ABSTRACT

Odonata is a primitive order of class Insecta. The order is divided into three suborders- Anisoptera, Zygoptera and Anisozygoptera. Anisoptera is the suborder of dragonflies and damselflies belonging to the suborder Zygoptera. Anisozygoptera is a living fossil and has only 3 species representatives globally. Odonates are hemimetabolous insects and both larval and adult forms are predators. They are amphibiotic; egg and larval development take place in water and adults are aerial. Odonates are naturally considered as biocontrol agents and bioindicators.

Various habitats of high land, midland and low land regions of 5 districts of Kerala were selected for the study. A total of 73 locations were observed in the Thrissur, Ernakulam, Palakkad, Wayanad and Idukki districts of Kerala. The observed habitats include streams, rivers, ponds, lakes, paddy fields, ditches and estuaries.

A total of 71 species (33 species of damselflies and 38 species of dragonflies) were observed during the study. They belong to 10 families and 43 genera. The Western Ghats endemic species recorded during the work were *Aciagrion approximans krishna, Agriocnemis keralensis, Pseudagrion indicum* and *Protosticta gravelyi*. The rarely found species *Paracercion malayanum* is the first record from central and northern Kerala. Taxonomic keys for the observed 71 species of odonates were prepared.

Traditionally organisms were classified based on morphological features. Many research workers pointed out the limitations of traditional taxonomy. These challenges can be overcome by molecular taxonomic approaches. The results of phylogenetic analysis become more convincing when multiple marker genes are included in the study. So, the present work focused on mitochondrial COI gene and nuclear 18S rRNA gene for the molecular characterisation and phylogenetic assessment of selected odonates of Kerala.

Molecular characterisation of 34 species belonging to 28 genera was done. Partial COI gene, 18S rRNA gene sequences and translated protein sequences were generated. Of these, twelve COI gene sequences and twenty three 18S rRNA gene sequences are the first worldwide GenBank records. Mitochondrial COI sequences

can be used for precise and faster identification of odonate species and phylogenetic studies. Nuclear 18S rRNA gene sequences are beneficial in higher level phylogenetic analysis.

Phylogenetic analyses of two suborders and selected families, based on partial COI and 18S rRNA gene sequences were carried out and genetic divergence values among odonates were estimated. The efficiency of partial COI and 18S rRNA marker genes in resolving relationships was studied. A detailed comparison of trees based on both marker genes revealed the efficiency of COI over the 18S rRNA gene in resolving family and suborder trees.

Phylogenetic analyses of the 27 genera were done based on COI gene sequences. The results of the analyses and the calculated genetic divergence values provided insights into intraspecific and interspecific genetic variation of odonates across large geographic distances. The majority of odonates selected for the study showed low genetic variability over long distances (different countries and continents) except for eight species. When comparing the results, genetic variability was lesser in damselflies and considerably high in dragonflies.

The estimated interspecific divergence values within each genus showed that maximum and minimum interspecific divergence values were possessed by genus *Tholymis* and genus *Dysphaea* respectively.

Another finding of the study was the close genetic similarity observed between morphologically dissimilar and geographically distant species.

സംഗ്രഹം

ജീവികളിൽ ഏറ്റവും പ്രധാനപ്പെട്ട ഒരു വംശമാണ് ഷഡ്പദങ്ങൾ. ഈ വംശത്തിലെ ഒരു പ്രാചീന ഗണമാണ് ഒഡോണേറ്റ. ഇവ അനൈസോപ്റ്റീറ, സൈഗോപ്റ്റീറ, അനൈസോസൈഗോപ്റ്റീറ എന്നിങ്ങനെ മൂന്ന് ഉപഗണങ്ങളായി വിഭജിക്കപ്പെട്ടിരിക്കുന്നു. അനൈസോപ്റ്റീറ കല്ലൻതുമ്പികളുടെയും സൈഗോപ്റ്റീറ സൂചിത്തുമ്പികളുടേയും ഉപഗണങ്ങളാണ്. എന്നാൽ അനൈസോസൈഗോപ്റ്റീറ കല്ലൻതുമ്പികളുടെയും സൂചിത്തുമ്പികളുടേയും സവിശേഷതകൾ ഉള്ള മൂന്നാമത്ത അപൂർവ്വ ഉപഗണമാണ്.

തുമ്പികളുടെ ജീവിതചക്രം അപൂർണ രൂപാന്തരീകരണത്തിനുദാഹരണമാണ് (Hemimetabolous type of Metamorphosis). ഇവയുടെ ലാർവകളും മുതിർന്ന തുമ്പികളും ചെറുപ്രാണികളെ ആഹാരമാക്കുന്ന മാംസഭുക്കുകളാണ്. പൊതുവെ ഇവ ഉഭയജീവിതകളാണ്. അവയുടെ ജീവിതചക്രത്തിന്റെ ആദ്യഘട്ടം (മുട്ട, ലാർവ) ശുദ്ധജലത്തിലും രണ്ടാംഘട്ടം (പൂർണവളർച്ചയെത്തിയ മുതിർന്ന തുമ്പികൾ) വായുവിലും പൂർത്തിയാക്കപ്പെടുന്നു. പ്രകൃതിയിൽ തുമ്പികൾ വ്യത്യസ്ത ശുദ്ധജല ആവാസവ്യവസ്ഥകളിൽ ജൈവ നിയന്ത്രണ പ്രവർത്തകരായും (Bio control agents) ജൈവസൂചികകളായും (Bio Indicators) കണക്കാക്കപ്പെട്ടിരിക്കുന്നു.

