

PATAKLAKÓ KÜLLŐFÉLÉK (*CYPRINIDAE*, GENUS: *GOBIO*) GENETIKAI VIZSGÁLATA REJTETT (KRIPTIKUS) FAJOK A KÁRPÁT-MEDENCÉBEN?

Takács Péter

PhD, tudományos munkatárs,
MTA Ökológiai Kutatóközpont
Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany
takacs.peter@okologia.mta.hu

Csoma Eszter

PhD, adjunktus,
Debreceni Egyetem
Orvosi Mikrobiológiai Intézet, Debrecen

Bihari Péter

PhD, tudományos munkatárs,
MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont

Erős Tibor

PhD, tudományos főmunkatárs,
MTA Ökológiai Kutatóközpont
Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany

Specziár András

PhD, tudományos főmunkatárs,
MTA Ökológiai Kutatóközpont
Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany

Szivák Ildikó

PhD, tudományos segédmunkatárs,
MTA Ökológiai Kutatóközpont
Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany

Bíró Péter

az MTA rendes tagja, professor emeritus,
MTA Ökológiai Kutatóközpont Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany

Természetvédelmi biológiai vizsgálatok tanúsága szerint a vízi ökoszisztémák különösen érzékenyek az emberi degradációs hatásokra, így megőrzésükre különös figyelmet kell fordítanunk (Dudgeon et al., 2006). Egy adott élőlényközösség megtartása csak annak pontos felépítése és működése ismeretében lehetséges, ezért hosszú távú megővésükhöz mind taxonómiai, mind funkcionális diverzitásuk

ismerete elengedhetetlenül szükséges. Sokszor azonban még gerinces élőlények esetében is sok problémát okoz a pontos taxonómiai státusz megállapítása. Különösen érvényes ez azokra a széles körben elterjedt fajokra, melyek nagyfokú külső megjelenésbeli (*fenotípusos*) változatosságot mutatnak, így a klasszikus morfológiai jegyeket használó taxonómiai módszerekkel csak nehezen határozhatók.

Az utóbbi egy-két évtizedben az egyre olcsóbbá és elérhetőbbé váló molekuláris biológiai módszerek taxonómiai célú alkalmazásával robbanásszerű változások indultak meg ezen a tudományterületen belül is. A genetikai módszerek alkalmazásának eredményeként sok, addig széles körben elterjedtnek gondolt fajról derült ki, hogy számos morfológiailag ugyan rendkívül hasonló, de genetikailag többé-kevésbé elkülönülő entitásokra, úgynevezett *kriptikus* (rejtett) *fajokra* tagolódnak (Mayr, 1948). A fajképződésnek korai szakaszában vannak, melyek még nem nyilvánulnak meg jól megkülönböztethető testi sajátságokban. Genetikailag ugyan már valamilyen szinten elkülönülnek, de ha megszűnik az ökológiai okokból vagy éppen a nagy távolság miatt létrejött izoláció, még képesek szaporodni egymással.

A Kárpát-medencei halfaunának több olyan tagja is van, melyek taxonómiai helyzete nem teljesen tisztázott. Az egyik ezek közül a magyarországi kisvizek egyik leggyakoribb halfaja, a fenékjáró küllő (*Gobio gobio* Linnaeus, 1758). Ezt a kis testű, áramló vizet igénylő, az ősi pontyfélék közé tartozó, védett fajt sokáig általánosan elterjedtnek gondolták Európa középső részén, így Magyarországon is, ahol a dombvidéki vízfolyások karakter halfájának bizonyult (Erős, 2007). A faj taxonómiai helyzetének problémáját viszont jól mutatja, hogy a XIX–XX. században sokszor változott a taxon rendszertana. Nagy elterjedési területe, illetve a nagymértékű morfológiai változékonysága miatt sok helyi állományát különálló fajként írták le, majd ezeket legtöbbször az időről időre megjelenő összegző-áttekintő művekben rendre alfaji szintre sorolták vissza. A legutolsó klasszikus morfológiai vizsgálatokon alapuló taxonómiai munkában Petre M. Bănărescu (1999) a törzsalak

