkedett.

A 2003. évben mind a túlélési rátában, mind a visszafogási valószínűség értékeiben különbség volt a két ivar tekintetében. Ennek oka a hímek és nőstények eltérő viselkedésében keresendő. A magasabb visszafogási ráta értékek a hímek esetében azzal magyarázhatók, hogy a párzótárs keresése miatt intenzívebben és magasabban repülnek, mint a nőstények, ezáltal könnyebb megfogni őket. A nőstények alacsonyabb magasságban való repülésének oka pedig az lehet, hogy ők az aljnövényzetben lévő tápnövények megtalálására koncentrálnak, így nehezebben észrevehetők.

A becsült értékek azt mutatják, hogy a populáció mozgási értelemben zártnak tekinthető, a lepkék ragaszkodnak élőhelyükhöz, migráció nem jellemző a közösségre. Ezt az a terepi tapasztalat is alátámasztja, hogy a legközelebbi *M. alcon* populációban (a mintavételi területünkől kb. 1,5 km-re található) egyetlen általunk megjelölt egyedet sem találtunk a genetikai mintavételek során.

#### 4.1.2. Egyedszámbebecslés

Az egyedszámbebecslés során kapott rajzásgörbék az időjárási viszonyoknak megfelelően alakultak. 2002-ben és 2003-ban a meleg-száraz körülményeknek köszönhetően mind a rajzás csúcса, mind pedig a populáció lerepülése viszonylag gyorsan bekövetkezett. 2004-ben a nyár eleji hűvös-csapadékos klíma, a populáció lassú, fokozatos növekedését és a rajzási időszak elnyúlását okozta. Eredményeink alapján a tohonya-völgyi *Maculinea alcon* populáció stabil, egyedszáma közel ezer egyedre tehető a vizsgált években.

#### 4.1.3. Ivararánybecslés

A kapott eredmények jó összhangban vannak az egyedszám-becslésekkel. A mintavételi időszakok első kétharmadában jóval nagyobb volt a hímek aránya a populációban, mint a nőstényeké. A repülési időszak múlásával a nőstények aránya fokozatosan növekedett, a mintavételek utolsó harmadában az ivararány közel került az 1:1-hez. A rajzás során megfigyelt jelentős ivararány-változás nemcsak a *Maculinea* fajoknál, hanem számos más nappali lepke esetében ismert jelenség (proterandria). A hímek korábbi megjelenésének az oka az, hogy a kikelést követően még nem termékenyek, fajonként eltérően bizonyos időre van szükségük az ivarsejtjeik utolsó érési folyamatainak befejezéséhez. Velük szemben a nőstények azonnal fertilisek, még a kelés napján elkezdnek petézni, de petéik többségét csak a második napon rakják le. Azonban ha a teljes vizsgálati időszak során nézzük a jelölt egyedek számát, a nőstények száma minden évben jóval alatta maradt a hímekének (kb. 1:2). Ennek valószínűleg a két nem eltérő viselkedéséből adódó különböző foghatóságuk a magyarázata.

#### 4.2. A természetvédelmi kezelés eredményének vizsgálata

Az élőhely rekonstrukció megkezdése utáni években nemcsak a tápnövények hajtásainak számában, hanem a *M. alcon* nőstények által lerakott peték mennyiségében is jelentős növekedést tapasztaltunk. Az egy kvadrátra eső ép fertilis hajtások aránya 2,68-ról 15,06-ra, míg az átlagos peteszám 6,8-ről 160,3-re emelkedett. Az egy hajtásra eső peték száma a kezelés előtti időszakban 3,3 volt, viszont a kezelés megkezdése utáni periódusban már 10,1 pete jutott átlagban egy tárnicsajtásra. A kapott értékek alapján jól látható, hogy a 90-es évek során a populáció szinte a kipusztulás szélére került, ám a kezelés utáni időszakban a peték aránya a normális szintre emelkedett, ami az állomány regenerálódását jelezte. Az irodalom szerint 0,75 pete per virág alatti érték esetén a peték denzitásától függetlenül a tápnövényen fejlődő hernyók mortalitása, ezzel szemben az előbbi gyakoriság felett erős pete-denzitás

függés tapasztalható a lárvakori halálozási rátában. A Tohonya-háton a kezelés előtti időszakban közelítőleg 0,2-0,3, a rekonstrukció után 0,5-0,6 pete jutott egy *Gentiana* virágra, vagyis az élőhely rekonstrukció következtében megnövekedett peteszám is még alatta van annak a határértéknek, amelyen felül a peték denzitása befolyásolja a lárvakori pusztulást. A két intervallum között eltérést mutattunk ki a *Gentiana*-tövek hajtástípusainak megoszlásában is, ami jelentős hatással volt a lepkék peterakási viselkedésére. A kezelés előtti időszakban az ép virágos hajtások aránya alacsony volt (ép virágos: 48,14%; leharapott: 35,94%), így a nőtények a sérült hajtásokra is nagy számban petéztek (15,2%). A természetvédelmi kezelés utáni időszakban (ép virágos: 70,97%; leharapott: 7,88%) azonban szinte az összes petét az ép fertilis hajtásokon találtuk meg (98,9%). Az eredmények alapján kijelenthetjük, hogy a *Maculinea alcon* nőtények előnyben részesítik az ép virágos hajtásokat a leharapottakkal szemben, csak abban az esetben választják a rágottakat, ha az ép fertilis hajtások aránya viszonylag alacsony.

A habitat regenerálódásának szintén figyelemre méltó jele az is, hogy a 2004-ben és 2005-ben felvételezett *Gentiana*-k túlnyomó többsége viszonylag fiatal tő volt (megközelítőleg 75%). Ezek a növények viszonylag sűrűn, egymáshoz közel nőttek, így ideális peterakó helyet biztosítottak a *Maculinea* nőtények számára. A mintavételi területről készült tápnövény térképek alapján megállapítható, hogy a tárnicsok sarjtelepei, melyek jellegzetes foltszerű eloszlási mintázatot mutatnak, erős vegetatív szaporodásban, ezzel együtt terjedőben vannak.

