

KÉTÉLTŰEK MOLEKULÁRIS TAXONÓMIÁJA A KÁRPÁT-MEDENCÉBEN

Vörös Judit

PhD, főmuzeológus,
Magyar Természettudományi Múzeum
jvoros@nhmus.hu

A Kárpát-medence kétéltű- és hullófajait az elmúlt száz évben intenzíven vizsgálták a klasszikus taxonómia módszereit alkalmazva. Méhely Lajos (1862–1953) a két hazai unkafaj morfológiai jellemzését végezte el, miközben elsőként írta le a közöttük előforduló hibridizáció jelenségét. Később a magyarországi barna békák anatómiai jellegeiről, színezetéről, fontosabb ismertetőjegyeiről készített tanulmányt. Fejérváry Géza Gyula (1894–1932) a magyarországi békák lárváit rendszerezte. Dely Olivér György (1927–2003) pedig a teljes hazai kétéltűfauna határozókönyvét publikálta 1967-ben a *Magyarország Állatvilága (Fauna Hungariae)* sorozat egyik köteteként, majd részletesebben foglalkozott többek között a pettyes göte (*Lissotriton vulgaris*), az alpesi göte (*Ichthyosauna alpestris*), a mocsári béka (*Rana arvalis*) és a kecskebéka (*Pelophylax kl. esculentus*) taxonómiájával. Egyik legjelentősebb művében a hazai alpesigöte-állományok csonttani vizsgálatát mutatta be, amelyben leírta a faj négy új alfaját a Kárpát-medencéből (*Triturus alpestris carpathicus*, *T. a. satoriensis*, *T. a. bükkienensis* és *T. a. bakonyiensis*).

Az elmúlt két évtizedben bevezetett, első-sorban DNS-alapú modern taxonómiai

módszerek az európai kétéltűfajok molekuláris revízióját eredményezték, amelyek esetenként jelentősen átformálták a göte-, szalamandra- és békafajokról származó taxonómiai ismereteinket. Új fajok felfedezését eredményezte a genetikai változatosság feltérképezése, vagy éppen eddig változatosnak hitt csoportokon belüli taxonok összevonását végezték el. Így emelték faji rangra például a közönséges tarajosgöte (*Triturus cristatus*) alfajait (Bucci-Innocenti et al., 1983), aminek következtében a hazai götefajok száma is jelentősen megnőtt. Ennek köszönhető továbbá, hogy a *Triturus*-fajcsoport fajszáma háromról nyolcra növekedett (Wielstra et al., 2013).

A molekuláris technikák sokrétű felhasználása azt is eredményezte, hogy új megvilágításba került az egyes fajok elterjedéstörténete. Az elmúlt egymillió év klimatikus változásai nagyban alakították a fajok elterjedését. Az eljegesedési periódusokat a legtöbb Európában előforduló állatfaj mediterrán menedékterületen vészelte át, majd a felmelegedési periódusokban visszaterjedtek észak felé. Az elmúlt évtizedek kutatásai azonban bebizonyították azt, hogy a Kárpát-medence is fontos szerepet játszott az európai fauna elterjedés-

történetében, mivel extra-mediterrán menedékterületként szolgált a populációk számára (Schmitt – Varga, 2012).

A széles európai elterjedésű pettyes göte (*Lisotriton vulgaris*) filogeográfiai elemzése kimutatta, hogy a faj számos menedékterületet foglalt el az eljegesedések alatt, többek között az Appennini-félszigeten, a Balkán-félszigeten, Anatóliában és a Kaukázusban, Dél-Romániában és a Kárpát-medence délnyugati részén. A pettyesgöte-populációk eltérő genetikai vonalat képviselnek hazánk keleti és nyugati részén (Babik et al., 2005). Jelentős genetikai változatosságot mutatnak a mocsári béka (*Rana arvalis*) Kárpát-medencei populációi is, amelyből arra lehet következtetni, hogy a faj három kládusza nagy valószínűséggel itt vészelt át az utolsó eljegesedést (Babik et al., 2004).

A Kárpát-medence tehát biogeográfiai szempontból fontos régió, amit a hazánkban előforduló kételtűfajok genetikai változatossága is jól mutat. Kutatásaink célja volt, hogy molekuláris módszerekkel tovább vizsgáljuk a hazai kételtűállományok változatosságát, és további ismeretekkel szolgáljunk elterjedéstörténetükhöz. Három példán keresztül szeretnénk bemutatni a hazai kételtűeken végzett molekuláris taxonómiai és filogeográfiai kutatásokat.