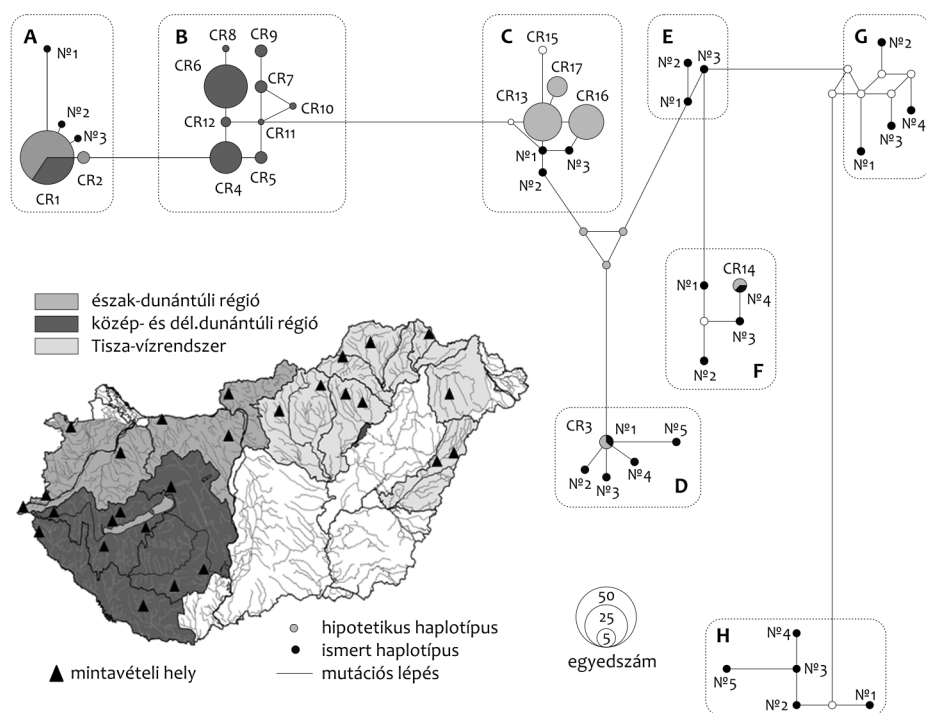
mellett szinte mindegyik nagyobb európai folyó vízgyűjtőjéről jelezte a fenékjáró küllő alfajait (összesen tizenhét alfajt sorolt fel).

A molekuláris biológiai módszerek taxonómiai célú felhasználása ennek a fajnak a rendszertanában is jelentős változásokat hozott. A fenékjáró küllőt a legújabb filogenetikai módszerek eredményeit közlő publikációk már nem említik a Kárpát-medencéből és az onnan délre eső területekről. Viszont a megnevezett területekről eddig alfajként nyilvántartott, morfológiailag szinte megkülönböztethetetlen (Kottelat – Freyhof, 2007; Takács, 2012) taxonokat emelnek faji szintre (Mendel et al., 2008). A Tisza vízrendszeréből a kárpáti küllő (*Gobio carpathicus* Vladkyov, 1925), míg a dunántúli régióból a dunai küllő (*Gobio obtusirostris* Valenciennes, 1842) előfordulását adják meg, valamint említenek egy faji szinten nem definiált taxont (*sic!* *Gobio* sp.), amely átmeneti helyzetet foglal el (!) a már említett két faj között. Sajnos, a közlemény szerzői nem elemeztek magyar vizekből származó mintákat, így a Kárpát-medence belső területein található dombvidéki vízfolyások egyik leggyakoribb halfájának taxonómiai helyzete még korántsem tekinthető tisztázottnak.