Abban az esetben, ha a mintavételi területen leszámolt peteszámot extrapoláljuk a teljes elterjedési területre, akkor a boglárkapopuláció nagyságáról a lerakott peték mennyisége alapján is képet alkothatunk. Eredményeink szerint a Tohonya-háton évenként kb. 13 000-15 000 petére lehet számolni, ami több száz kifejlett egyedből álló populációt tételez fel. Ezt a populáció nagyságot a területen végzett jelölés-visszafogás vizsgálataink eredményei is alátámasztják.

Összességében megállapítható, hogy a *Maculinea* és a *Gentiana* populáció megőrzése érdekében végzett élőhely rekonstrukció sikeresnek bizonyult. Bár a

kezelési eljárásokat elsősorban a *Maculinea* populációk igényei alapján dolgoztuk ki, mégsem tekinthetők pusztán fajvédelmi stratégiáknak. A hangyaboglárkák ugyanis speciális ökológiai igényeik miatt úgynevezett ernyő fajok, amelyek az élőhely minőség indikátorai. A megfelelő élőhely-típus és szukcessziós stádium fenntartásával tehát nemcsak a *Maculinea alcon* populációja őrizhető meg, hanem más fajoké is, amelyek ezen habitatokhoz alkalmazkodtak.

#### 4.3. Peterakási preferencia vizsgálatok

Mivel az összes *Gentiana* tő a Tohonya-hát viszonylag sík felszínén helyezkedik el, elméletileg azonos az esélyük arra, hogy a *Maculinea* nőstények rájuk petézzenek. A peték megoszlása azonban nem egyenletes a tápnövényeken, azok hajtásain, de még egy hajtáson belül is vannak kedveltebb és kevésbé kedvelt részek. A nőstények egyesével vagy kis csoportokban rakták le petéiket a fertilis hajtásokra.

(i) A *Gentiana cruciata* tövek hajtásszáma és a peték denzitása közötti összefüggés, valamint a peték térbeli eloszlásának vizsgálata

Szignifikánsan több petét találtunk az 5-6, ill. a nagyobb hajtásszámú töveken, mint ahogy azt a mintavételi területen való gyakoriságuk alapján várhattuk volna. A tövek hajtásszámának növekedésével tehát nő a rájuk elhelyezett peték mennyisége. A nőstények előnyben részesítik a dúsabb töveket a ritkábbakkal szemben, mivel könnyebb rájuk találni az aljnövényzetben. Véleményünk szerint a 7-8 hajtástagú tövek a legoptimálisabbak, hisz ezek már kellően dúsak ahhoz, hogy a nőstények észrevegyék azokat, valamint ekkora hajtásszámnál a tövek még megfelelő magas hajtásokat növesztenek. A túl sok hajtásra tagolódnó tövek viszonylag kevés magas hajtásokat növesztenek. A túl sok hajtásra tagolódnó tövek viszonylag kevés magas (4-5), illetve átlagos méretű hajtást fejleszthetnek. Hajtásaik túlnyomó többsége alacsony és virágtalan volt, melyeket rendszerint az aljnövényzet takart, így a nőstények nem tudtak rájuk petézni.

A peték levélkörönkénti megoszlásának elemzésekor erős negatív korrelációt találtunk a két változó között. A nőstények a peték 89%-át a legfelső levélkörhöz tartozó szervekre rakták. A második levélkörre az összes peteszám 7,3%-a, a harmadik szárcsomó szervein a peték 2,8%-a, a negyediken már csak a 0,7%-a helyezkedett el. Ennél alacsonyabb részeken már nem találtunk petéket.

Amikor összehasonlítottuk a peték megoszlását a különböző levélkörökhöz tartozó szerveken, azt tapasztaltuk, hogy a virágok és virágbimbók mellett a levelek felszíne volt a legvonzóbb a nőstények számára. A lerakott petéknek mindösszesen csak 0,01%-a volt a hajtások szárán. A virágok (ill. bimbók) és a levelek felszínén elhelyezkedő peték aránya 1:2 volt. Figyelembe véve azonban a generatív szervek jóval kisebb felületét (szíromlevél felszín : levél felszín ~ 1:5), eredményünk arra utal, hogy ezek a szervek a hajtás legvonzóbb részei.

(ii) A kórokozó fajok és a hajtások tulajdonságainak a petezésre gyakorolt hatásának vizsgálata

A peterakó hely kiválasztása szempontjából az ép virágos hajtások voltak a legkedveltebbek. A peték több mint 90%-a került rájuk (2005: 97,90%; 2006: 92,72%), holott ezek a hajtások az összes hajtásnak csak kevéssel több, mint a felét tették ki (2005: 60,65%; 2006: 57,15%). A többi hajtástípuson viszont (ami az összes hajtás 2005: 39,35%-a; 2006: 42,45%-a volt) a lerakott peteszámnak csak kis hányadát találtuk (2005: 2,09%; 2006: 7,28%). A korábbi felvételezések is megerősítik azt, hogy az ép steril és a rágott hajtásokon jóval kevesebb volt a pete. A levéltettekkel fertőzött hajtásokon szignifikánsan kevesebb pete volt megfigyelhető, mint az ép fertiliseken, míg a rozsdagombával való fertőzés nem okozott jelentős eltérést a peteszámban.