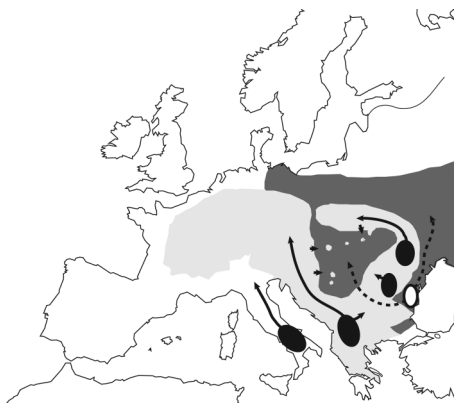
A vöröshasú unka (Bombina bombina) és a sárgahasú unka (Bombina variegata) elterjedéstörténete a Kárpát-medencében

A két európai unka faj már több évtizede az evolúcióbíológiai kutatások élő laboratóriuma. A hegyvidéki sárgahasú unka és a síkvidéki vöröshasú unka elterjedése Közép-Európában egy több ezer kilométeres szakaszon összeér, amely találkozási sávban a két faj hibridizálnát alkot. Az évtizedes kutatásokból kiderült,

hogy a *B. bombina* a Fekete-tenger mentén vészelt át az eljegesedéseket. A *B. variegata* fajon belül igen magas genetikai változatosság tapasztalható, amely a kláduszok pleisztocén előtti szétválását sugallja. Az egyik pleisztocén-kori menedékterület az Appennini-félszigeten volt, ahonnan a populációk észak felé csak az Alpok határáig jutottak. Egy másik genetikai vonalat képvisel az a kládusz, amely a Balkán-félszigetről terjedt vissza Nyugat-Európa felé. A harmadik kládusz pedig több menedékterületen vészelt át a hideget a Déli- és a Délnyugati-Kárpátokban (Pabijan et al., 2013).

A sárgahasú unka Magyarországon izoláltan fordul elő a középhegységeinkben, amely populációkat a hegylábaknál a vöröshasú unka vált fel. Kutatásunkban szeretnénk volna megtudni, hogy a hazai sárgahasú unka-állományok milyen genetikai változatosságot mutatnak, és hogy az elszigetelt középhegységi állományok melyik genetikai vonalhoz tartoznak. Szerettünk volna továbbá megállapítani, hogy melyik területeken hibridizálódik egymással a két faj. Ehhez összesen 119 egyedből gyűjtöttünk szövetmintát, amelyekből a DNS kinyerése után két mitokondriális génszakaszt vizsgáltunk (ND4 és COI).

Az eredmények azt mutatták, hogy a dunántúli *B. variegata* minták (Őrség, Bakony, Mecsek) genetikailag a nyugati, Alpokból származó kláduszhoz tartoznak, míg az Északi-középhegységéből gyűjtött minták (Mátra, Zemplén) a keleti, kárpáti kláduszból szakadtak le. Ez alapján a Kárpát-medencét a sárgahasú unka két irányból, az Alpok és a Kárpátok felől népesítették be (*i. abra*). A *B. bombina*-populációk alacsony változatosságot mutattak a síkvidéki Kárpát-medencei területeken. Hibridizációt tapasztaltunk az Őrség kivételével az összes elszigetelt *B. variegata*



i. ábra • A két uncafaj elterjedése, jégkorszaki menedékterületei és pleisztocén utáni rekolonizációs útvonalai: sötétszürke = *B. bombina* elterjedése, világosszürke = *B. v. variegata* törzsalak elterjedése

perempopulációjában. Ebből arra lehet következtetni, hogy a déli menedékterületről a Duna-mentén visszaterjedő *B. bombina* állományok szerepet játszottak a *B. variegata* állományok elszigetelődésében (Vörös et al., 2006).

A tarajos götétek (Triturus fajcsoport) molekuláris taxonómiája

Korábbi taxonómiai vizsgálatok megállapították, hogy Magyarországon három tarajosgőtefaj fordul elő. Ezek a közönséges tarajosgőte (*Triturus cristatus*) az Északi-Középhegységben, dunai tarajosgőte (*Triturus dobrogicus*) a síkvidékeken, és az alpesi tarajosgőte (*Triturus carnifex*) a nyugati határvidéken. A *T. cristatus* és *T. dobrogicus* fajok elkülönítése a morfológia alapján problémás, amit még az is nehezít, hogy az elterjedésük határán keverednek egymással. Kutatásunkban molekuláris taxonómiai módszereket alkalmazva szerettük volna pontosítani a három faj elő-

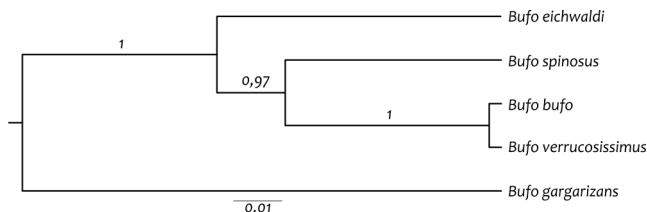
fordulását Magyarországon, különös tekintettel a *T. cristatus* – *T. dobrogicus* fajokra.