Egy, az MTA Ökológiai Kutatóközpont (ÖK) Balatoni Limnológiai Intézetében futó pályázat keretében (OTKA–NKTH CNK 80140) lehetőségünk nyílt a magyarországi patakklakó küllőfélék feltételezett rejtett (ún. *kriptikus*) diverzitásának feltárására. Jelen munkánkban huszonhét magyarországi küllőpopulációból (*i. táblázat, i. ábra*) származó összesen 168 egyed DNS mintáját elemeztük. Vizsgálatainkat a már említett publikációban (Mendel et al., 2008) használt módszerrel végeztük el. A mitokondriális DNS egy nem kódoló régiójának (mtCR) 652 bázis hosszú

szakaszát szekvenáltuk. Mivel a módszerek és az elemzett DNS-szakaszok megegyeztek, így lehetőségünk nyílt a kapott eredményeinket a meglévő adatbázisba beilleszteni, és az abban tárolt szekvenciákkal együttesen elemezni. A kapott szekvenciákat illesztettük egymással, a 100%-ban megegyező szekvenciákat haplotípusokba soroltuk. A taxonómiai helyzet meghatározásához a kapott haplotípusainkat a GenBank adatbázisban található (URL) közép-európai és a Balkán-, valamint az Anatóliai-félszigeten honos *Gobio* fajok három-öt haplotípusának szekvenciái-

val (2. táblázat) is illesztettük. Az így kapott adatbázist NETWORK-analízissel (Bandelt et al., 1999) elemeztük. A szekvenálás eredményeként a vizsgált egyedek DNS szekvenciáit tizenhét haplotípusba (CR01-17) soroltuk be (1. táblázat), melyből tizenöt bizonyult újnak, ezeket a GenBank adatbázisába is feltöltöttük (kódok: KC757328-42). A Duna vízrendszeréhez tartozó mintahelyekről tizenkét haplotípust tudtunk kimutatni, melyek közül a CR03-as haplotípus a GenBankban leközölt EU131542 kódú haplotípussal mutatott teljes egyezést. Így az ebbe a haplotípusba



1. ábra • A mitokondriális kontroll régió (mtCR) szekvenciák NETWORK-analízisének eredményei. A körök nagysága arányos az adott haplotípusba sorolt egyedek számával. A körök színe a haplotípusok régiós megoszlására utal. A haplotípusok közötti vonalak hosszúsága arányos azok genetikai távolságával. CR01-17: jelen munkánkban kimutatott haplotípusok. Az egyes haplotípus-csoportok betű-, illetve a haplotípusok számkódjai (N°) megegyeznek a 2. és 3. táblázatban feltüntetettekkel.

vízfolyás	minta hely-koordináta		N	CR01	CR02	CR03	CR04	CR05	CR06	CR07	CR08	CR09	CR10	CR11	CR12	CR13	CR14	CR15	CR16	CR17	
	szél.	hossz.																			
Szőlnöki-patak	É 46.92730	K 16.20149	2	2																	
Pinka	É 47.15667	K 16.46333	3	3																	
Gerence	É 47.35146	K 17.61271	3	3																	
Répece	É 47.44407	K 16.67898	10	10																	
Cuhai-Bakony-ér	É 47.65584	K 17.88013	10	6	2	2															
Kemence-patak	É 47.99175	K 17.91458	3	3																	
Dera-patak	É 47.65298	K 17.97206	2	2																	
Zala	É 46.85031	K 16.62710	6	1	5																
Marótvölgyi-vízf.	É 46.50994	K 17.29116	9				3	4	2												
Tapolca	É 46.84992	K 17.42141	10	8			9	1													
Egervíz	É 46.83625	K 17.47877	10	2			2														
Terves-patak	É 46.72650	K 17.77647	10	3				8													
Séd	É 47.09030	K 18.07058	10				1	6													
Baranya-csatorna	É 46.19167	K 18.15551	3	1				3													
Völgysegi-patak	É 46.28232	K 18.47123	2					1													
Bükkösdli-patak	É 46.08520	K 17.98406	9					8	1												
Kerka	É 46.81240	K 16.34637	9					3				2	1	1	2						
Bózsza	É 48.46353	K 21.51624	10													8	2				
Máriapócsi ff.	É 47.96533	K 21.97856	10													7		1	2		
Hódos-patak	É 48.17728	K 20.25596	2													2					
Abodi-patak	É 48.38829	K 20.77152	2																	2	