A többszörös lineáris regresszió analízis eredményei alapján megállapítottuk, hogy a nőstények tápnövény választásában a virágos levélkörök száma és a vegetációból való kiemelkedés mértéke a két legmeghatározóbb faktor. Érdekes módon a peteszám és a hajtás magassága közötti összefüggés egyik évben sem adódott

szignifikánsnak a modellben. Belátható, hogy a nőstények azokat a növényeket veszik leghamarabb észre, amelyek a környező vegetációból a legjobban kiemelkednek, és kevésbé befolyásolhatja őket magának a hajtásnak a magassága. 2006-ban a generatív szervek peteszámra gyakorolt hatását is elemeztük, amely a modell alapján szintén nem mutatkozott szignifikánsnak. A nagyon magas virágszámú hajtásokon (100-120 virág) nem találtunk jelentősen nagyobb peteszámot, mint az átlagos hajtásokon (28-30 virág). Bár a virágok száma szoros korrelációban van a virágos levélkörök számával, a két jelleg petézésre gyakorolt hatása mégis különböző lehet. A környező növényzet takarása miatt ugyanis számos, adott esetben magas virágszámot hordozó levélkör gyakorlatilag nem játszik szerepet a petezésben. Megállapítható volt, hogy a *Maculinea*-k nem petéznek a steril hajtásokra, de nem részesítik előnyben (a többi fertilis hajtással szemben) a nagyon magas virágszámú hajtásokat sem. Ebből arra következtethetünk, hogy néhány (4-8 generatív szerv/hajtás) virágkezdemény már vonzóvá tehet egy hajtást a lepkék számára. Nyilvánvaló, hogy a *Maculinea* nőstények számára a petezés legfontosabb faktora a generatív szervek megléte vagy hiánya a hajtás felső néhány levélkörén. Ez az a kulcsinformáció, ami alapján a nőstények eldöntik, hogy a hajtás alkalmas-e a lárvák további fejlődésére vagy sem.

A levéltetves hajtások nem voltak rosszabbak, mint az ép fertilisek sem a virágos levélkörök számában, sem a környező vegetációból való kiemelkedés mértékében, vagy a hajtásokon talált generatív szervek számában, sőt éppen a levéltetűvel fertőzött hajtások mutatkoztak kedvezőbbnek. Annak ellenére, hogy a peteszámmal legerősebben korreláló tulajdonságokban a levéltetűvel fertőzött hajtások még jobbak is voltak, mint a fertőzetlen ép virágos hajtások, szignifikánsan kevesebb pete jelent meg rajtuk. Hasonló eredményre jutottunk a Fisher-féle egzakt teszttel való elemzés során, amikor összehasonlítottuk a jó és a gyengébb minőségű hajtások megoszlását (azaz az átlagosnál több vagy kevesebb generatív szervvel rendelkező hajtások) az összes fertilis, a petét tartalmazó és a levéltetűvel fertőzött hajtások között. A levéltetvek gyakrabban fordultak elő a jó minőségű hajtásokon, mint ahogyan ezt a gyakoriságuk alapján várhattuk volna, míg a *Maculinea* nőstények a jó és a gyengébb



minőségű *Gentiana* hajtásokra annak megfelelő arányban petéztek, ahogy azok előfordultak az élőhelyen.

A levéltetvesség hatása tehát nem közvetett módon fejeződik ki a fertőzött hajtások csökkent minőségén keresztül. Ebből egyértelműen következik, hogy magának a levéltetűnek a jelenléte gátolta a nőtények petézését. Feltételezésünket a  $\chi^2$  próba eredménye is alátámasztotta, azaz a peték jelenléte nem volt független a levéltetvektől.

A peteszám és a levéltetvek száma közötti korreláció vizsgálata azt sugallta, hogy a levéltetvek jelenléte gyakorlatilag kizárja a nőtények petézését. Mindössze 12 olyan hajtást találtunk, amelyen levéltetvek és peték egyaránt előfordultak. Ezeken a hajtásokon megvizsgáltuk a peték és a levéltetvek egymáshoz viszonyított helyzetét. Az esetek többségében (90 nódusz) a peték és a tetvek eltérő levélkörökön jelentek meg, és mindössze 5 alkalommal találtuk őket azonosakon. Azonban ezeken a nóduszokon is a peték a levelek színén, a levéltetvek pedig a levelek fonákán, illetve a virágok tövében voltak. Így a petéző nőtények gyakorlatilag nem érzékelték a fertőzés jelenlétét.

A Fisher-féle egzakt teszt segítségével a levéltetű-fertőzés indirekt hatását is kimutattuk a petézésre. Csak azokat a hajtásokat foglaltuk bele az elemzésbe, amelyeken a harmadik felvételezés során nem voltak levéltetvek. Azt tapasztaltuk, hogy a petés hajtások gyakorisága szignifikánsan alacsonyabb volt azon virágos hajtások között, amelyek korábban levéltetűvel fertőződtek, mint azok között, amelyek soha nem voltak levéltetvesek. Eredményeink tehát arra utalnak, hogy a korábbi fertőzöttség valószínűleg kémiai szignál(ok) útján hatott a nőtények viselkedésére.

Az *Aphis* kolóniákkal fertőzött *Gentiana* hajtásokon, a *Lasius paralienius* Seifert, 1992, valamint a *Lasius niger* (Linnaeus, 1758) vonulását figyeltük meg. A hangyafajok jelenléte nem fokozta a levéltetves hajtások taszító hatását a lepkék peterakására.

A hajtások *Puccinia*-val való fertőzöttsége esetében más a helyzet. Míg a levéltetvek kizárólag az ép fertilis hajtásokon fordultak elő, addig a rozsdagomba nem szelektált a hajtások között, egyaránt megtámadta a fertilis, a steril és a leharapott hajtásokat. A rozsdagombával fertőzött hajtások nem különböztek szignifikánsan az ép fertilis hajtásoktól a megvizsgált paraméterekben, beleértve a hajtásokon előforduló peték számát is. A rozsdagomba jelenléte tehát nem befolyásolta a nőstények petézési viselkedését. Az egyetlen tényező, amelyik szignifikánsan különbözött a rozsdagombával fertőzött és az ép virágos hajtások között, az a virágok fenológiájában mutatkozott. A rozsdás hajtásokon kevesebb volt a kinyílt virágok száma. Ez a különbség azonban nem hatott a peteszám alakulására, amiből egyértelműen következik, hogy a generatív szervek fenológiai állapota nem befolyásolja a nőstények petézését. A peteszám és a virágos hajtások fenológiai állapota közötti összefüggés kontingencia táblás vizsgálata szintén a fenológiai állapottól való teljes függetlenséget mutatatta ki a peterakásnak. Ez a fontos tény teszi lehetővé azt, hogy a nőstények akkor is lerakják petéiket, ha a *Gentiana cruciata* virágzása késik a „*M. rebeli*” rajzásához képest. Így a *Maculinea* populáció fennmaradhat akkor is, ha a kedvezőtlen környezeti tényezők hatására a tápnövény és a lepke fenológiájának összhangja megbomlik.