കേരളത്തിലെ 5 ജില്ലകളിലെ മലനാടുകളിലെയും ഇടനാടുകളിലെയും തീരപ്രദേശങ്ങളിലെയും വ്യത്യസ്തജല ആവാസ വ്യവസ്ഥകൾ ഈ ഗവേഷണ പഠനത്തിനായി തിരഞ്ഞെടുത്തു. തൃശൂർ, എറണാകുളം, പാലക്കാട്, വയനാട്, ഇടുക്കി ജില്ലകളിലായി ആകെ 73 സ്ഥലങ്ങൾ നിരീക്ഷിച്ചു. ഈ ആവാസവ്യവസ്ഥകളിൽ അരുവികളും ചാലുകളും കായലുകളും ഉൾപ്പെടുന്നു.

ഈ പഠനഗവേഷണത്തിന്റെ ഭാഗമായി മേൽപറഞ്ഞ സ്ഥലങ്ങളിൽ ആകെ 71 ഇനം തുമ്പികളെ (33 ഇനം സൂചിത്തുമ്പികളും 38 ഇനം കല്ലൻ തുമ്പികളും) നിരീക്ഷിച്ചു. അവ 10 കുടുംബങ്ങളിലും 43 ജനുസ്സുകളിലും ഉൾപ്പെട്ടിരിക്കുന്നു. ഇതിൽ നീലചിന്നൻ (*Aciagrion approximans krishna*) പത്തിപുൽചിന്നൻ (*Agriocnemis keralensis*) മഞ്ഞവരയൻ പൂത്താലി (*Pseudagrion indium*) പുള്ളിനിഴൽത്തുമ്പി (*Protosticta gravelyi*) എന്നിവ പശ്ചിമഘട്ടത്തിലെ സ്ഥാനീയ തുമ്പികളാണ്. അപൂർവ്വമായി കണ്ടുവരുന്ന

ഇനമായ മലയൻ താമരത്തുമ്പിയെ (*Paracercion malayanum*) മധ്യകേരള ത്തിൽ നിന്നും വടക്കൻ കേരളത്തിൽ നിന്നും ആദ്യമായി കണ്ടെത്താൻ കഴി ഞ്ഞു. നിരീക്ഷിച്ച 71 ഇനം തുമ്പികളുടെ വർഗ്ഗീകരണ സൂചികകൾ (Taxonomic keys) തയ്യാറാക്കിയിട്ടുണ്ട്.

ജീവജാലങ്ങളെ സാധാരണയായി പരമ്പരാഗത രീതിയിലാണ് വർഗ്ഗീക രണം നടത്തികൊണ്ടിരുന്നത്. പല ഗവേഷകരും പരമ്പരാഗത വർഗ്ഗീകരണ വ്യവസ്ഥയുടെ പരിമിതികൾ ചൂണ്ടിക്കാട്ടിയിട്ടുണ്ട്. ഈ വെല്ലുവിളികളെ മറിക ടക്കാൻ തൻമാത്രാ വർഗ്ഗീകരണ വ്യവസ്ഥ (Molecular taxonomy) ഉപയോ ഗിച്ചുകൊണ്ട് സാധിക്കുമെന്ന് അടുത്ത കാലങ്ങളിൽ ശാസ്ത്രീയമായി തെളി യിക്കപ്പെട്ടിട്ടുണ്ട്. തന്മാത്രാ വർഗ്ഗീകരണത്തിൽ ഒന്നിലധികം ജീനുകൾ ഉൾപ്പെടുത്തുമ്പോൾ വംശ-ജനിതക വിശകലനത്തിന്റെ (Phylogenetic analysis) ഫലങ്ങൾ കൂടുതൽ ബോധ്യപ്പെടും. അതിനാൽ ഈ ഗവേഷണ പഠ നത്തിൽ കേരളത്തിലെ തിരഞ്ഞെടുത്ത തുമ്പികളുടെ തന്മാത്രാ സ്വഭാവ നിർണയത്തിനും (Molecular Characterisation) വംശജനിതക വിശകലന ത്തിനും കോശമൈറ്റോ കോൺഡ്രിയയിലെ COI ജീനും കോശമർമ്മത്തിലെ 18S rRNA ജീനും ഉപയോഗിച്ചിരിക്കുന്നു.