Kácsi-patak	É 47.93180	K 20.63465	9																2			7
Ostorosi-patak	É 47.8569	K 20.44571	2																			2
Leleszi-patak	É 48.05221	K 20.17948	4																			4
Zsunyi-patak	É 47.94147	K 19.58816	4																			4
Konyári-Kálló	É 47.47491	K 21.96314	10																3			7
Villongó-ér	É 47.39352	K 21.85245	4																4			
összesen			168	44	2	2	17	3	34	2	1	2	1	2	1	1	2	26	2	1	21	7

1. táblázat • Az egyes vízfolyások nevei és az azokon kijelölt gyűjtőhelyek koordinátái, az elemzett szövetminták száma (N) és az egyes mintahelyeken előforduló haplotípusok egyszám eloszlása. A pontozott vonal az észak-dunántúli, illetve a közép- és dél-dunántúli mintavételi helyeket különíti el, a szaggatott vonal alatt a tiszai vízgyűjtő mintahelyei találhatók.

sorolt két egyed *Gobio gobio* fajként azonosítottuk. Ellentétben tehát a korábbi közlésekkel, az alcsalád (*Gobioninae*) névadó faja jelen van a Kárpát-medence belső területein. Az elemzett szekvenciák több mint egynegyede a CR01-es haplotípusba került, amely a NETWORK-analízis tanúsága szerint a *Gobio obtusirostris* faj haplotípusaival mutat nagy hasonlóságot („A” haplocsoport, *i. ábra*). A dunai küllő haplotípusai (CR01–02) legnagyobb számban az Észak-Dunántúl területéről, valamint az Ipoly vízgyűjtőjéről kerültek elő. Kisebb számban megjelentek a közép-dunántúli régió vizeiben is. A közép- és dél-dunántúli régió vizeiben egy a dunai küllőhöz hasonló, de annál jóval diverzebb haplotípuscsoport volt a domináns („B” haplotípus csoport, *i. ábra*). A két haplocsoport elválását véleményünk szerint a pleisztocén „nagy interglaciálisában” körülbelül 140 ezer éve bekövetkezett vízrajzi szétkülönülés okozhatta, amikor a Közép- és Dél-Dunántúl vízrendszere izolálódott az észak-dunántúli vízrendszertől (Gábris – Mari, 2007). Viszont a közép- és dél-dunántúli állományok nagyfokú genetikai hasonlósága annak tudható be, hogy e két régió (ti. a Dráva és a Balaton) vízrendszere csak jóval később, a holocénben kezdett elkülönülni. Az a tény, hogy a CR01-es haplotípus a közép- és dél-dunántúli területekről is előkerült, feltételezésünk szerint másodlagos, emberi hatásoknak – véletlen betelepítéseknek – tudható be.

Kevésbé változatos eredményeket hozott a Tisza vízrendszeréből származó minták elemzése, amelyet véleményünk szerint a jóval egyszerűbb felépítésű, és így könnyebben átjárható vízrendszerrel magyarázhatunk. Összesen öt haplotípust tudtunk kimutatni, ezek közül két, a Bózsából előkerült egyed haplotípusa (CR14) megegyezett a GenBank-

haplo- csoport	taxonnév (GenBank)	GenBank kódok				
		N ^o ₁	N ^o ₂	N ^o ₃	N ^o ₄	N ^o ₅
A	<i>Gobio obtusirostris</i>	EU131554	EU131557	EU131558		
C	<i>Gobio spi</i>	EU131564	EU131565	EU131563		
D	<i>Gobio gobio</i>	EU131542	EU131544	EU131543	EU131545	EU131546
E	<i>Gobi skadarensis</i>	EU131568	EU131569	EU131567		
F	<i>Gobio carpathicus</i>	EU131561	EU131552	EU131560	EU131559	
G	<i>Gobio ohridanus</i>	EU131572	EU131571	EU131573	EU131570	
H	<i>Gobio insuyanus</i>	EU131576	EU131574	EU131578	EU131580	EU131579

2. táblázat • A NETWORK-analízisben felhasznált rokon *Gobio* fajok haplocsoport-kódjai (lásd 1. ábra), tudományos nevei és haplotípusainak GenBank kódjai.

ban EU131559-es kódszámmal szereplő *Gobio carpathicus* haplotípussal. A többi tiszai vízgyűjtőről származó minta a Jan Mendel és munkatársai (2008) munkájában említett, de önálló fajként le nem írt *Gobio spi* haplotípusaival mutattak nagy hasonlóságot.