# Population structure, dynamics and egg-laying preference in a threatened butterfly (*Maculinea alcon*, Lepidoptera: Lycaenidae)

Ph.D. thesis

Árnyas Ervin Mihály

## 1. Introduction

Populations of many Lepidoptera species are in decline all over Europe due to habitat destruction and fragmentation. This decrease is especially evident in *Maculinea* van Eecke, 1915 (Lepidoptera: Lycaenidae) species, which have become highly threatened and require protection all over the continent. They have become endangered due to their habitat and life cycle specialisations. Ecological studies have revealed the obligatory myrmecophilous way of life in these species that requires a close connection between *Maculinea* and *Myrmica* Latreille, 1804 species (Hymenoptera: Formicidae).

The genus *Maculinea* is represented in Hungary by 4 species: *Maculinea alcon* ([Denis & Schiffermüller], 1775) (= *M. rebeli* auct. nec Hirschke, 1904), *M. teleius* (Bergsträsser, 1779), *M. nausithous* (Bergsträsser, 1779) and *M. arion* (Linnaeus, 1758). The taxonomic status of the *Maculinea alcon* species is highly controversial. The food plant of the xerophilous ecotype (i.e. “*M. rebeli*”) is mostly *Gentiana cruciata* L. and the host ant species are *Myrmica sabuleti* Meinert, 1860, *My. scabrinodis* Nylander, 1846, *My. sulcinodis* Nylander, 1846, *My. specioides* Bondroit, 1918, *My. lonae* Finzi, 1927 or *My. schencki* Viereck, 1903. While the food plant of the marsh and fen ecotype (= *M. alcon*) is *Gentiana pneumonanthe* L. and *Myrmica scabrinodis*, *My. ruginodis* Nylander, 1846 or *My. rubra* (Linnaeus, 1758) are its host ant species. Recent studies, however, have repeatedly demonstrated the multi-species use of host ants, the overlap of food plants and the lack of genetic and morphological

differentiation between *M. alcon* and *M. rebeli*. Thus, we can conclude that *M. alcon* and *M. rebeli* do not represent distinct evolutionarily significant units but different targets for habitat management (i.e. different units of conservation).

Our study was carried out on a population of the xerophilous ecotype of *M. alcon* in northern Hungary, in the Aggtelek karst region (Tohonya valley) between 2002 and 2006.

The main objectives of the research were:

(i) Estimation of the basic parameters of population dynamics

By means of capture-recapture studies in 2002-2004, our objective was to estimate the number of individuals in certain sampling years, their sex ratio and the shape of their flight curve. By CJS models we could estimate their survival rate ( $\varphi$ ) and recapture probability ( $p$ ), so we could draw conclusions on their immigration and emigration rate, i.e. whether the population was open or closed in terms of migration.

(ii) Analysis on the effect of management

In the next part of our study we followed up the effects of management started in 2001 in the habitat. Our objective was to analyse its effect both on the clumps of *Gentiana* and the number and distribution of *Maculinea* eggs laid on them. As our team had been doing detailed food plant surveys and egg counting for years, the data available did not only reveal the egg laying preferences of females, but enabled us to study changes in the population dynamics of the species over time. Our several years' surveys made monitoring also possible.

(iii) Surveys of egg-laying preference

The main goal of a series of studies (2004-2006) was to determine the factors influencing females' choice of food plants. First we analysed the correlation between the number of stems in a clump and the number of eggs laid on them, then we identified the most attractive parts and organs of the stems for females. As pathogens

occur on *Gentiana* species rarely, their effects on egg-laying preferences have not yet been considered. In our study area on the Tohonya ridge, however, *Gentiana cruciata* stems were often infected by aphids (*Aphis gentianae* Börner, 1940) and also by rust (*Puccinia gentianae* (Strauss) Röhl., 1813). Thus, we were able to investigate whether females' oviposition preference was influenced by pathogenic infections of *Gentiana* stems. Comparing infected and intact fertile stems we strived to specify those factors, which are potentially significant for females in their selection of food plants.

## 2. Study area

The population of the xerophilous ecotype of *Maculinea alcon* analysed in this study is distributed over a territory of about 3 ha between the Lófej and Tohonya valleys (N of the village Jósvalfö, 48°29'N/20° 32'E; 290 m a.s.l). The site belongs to the managed (transitional) zone of the Aggtelek National Park and Biosphere Reserve. Within this area, a sampling area of 7500 m<sup>2</sup> was selected, which was subdivided into 10 m x 10 m squares, was selected. Capturing and recapturing as well as counting the number of eggs were performed in those squares.

## 3. Methods

### 3.1. Estimating the parameters of population dynamics

#### 3.1.1. Marking-Release-Recapture

The method of marking-release-recapture was used in order to estimate the parameters characterizing the population. The essence of the method is to capture as many individuals during the sampling period as possible. The captured specimens are individually marked and then released. After a certain time sampling is repeated, and the basic parameters of population dynamics can be estimated on the basis of the ratio of the marked vs. unmarked specimens captured. Sampling was carried out on a daily basis, so each day can be regarded as one sampling occasion.

### 3.1.2. Data analysis

Our marking-recapture data were estimated with Cormack-Jolly-Seber (CJS) models. Using the above models survival rate ( $\phi$ ) and recapture probability ( $p$ ) can be estimated. The calculations were done with the help of program MARK 4.0. The program enables us to build models and to select the best, of which estimates can be accepted. The number of individuals caught per day was used for estimates of the sex ratio. The estimate was the ratio of the number of captured males and the total number of captured specimens. The number of individuals in the population was estimated with the help of the Jolly-Seber model of the program package Popan-5.