പഠനത്തോടനുബന്ധിച്ച് 28 ജനുസ്സുകളിൽപ്പെടുന്ന 34 ഇനം തുമ്പിക ളുടെ തന്മാത്രാ സ്വഭാവ നിർണയം നടത്തി. COI ജീൻ, 18S rRNA ജീൻ എന്നിവയുടെ ഭാഗിക ശ്രേണികളും COI ജീനിൽ നിന്നും ഉരുത്തിരിയുന്ന മാംസ്യശ്രേണികളും രൂപപ്പെടുത്തി. ഇവയെ ആഗോള ജനിതകബാങ്കിൽ (GenBank) നിക്ഷേപിച്ചു. ഇവയിൽ പന്ത്രണ്ട് COI ശ്രേണികളും ഇരുപത്തി മൂന്ന് 18S rRNA ജീൻ ശ്രേണികളും ലോകത്തിലെ തന്നെ ആദ്യ ജെൻബാങ്ക് രേഖകൾ ആണ്. തുമ്പികളുടെ കൃത്യവും വേഗത്തിലുള്ളതുമായ തിരിച്ചറിയി ലിനും വംശജനിതക പഠനത്തിനും COI ശ്രേണികൾ ഉപയോഗിക്കാം. ഉയർന്ന തലത്തിലുള്ള വംശജനിതക വിശകലനത്തിന് 18S rRNA ജീൻ ശ്രേണികൾ പ്രയോജനകരമാണ്.

COI, 18S rRNA ജീനുകളുടെ ഭാഗിക ശ്രേണികൾ അടിസ്ഥാനമാക്കി തുമ്പികളിലെ രണ്ട് ഉപവിഭാഗങ്ങളുടെയും (കല്ലൻതുമ്പികളും സൂചിത്തുമ്പി

കളും) തിരഞ്ഞെടുത്ത കുടുംബങ്ങളുടെയും വംശജനിതക വിശകലനങ്ങൾ നടത്തി. തുമ്പികളിലെ ജനിതക വ്യതിയാന മൂല്യങ്ങളും (Genetic divergence) കണക്കാക്കി തുമ്പിയിനങ്ങൾ തമ്മിലുള്ള ബന്ധങ്ങൾ വിവേചിച്ചറിയുന്നതിൽ COI, 18S rRNA ജീനുകളുടെ കാര്യക്ഷമത പഠിച്ചു. ഇരുജീനുകളും അടിസ്ഥാനമാക്കിയുള്ള വംശജനിതക വൃക്ഷങ്ങളുടെ (Phylogenetic Trees) താരതമ്യം 18S rRNA ജീനിനേക്കാൾ COI ജീനിന്റെ കൂടിയ കാര്യക്ഷമത വെളിപ്പെടുത്തി.

COI ജീൻ ശ്രേണികളെ അടിസ്ഥാനമാക്കി 27 ജനുസ്സുകളുടെ വംശജനിതക വിശകലനങ്ങൾ നടത്തി. വിദൂരസ്ഥലങ്ങളിലെ തുമ്പിയിനങ്ങൾക്കിടയിലും തുമ്പിയിനങ്ങൾക്കുള്ളിലും ഉള്ള ജനിതക വ്യതിയാനങ്ങളെക്കുറിച്ച് (*Interspecific and Intra specific genetic divergence*) ഉൾക്കാഴ്ച നൽകാൻ പ്രസ്തുത വിശകലന ഫലങ്ങൾക്കും ജനിതക വ്യതിയാന മൂല്യങ്ങൾക്കും സാധിച്ചു. 8 ഇനങ്ങൾ ഒഴികെയുള്ള ഭൂരിഭാഗം തുമ്പിയിനങ്ങളും കുറഞ്ഞ ജനിതക വ്യതിയാനം കാണിച്ചു. ജനിതക വ്യതിയാനം താരതമ്യേന സൂചിത്തുമ്പികളിൽ കുറവും കല്ലൻ തുമ്പികളിൽ കൂടുതലുമാണ് എന്ന് ശാസ്ത്രലോകത്തിന് വെളിപ്പെടുത്തി നൽകുവാൻ ഈ പഠനത്തിന് കഴിഞ്ഞു.

തുമ്പിയിനങ്ങൾക്കിടിയിലുള്ള ജനിതകവ്യതിയാനം ഏറ്റവും കൂടുതൽ തൊളിമിസ് (*Tholymis*) ജനുസ്സിലും ഏറ്റവും കുറവ് ഡിസ്ഫേയിയ (*Dysphaea*) ജനുസ്സിലും ആണ് കാണപ്പെട്ടത്.

പഠനത്തിന്റെ മറ്റൊരു കണ്ടെത്തൽ രൂപസാദൃശ്യമില്ലാത്തതും വിദൂരസ്ഥലങ്ങളിൽ കാണപ്പെടുന്നതുമായ തുമ്പികൾ തമ്മിലുള്ള അടുത്ത ജനിതക സമാനതയാണ്.