Az egymástól csak néhány mutációban különböző haplotípusokból csoportokat képeztünk (ezeket az 1. ábrán bekereteztük és betűkódokkal jelöltük). A csoportok elválasztását varianciaanalízissel teszteltük (AMOVA) (Excoffier et al., 1992). Eredményeink azt mutatják, hogy az összes haplocsoport szignifikánsan elkülönül egymástól. Ugyanakkor a csoportok különbségei nem jelentősek. A legnagyobb különbséget mutató *G. obtusirostris* („A” haplocsoport) és *G. insuyanus* („H” haplocsoport, 3. táblázat) között is körülbelül 5%-nyi báziseltérés mutatható ki. Ilyen kis mértékű genetikai eltérések más fajok esetében (példéul: pénzes pér, kövi csík) csak alfaji elkülönítést igazoltak (Marić et al., 2012; Šedivá et al., 2008), így a kapott eredményeink megkérdőjelezzik a közép-európai küllőfélék (*Gobio* genus) faji szintű elkülönítésének jogosságát is.

Vizsgálataink eredményei rámutatnak, hogy a Kárpát-medence belső területein élő pataklakó küllőfélék igen jelentős genetikai sokféleséget mutatnak. Amellett, hogy három már leírt küllőfaj haplotípusait jeleztük a területről (*G. gobio*, *G. carpathicus*, *G. obtusirostris*), ezek mellett két elkülönülő rejtett taxonómiai egységet is ki tudtunk mutatni a tiszai vízgyűjtőről, illetve a közép- és dél-dunántúli régiókból, ahol ezek voltak a dominánsak. Vizsgálatainkkal tehát egy ma is zajló természetes fajképződési folyamat pillanatképét tudtuk rögzíteni, amelyet még kevésbé befolyásoltak az emberi hatások (véletlen áttelepítések). A konzervációbiológia és természetvédelem fő feladata, hogy ezt az emberi léptékkal mérve igen hosszú idő alatt kialakult genetikai mintázatot az élőhelyek védelmével óvja meg, illetve a szándékos vagy véletlen áttelepítések megakadályozásával fenntartsa ezeknek az így kimutatott rejtett (*kriptikus*) taxonómiai egységeknek a genetikai izolációját.

Kulcsszavak: *kriptikus fajok, molekuláris taxonómia, konzervációbiológia, mitokondriális haplotípusok*

	A	B	C	D	E	F	G	H
	<i>G. obtusirostris</i>	<i>G. ?</i>	<i>G. sp1</i>	<i>G. gobio</i>	<i>G. skadarensis</i>	<i>G. carpaticus</i>	<i>G. obriidanus</i>	<i>G. insuynanus</i>
A 5	<i>G. obtusirostris</i>	0,693**	0,743**	0,870**	0,830*	0,768**	0,825**	0,913**
B 9	<i>G. ?</i>	1,31±0,31	0,732**	0,862**	0,632**	0,795**	0,859**	0,928**
C 7	<i>G. sp1</i>	1,98±0,18	0,34±0,15	0,796**	0,744**	0,739**	0,816**	0,898**
D 6	<i>G. gobio</i>	3,35±0,26	1,99±0,21	0,26±0,14	0,852*	0,863**	0,877**	0,927**
E 3	<i>G. skadarensis</i>	2,45±0,28	1,50±0,21	2,06±0,14	0,20±0,09	0,737*	0,749*	0,920*
F 5	<i>G. carpaticus</i>	1,97±0,14	1,74±0,14	2,80±0,14	1,29±0,17	0,31±0,17	0,808**	0,913**
G 4	<i>G. obriidanus</i>	2,8±0,28	2,77±0,21	3,27±0,14	1,38±0,17	2,24±0,17	0,51±0,08	0,877**
H 5	<i>G. insuynanus</i>	5,09±0,31	4,35±0,26	4,66±0,20	3,81±0,23	4,42±0,21	3,48±0,21	0,40±0,20