## 3.2. Analysis on the effect of management

### 3.2.1. Sampling and data analysis

Initially the geographical coordinates of the site were determined by GPS and a detailed map was constructed of the 150 m x 50 m sampling area. In our analysis we numbered the clumps of *Gentiana cruciata* in the area, and then we precisely recorded their position, the number of stems and their types (intact fertile, intact sterile and grazed).

Before habitat reconstruction commenced, the number of stems of *G. cruciata* and *Maculinea* eggs had only been counted in a large area: 75 squares in 1992 and 1993, and 200 in 1998. In 2003, 20 squares were sampled in a similar manner. In 2004 and 2005, however, a detailed study was carried out as follows. The clumps of *G. cruciata* were mapped and counted in 95 and 75 squares in 2004 and 2005, respectively. Eggs were, however, only counted in 50 and 40 randomly selected squares in 2004 and 2005, respectively. As the survey was completed using essentially the same methods in the two study periods (before and after management), the results could be compared. The data were analyzed with generalized linear models as counts, that is, a Poisson error with log link function was specified. The distribution of stems

among the different categories was compared between the two study periods by Fisher's exact test. All analyses were conducted using GLIM 4.

### 3.3. Surveys of the egg-laying preferences

#### 3.3.1. Sampling

The oviposition preference of the females of *M. alcon* was studied in two complementary series of research:

(i) The investigation of the relationship between the number of the eggs, the number of stems belonging to a clump of *Gentiana* and the spatial distribution of eggs was performed in 50 randomly selected squares in 2004 and in 40 ones in 2005.

(ii) In the analysis of the influences of pathogen species and that of the characteristics of stems on the egg-laying preference of *Maculinea alcon*, those squares were only considered (out of the randomly selected ones), where infested stems occurred. In 2004, we found stems infested by aphids in merely 5 squares and in the next year in 6 ones. As the number of infested stems was very low in these years, and they appeared in different squares in 2004 and 2005, we merged these data in our analysis. In 2006, as a result of rainy weather at the beginning of the summer the number of stems infested by aphids was considerably higher than in the previous years. Out of the 20 randomly selected squares surveyed this year, stems infested by aphids were found in 14 ones. Thus, sufficient data were available from this year for the analyses. In all analyses, those squares were only involved where the above stem types occurred.

Our investigations were performed in the second half of the flight period of *M. alcon*, when the generative organs of *G. cruciata* were visible. The following data were recorded in each square: (i) the number and state of stems in the clumps of *G. cruciata* (intact fertile, intact sterile, grazed, infested by aphids or rust); (ii) the height of stems and surrounding vegetation (this measurement was not yet performed in

2004); (iii) the number of whorls with flowers; (iv) the number of eggs on the different whorls of the stems. In 2006, a more detailed survey was carried out than in the previous two years. In addition to the above mentioned data, we recorded (v) the number of generative organs and their phenological stages, (vi) the size of aphid colonies and the number of protector ants on the stems. Moreover, we recorded the number of eggs and aphids three times with 8 day intervals covering the whole flight period of *M. alcon* this year.

### 3.3.2. Data analysis

(i) Study on the relationship between the number of the eggs and the number of stems belonging to a clump and on the spatial distribution of eggs

The data were analyzed with generalized linear models as counts, that is, a Poisson error with log link function was specified. The distribution of the stems of *G. cruciata* and eggs was analyzed by Fisher's exact test. Deviance analysis was carried out to investigate the differences in the number of eggs on the different parts of the food plant. All analyses were conducted using GLIM 4.

(ii) Study on the influence of pathogen species and stem characteristics on the oviposition preference of *Maculinea alcon*

In our analysis, we took the log of egg number ( $\log n+1$ ) and the log of the number of aphids when it was necessary. Analysis of variance (ANOVA) was used, where stem types were compared in the case of the following variables: number of eggs, number of whorls with flowers, prominence of gentian stems from surrounding vegetation, the number of generative organs and flowers. Paired comparisons were performed by independent sample t-tests or Welch's t-tests (a robust version of t-tests) and Tukey-Kramer tests. In order to understand the underlying effects, partial correlation was estimated between the egg number and the other variables and a



stepwise multiple linear regression model was fitted. When studying the interaction between egg number and the phenological stage of stems, we created categories out of both variables. The independence among these categories was investigated by chi-square test. In the comparison of the distribution of eggs and aphids on different stems we characterised the quality of stems using the number of flowers and buds they had. The distribution of all fertile stems, those with eggs and aphid infested stems among these categories was analysed by Fisher's exact test. In the analysis of the interaction between the number of eggs and aphids we set categories of stems for both variables. Their independence was analysed by chi-square test. In order to decide whether the effect of aphid infestation on the ovipositing behaviour of females was direct or indirect, by using Fisher's test, we compared the portion of stems with eggs between all fertile stems and those which had no aphids during the third sampling though they were infested earlier. All statistical analyses were performed with the SPSS 14.0 programme package.

## 4. Results and discussions

### 4.1. Results of the marking-release-recapture studies

In 2002 a total of 688 individuals were marked, 493 males and 195 females. Of the 688 marked butterflies 292 (42.44%) were recaptured. During the sampling period, 173 butterflies were recaptured only once, 34 at least three times. In 2003, during the 10 days of sampling, a total of 806 butterflies were marked, of which 566 were males and 240 females. The recapture rate was 51.36%; 291 males and 123 females were recaptured. In 2003, 233 butterflies were recaptured only once, and 81 at least three times. During the 20 sampling days of 2004, 780 individuals (507 males and 273 females) were marked. 333 individuals were recaptured, which corresponds to a 42.7% recapture rate. 188 butterflies were recaptured only once, 66 at least three times.

#### 4.1.1. Survival rate ( $\phi$ ) and recapture probability ( $p$ )

The model selection procedure on the data sets of 2002 and 2004 resulted in  $\phi(.)p(t)$  as the model with most support in the data, i.e. the model in which the survival rate is time constant and identical for both sexes, while recapture probability varies with time and is identical for both males and females. As a result of the model selection procedure on the 2003 data set,  $\phi(g)p(gt)$  proved to be the model with the most support in the data, i.e. the model in which survival rate is constant and varies with sex, while recapture probability varies with time and sex. Survival rate ( $\phi$ ) shows that less than 20 % of the butterflies disappeared (died or migrated) from one day to the other in 2002 and 2003. According to the estimated value of  $\phi$ , 25% of the population disappeared overnight in 2004. Recapture rate ( $p$ ) shows a great variation from one day to the other. Field experience suggests that the value of ( $p$ ) may be strongly affected by wind speed and cloud cover. With increasing wind speed and cloud cover the number of captures tend to drop significantly, because butterflies hiding in the undergrowth are hard to observe. Butterflies' flight was of low intensity in the noonday hours, when the air temperature exceeded 30 °C.

In 2003, we found different survival and recapture rates for the two sexes, which can be due to the difference in the way males and females behave. The higher recapture rates of males may be attributed to the fact that they fly more often and higher searching for the less mobile females. Females, on the other hand, tend to fly lower because they are searching for initial food plants in the undergrowth.

On the basis of the estimated values, the population can be regarded closed in terms of migration. The above is also supported by the fact that we were unable to find a single marked individual during genetic sampling in the nearest Alcon Blue population (located about 1.5 km away) although the flight periods of the two populations overlapped.

#### *4.1.2. Estimation of the number of individuals*

The shape of the curves gained from the estimation of the number of individuals was in accordance with weather conditions. In 2002 and 2003, as a result of warm and dry weather both the peak of flight and the end of the flight period occurred relatively fast. In 2004 cool and wet weather in early summer caused the slow, gradual growth and longer flight period of the population. Our results suggest that the Tohonya valley had a stable population of about a thousand individuals for the past years

#### *4.1.3. Sex ratio*

The results of population estimation agree with the estimates of the sex ratio. The ratio of males was much higher in the population in the first two thirds of the sampling period in the studied years. Following the flight period, the ratio of females increased gradually, and the sex ratio approximated 1:1 in the last third of the sampling period. The considerable change in the sex ratio during the flight period is also known in several other butterflies (proterandry). The explanation of the earlier appearance of males can be that they are not yet fertile right after hatching. Different species require various time period to complete the last phase of their sperms' maturation. Females, on the other hand, are fertile immediately and they start to copulate and oviposit on the day of their hatching, but deposit the majority of their eggs on the second day. However, if we consider the number of marked specimens in the whole study period, the number of females is lower than that of males in each year (appr. 1:2). The background of it might be that catches are different for the two sexes due to differences in male and female behaviour.

#### *4.2 Analysis of the effect of management*

In the years following reconstruction, both the number of stems oviposited by *M. alcon* females and the total egg count increased considerably. The average number of intact fertile stems per quadrat was very low (2.68) and declining before management

started; however, the number of stems per quadrat became five times larger (15.06) right after habitat reconstruction started and was evidently increasing. The average number of eggs per square was quite low (6.8) and highly variable before habitat reconstruction. In contrast, the number of eggs was very high (160.3) and increased consistently after management started. The difference in the number of intact fertile stems and the number of eggs in the two study periods was highly significant. Variation in the number of eggs per stem provided a suggestive picture of the status of the *Maculinea* population. In the Tohonya valley the number of eggs on average was 3.3 and 10.1 eggs per *Gentiana* stem, before and after habitat reconstruction, respectively. The findings clearly demonstrate that the frequency of eggs was very low during the 90's, and the population was on the verge of extinction. After management was launched, egg counts started to recover and reached the normal level, which indicated the regeneration of the population. The literature suggests that larval mortality on plants is density independent at egg densities lower than 0.75 eggs per flower and highly density dependent at egg densities higher than this value. It was, therefore, of interest to determine the egg densities on our study site before and after the management. Assuming that one whorl has 5 flowers, our data correspond to approximately 0.2-0.3 and 0.5-0.6 eggs per flower before and after management, respectively. It thus appears that even after habitat reconstruction, egg densities were below the level when larvae experience density dependent mortality.

Moreover, the distribution of grazed, intact fertile and sterile clumps significantly improved as the percentage of intact fertile stems increased. This change also influenced the egg laying preference of the females. After the onset of management, all eggs were found on intact fertile stems (98.9%) implying that females preferred intact stems to grazed ones. They only oviposited on damaged stems when the percentage of intact stems was relatively low. The two periods showed significant differences in the percentage of grazed and fertile sprouts. In the years before the habitat reconstruction, the ratio of grazed sprouts (35.94%) was higher, while the ratio of intact fertile sprouts (48.14%) was lower than in the years after the reconstruction.

Another indication of the recovery of the habitat was that most of the plants counted in 2004 and 2005 were relatively young clumps growing close to each other (approx. 75%), which provided optimal egg-laying sites for the butterflies. Thus, we concluded that the food plant was vigorously reproducing vegetatively. The management of the site is likely to have had a beneficial effect on the vegetative production of clumps of stems and this resulted in the increase in the number of eggs laid on them.

Extrapolating from the number of eggs counted in the entire area, it is possible to predict the present size of the population. Assuming that the total number of eggs was approx. 13000-15000 on the Tohonya ridge, it is predicted that there are several hundreds of individuals in the population.

In summary, it can be stated that habitat reconstruction for the conservation of *Maculinea* and *Gentiana* populations has proved to be successful. Although the above mentioned habitat management was taken mainly in the light of the requirements of the *Maculinea* population, it is not merely a strategy to protect a species. "Alcon Blues" have special ecological requirements, and therefore they are so-called "umbrella species", i.e. they act as indicators for certain types of habitats. As a result, maintaining a proper habitat succession state protects not only the population of *Maculinea alcon*, but also other species that have specialized for the same habitat as well.