3. táblázat • Az egyes haplocsoportok genetikai különbségei . A–H: az egyes, az *I. ábrán* szereplő haplocsoportok kódjai, N: az egyes haplocsoportokba sorolt haplotípusok száma. Átló (félkövér): csoporton belüli %-os eltérések (átlag±szórás); átló alatt: haplocsoportok közötti %-os különbségek (átlag±szórás); átló fölött: a páronkénti AMOVA eredményei (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, szignifikáns különbségek)

IRODALOM

- Bănărescu, Petre M. – Soric, V. M. – Economidis, P. S. (1999): *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758). In: Bănărescu, Petre M. (ed.): *The Freshwater Fishes of Europe*. Vol. 5/I. Cyprinidae 2. Part 1. *Rhodeus to Capoeta*. AULA, Wiebelsheim, 81–134.
- Bandelt, Hans-Jürgen – Forster, P. – Röhl, A. (1999): Median-joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* **16**, 37–48. • <http://mbe.oxfordjournals.org/content/16/1/37.full.pdf>
- Dudgeon, David – Arthington, A. H. – Gessner, M. O. – Kawabata, Z. I. – Knowler, D. J. et al., (2006): Freshwater Biodiversity: Importance, Threats, Status and Conservation Challenges. *Biological Reviews*. **81**, 163–182. DOI: 10.1017/S1464793105006950
- Erős Tibor (2007): Partitioning the Diversity of Riverine Fish: The Roles of Habitat Types and Non-native Species. *Freshwater Biology*. **52**, 1400–1415. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2007.01777.x
- Excoffier, Laurent – Smouse, E. P. – Quattro, M. J. (1992): Analysis of Molecular Variance Inferred from Metric Distance among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics*. **131**, 479–491. • <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1205020/pdf/ger1312479.pdf>
- Gábris Gyula – Mari László (2007): A Zala-folyó lefejezése. *Földrajzi Értesítő*. **56**, 1–2, 39–50. • http://www.mtafki.hu/konyvtar/kiadv/FE2007/FE20071-2_39-50.pdf
- Kottelat, Maurice – Freyhof, Jörg (2007): *Handbook of European Freshwater Fishes*. Publications Kottelat, Cornol, Switzerland
- Marić, Saša – Kalamujić, B. – Snoj, A. – Bajec, S. S. (2012): Genetic Variation of European Grayling (*Thymallus thymallus*) Populations in the Western Balkans. *Hydrobiologia*. **691**, 225–37. DOI: 10.1007/s10750-012-1076-2 • <http://rd.springer.com/article/10.1007%2F10750-012-1076-2#page-2>
- Mayr, Ernst (1948): The Bearing of the New Systematics on Genetical Problems. The

Nature of Species. *Advances in Genetics*. 2, 205–237
Mendel, Jan – Lusk, S. – Vasil'eva, E. D. – Reshetnikov,
S. I. (2008): Molecular Phylogeny of the Genus
Gobio Cuvier, 1816 (Teleostei: Cyprinidae): and Its
Contribution to Taxonomy. *Molecular Phylogenetics
and Evolution*. 47, 1061–1075. DOI: 10.1016/j.
ympev.2008.03.005
Šedivá, Alina – Janko, K. – Šlechtová, V. – Vassilev, M.
(2008): Around or across the Carpathians: Coloniza-
tion Model of the Danube Basin Inferred from
Genetic Diversification of Stone Loach (*Barbatula*

barbatula): Populations. *Molecular Ecology*. 17,
1277–1292. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2007.03656.x
Takács Péter (2012): Morphometric Differentiation of
Gudgeon Species Inhabiting the Carpathian Basin.
*Annales de Limnologie – International Journal of
Limnology*. 48, 53–61. DOI: 10.1051/limn/2011058 •
[http://journals.cambridge.org/download.php?file=
%2FANL%2FANL48_01%2FS0003408811000586a.
pdf&code=7d84a34380bebbc2559d97c60a9e146d](http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FANL%2FANL48_01%2FS0003408811000586a.pdf&code=7d84a34380bebbc2559d97c60a9e146d)
URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