#### 4.3. Surveys on egg-laying preference

As all *Gentiana* clumps grow on a relatively flat plateau on the Tohonya ridge, theoretically every stem has equal chance to attract *Maculinea* females to lay eggs on them. The distribution of eggs, however, is not even among the stems, and there are more or less favoured parts even on a single stem. Females laid eggs singly or in small groups on the intact fertile stems of *Gentiana cruciata*.

(i) Study on the relationship between the number of the eggs and the number of stems belonging to a clump and on the spatial distribution of eggs

We have found significantly more eggs on the clumps with 5-6 or more stems than it could be expected relying on their frequency in the quadrates. By the increase of the number of stems per clumps, the chance of egg-laying also increases, because the searching females can more easily find the larger clumps in the vegetation. We suppose that clumps with 7-8 ramets are the optimal ones, since these are suitably large and their stems are tall enough, too, thus they are easily observed by the females. Stems of the clumps with over-abundant stems are generally lower, often sterile, thus they proved to be less suitable for egg-laying.

Repartition of eggs on the stems showed a strong negative correlation between the number of eggs and the position of whorls. The largest fraction (89%) of the eggs was found on the organs belonging to the uppermost whorl. The second whorl carried the 7.3%, the third one the 2.8%, the fourth one the 0.7% of the eggs. We could not find practically any eggs on the lowest whorls.

Egg-laying females preferred to oviposit on certain parts of the food plant. Comparing the proportions of the eggs on different parts of the host plant, the upper surface of the leaves, rather than the flowers and flower-buds proved to be the most attractive for the females. We have found only the 0.01% on the stems of the plants. The proportion of the eggs on the leaves compared to that on the flowers and flower-buds was 2:1. However, considering the essentially larger surface of the leaves compared to the flowers (leaves:petals ~ 5:1), our results imply that the flowers were the most attractive parts of the plant for the females. This conclusion is also supported by the fact that most of the flowers are in bloom on the *Gentiana* stems in the last part of the flight period only.

(ii) Study on the influence of pathogen species and stem characteristics on the oviposition preference of *Maculinea alcon*

Intact fertile stems were the most attractive for females. They laid more than 90% of their eggs on intact fertile uninfested stems (2004-2005: 97.90%; 2006: 92.72%) although these stems only amounted to slightly more than 50% of the total stems (2004-2005: 60.65%; 2006: 57.15%). On the other hand, merely a small percentage of eggs were found (2004-2005: 2.09%; 2006: 7.28%) on all other stem types even though they comprised a considerable portion (2004-2005: 39.35%; 2006: 42.45%). Our results confirmed that the number of eggs was decisively lower on intact sterile and on grazed stems than on intact fertile ones. We found significantly lower number of eggs on stems infested by aphids than on intact fertile ones. In contrast, infection by rust did not result in significant difference in the number of eggs.

In the selection of the most influential characteristics of stems on egg laying we performed multiple regression analysis. On the basis of the results we concluded that the two determining factors for females to choose food plants are the number of whorls with flowers and the prominence out of surrounding vegetation. Interestingly, there was no significant correlation between the number of eggs and the height of stems in the model. This is easily conceivable, as females presumably approach those plants, which are the most prominent in the surrounding vegetation and they are probably less influenced by the height of the stem itself. In 2006, we analysed the influence of the number of generative organs on egg number, which was also not significant on the basis of the model. On stems with very high numbers of flowers (100-120) we could not find significantly higher egg number than on typical stems (28-30 flowers). Although the number of flowers and buds is in strong correlation with the number of fertile whorls, the effects of the two parameters on oviposition can be different. As a result of the cover of surrounding vegetation several whorls with high flower number play practically no part in oviposition. To our thinking, the most important factor for *Maculinea* females in oviposition is the existence or absence of

generative organs on the upper whorls. This is a key information for them to decide whether the stem is suitable for larval development. Some bulbs (4-8 generative organs per stems) can render stems attractive for butterflies.

Stems infected with aphids were not worse than intact fertile ones either in the number of fertile whorls or in prominence out of surrounding vegetation. In fact stems infected with aphids sometimes were more attractive than uninfected ones e.g. in the number of generative organs. Although stems infected with aphids were similar to or even better than not infected ones, there were significantly fewer eggs on them. Similar results were obtained in Fisher's exact test where we compared the distribution of high and low quality stems (i.e. stems with more and less than average generative organs) among all fertile stems, those with eggs on them and stems infested by aphids. There was a significant difference in the portion of high quality stems among the three different samples of stems. Specifically, aphids occurred more frequently on high quality stems than it was expected on the basis of the portion of these stems. It was, however, interesting that the distribution of high and low quality stems was similar among all fertile stems and those with eggs on them. This indicates that females oviposit on the high and low quality *Gentiana* stems in a similar portion as they are accessible in the habitat.

Thus it seems that none of the characteristics of the studied stems differed significantly between the intact fertile ones and those infested by aphids, implying that the effect of aphid infestation is not expressed indirectly via the reduced quality of infested stems. This clearly suggests that the presence of aphid (*Aphis gentianae*) itself inhibited oviposition. The results of the chi-square test indicated that the presence of eggs was not independent of the presence of aphids, i.e. the presence of aphids on a stem decreased the probability of the occurrence of eggs.

In the study of the correlation between the number of aphids and eggs we found an indication of the exclusive effect of the presence of aphids on oviposition. Thus, we studied the position of eggs and aphids compared to each other on those stems, where they occurred simultaneously. In most cases eggs and aphids occurred on different



whorls. We only found them on the same whorls in 5 cases out of the total 95. Even on these 5 whorls eggs were found on the adaxial surface of leaves and aphids were found on the abaxial surface of them. Accordingly, our assumption was that there was no direct physical contact between aphids and egg laying females, so females practically did not perceive the presence of infection.

The other hypothesis we tested was that aphids may have an indirect effect on oviposition via chemical cues. In the test of this presumption we analysed those stems, which had no aphids on them in the time of egg counting. The results clearly showed that females choose significantly less frequently those stems for oviposition, which were infested by aphids earlier compared to the intact fertile stems. Thus we concluded that the former infestation probably affected the ovipositing behaviour of females by means of chemical cues. Summarising our results we can conclude that aphid infestation inhibits females' oviposition. This inhibition may be partly the consequence of a direct physical contact between aphids and females and partly the result of an indirect effect via chemical signals.

On *Gentiana* stems covered by *Aphis* colonies, we observed the movement of *Lasius paralienius* Seifert, 1992 and *L. niger* (Linnaeus, 1758). The comparison of the average number of eggs between the “merely” aphid infested stems and aphid infested stems with ants clearly showed that attending ants did not increase the repulsive effect of aphid infestation.

In case of stems infected by *Puccinia* the situation is quite different. Whereas aphids occur exclusively on intact fertile stems, rust does not select among stems and can attack both intact fertile, intact sterile and grazed stems. Stems infected by rust did not differ significantly from intact fertile ones regarding the studied parameters, including the number of eggs on them. Therefore, the presence of rust did not influence the egg-laying behaviour of females. The only factor, which significantly differed between stems infected by rust and intact fertile ones, was the phenological state of the generative organs. The number of flowers in bloom was lower on stems infected by rust than on intact fertile ones. This difference, however, did not influence

egg number, suggesting that oviposition is not related significantly to the phenological state of the generative organs. The interaction between egg number and the phenological state of fertile stems was investigated by chi-square test and also showed the total independence of oviposition and phenological states. We think that it is a successful strategy of survival for butterflies during extreme weather conditions resulting in either very early or delayed flowering period of the initial food plant. In this way, early larvae, which are subjected to extreme external conditions to a far larger extent than late larvae and pupae in the ant nest can be more secure. This important fact allows females to lay their eggs even when the flowering period of *G. cruciata* is in delay compared to the flight period of *M. alcon*.

## Árnyas Ervin Mihály tudományos tevékenységének jegyzéke

### Az értekezés témakörében megjelent publikációk

1. **Árnyas E.**, Bereczki J., Tóth A. & Varga Z. 2005: Results of the mark-release-recapture studies of a *Maculinea rebeli* population in the Aggtelek karst (N Hungary) between 2002-2004. In: Settele J., Kühn E. & Thomas J.A. (eds): *Studies on the Ecology and Conservation of Butterflies in Europe. Vol. 2.* Pensoft Publishers, Sofia, pp. 111–114.
2. **Árnyas E.**, Bereczki J., Tóth A., Pecsénye K. & Varga Z. 2005: Egg-laying preferences of the xerophilous ecotype of *Maculinea alcon* (Lepidoptera: Lycaenidae) in the Aggtelek National Park. In: Settele J., Kühn E. & Thomas J.A. (eds): *Studies on the Ecology and Conservation of Butterflies in Europe. Vol. 2.* Pensoft Publishers, Sofia, pp. 61–64.
3. **Árnyas E.**, Bereczki J., Tóth A., Pecsénye K. & Varga Z. 2006: Egg-laying preferences of the xerophilous ecotype of *Maculinea alcon* (Lepidoptera: Lycaenidae) in the Aggtelek National Park. *Eur. J. Entomol.* 103: 587–595.
4. **Árnyas E.**, Bereczki J., Tóth A., Pecsénye K. & Varga Z. 2006: A *Maculinea alcon* peterakási preferenciájának vizsgálata az Aggteleki Nemzeti Parkban. *Term. Véd. Közlem.* (in press).
5. **Árnyas E.**, Bereczki J., Tóth A., Varga K., Pecsénye K., Tartally A., Kövics Gy., Karsa D. & Varga Z. 2007: Oviposition preferences of *Maculinea alcon* (Lepidoptera: Lycaenidae) influenced by food-plant specialized aphids (*Aphis gentianae*) and fungal infection by *Puccinia gentianae*. (under revision in *Ecological Entomol.*).

### Az értekezés témakörében elhangzott előadások

1. **Árnyas E.**, Bereczki J., Tóth A., Pecsénye K. & Varga Z. 2005: Jelölés-visszafogás és peterakási preferencia vizsgálatok a *Maculinea alcon* (Lepidoptera: Lycaenidae) tohonya-völgyi populációján. DE. - Tanszéki Szeminárium.

## Egyéb szakcikkek

1. **Árnyas E.**, Szabó S., Tóthmérész B. & Varga, Z. 2004: Lepkefaunisztikai vizsgálatok fénycsapdás gyűjtéssel az Aggteleki Nemzeti Parkban. *Term. Véd. Közlem.* 11: 319–328.
2. **Árnyas E.**, Szabó S., Tóthmérész B. & Varga S. Z. 2005: Light-trap surveys of the Lepidoptera fauna at the Aggtelek National Park. *Folia ent. hung.* 66: 195–206.
3. Szabó S., **Árnyas E.**, Tóthmérész B. & Varga Z. 2006: Az Aggteleki Nemzeti Park nagylepke (Lepidoptera: Macroheterocera) faunájának elemzése hosszú távú fénycsapdás adatsor alapján. *Term. Véd. Közlem.* (in press).
4. Szabó S., **Árnyas E.**, Tóthmérész B. & Varga Z. 2007: Long-term light trap studies on the macro-moth (Lepidoptera: Macroheterocera) fauna of the Aggtelek National Park. *Acta zool. hung.* (in press).

## Egyéb előadások

- Árnyas E.**, Szabó S., Tóthmérész B. & Varga, Z. 2002: Faunisztikai vizsgálatok fénycsapdás gyűjtéssel az Aggteleki Nemzeti Park területén. VIII. Országos Felsőoktatási Környezettudományi Diákkonferencia. 2002. március 26-28. Veszprém.