Összesen 140 tarajosgőte-példányt mintáztunk Magyarorszag területéről (25 *T. carnifex* és 115 *T. dobrogicus*/*T. cristatus*), majd a mitokondriális ND2-szakaszt és hét mikroszatellita lókuszt vizsgáltunk a laboratóriumban. Eredményeink azt mutatták, hogy hazánk legnagyobb területén a *T. dobrogicus* faj fordul elő, míg a *T. cristatus* csak *cristatus/dobrogicus*-hibrid példányok formájában van jelen az Aggteleki-karszt területén. A nyugati peremvidékről származó *T. carnifex* populációk élesen elkülönültek a többi állománytól a filogenetikai fán (Vörös – Major, 2007).

Munkánk következő lépcsőjében negyven fehérje lókuszt vizsgáltunk a *T. dobrogicus* fajon, hiszen ennek a fajnak az elterjedéstörténete még nem volt pontosan ismert. Összesen 140 egyedet mintáztunk 16 populációból, a Bécsi-medencétől a Duna alsó szakaszáig. A populációgenetikai vizsgálatok magas allélváltozatosságot és jelentős génáramlást mutattak a három nagyobb folyó (Duna, Tisza, Száva) mentén, amelyekhez a faj előfordulása kötődik. A legmagasabb genetikai diverzitást a Száva-menti populációk mutatták, amely arra utal, hogy ezen a területen lehetett a faj egyik menedékterülete az utolsó eljegesedés során (Vörös – Arntzen, 2010).

A barna varangy (Bufo bufo) filogeográfiája

Néhány évvel ezelőttig a *Bufo* volt az egyik legfajgazdagabb kétéltű génusz, amely 283 ismert békafajt számlált. Darrell L. Frost és munkatársai (2006) azonban csonttani, morfológiai és genetikai vizsgálatokon alapulva több génuszra darabolták szét. A *Bufo* génuszban maradt keleti és nyugati fajok is jelentős genetikai különbséget mutattak. Vizsgálásunkban a molekuláris taxonómia módszerei-



2. ábra • A *Bufo bufo* fajcsoport leszármazási kapcsolatait bemutató filogenetikai fa

vel kutattuk a *Bufo bufo* fajcsoport nyugati tagjainak (*Bufo bufo*, *Bufo eichwaldi*, *B. verrucosissimus*) leszármazási viszonyait. A három faj közül az eurázsiai elterjedésű *Bufo bufo* hazánkban is gyakori a sík- és dombvidékeken egyaránt. A *Bufo bufo* fajnak eddig három alfaját írták le: *B. b. bufo*, *B. spinosus* és *B. b. gredosicola*. Vizsgálatunkban a *B. bufo* törzsalak és a *B. spinosus* alfaj leszármazási viszonyaira és kontaktzónájára összpontosítottunk.

A három faj összesen 232 egyedét mintáztuk, lefedve Európát, Észak-Afrikát, de gyűjtöttünk szövetmintát Anatóliától egészen a Kaukázusig. Két mitokondriális génszakaszt (16S és citokrom-b) és négy nukleáris gént (POMC, CXCR4, BDNF, RPL3) szekvenáltunk. Külsoportként egy közelrokon, a keleti fajcsoportból származó faj (*B. gargarizans*) szekvenciáját használtuk fel.

A filogenetikai rekonstrukció azt mutatta, hogy a *B. eichwaldi* testvértaxonja egy kládusznak, amely tartalmazza a *B. b. spinosus* alfajt, és egy másik kládusznak, amely tartalmazza a *B. b. bufo* törzsalak és a közelrokon *B. verru-*

cosissimus mintákat (2. ábra). Ezek alapján a törzsalak *B. b. bufo* és az Észak-Afrikában, az Ibériai-félszigeten és Franciaország nyugati felén előforduló *B. b. spinosus* génállományukban olyan jelentősen különböznek, hogy önálló faji rangra érdemesek. A filogeográfiai rekonstrukció és a molekuláris óra alapján a *B. bufo* és *B. spinosus* kláduszoktat nagyjából kilencmillió évvel ezelőtt, a korai Pireneusok kiemelkedése izolálta el egymástól, amely időszaktól számítható a két faj önálló evolúciós története (Recuero et al., 2012).

A Kárpát-medence további kétélűfajainak filogeográfiai feldolgozása folyamatban van. Jelenlegi kutatásaink a foltos szalamandra (*Salamandra salamandra*) és az alpesi götte (*Ichthyosaura alpestris*) molekuláris taxonómiáját és elterjedéstörténetét vizsgálják.

Kulcsszavak: *filogeográfia*, *mitokondriális DNS*, *nukleáris DNS*, *mikroszatellitek*, *sárgahasú unka*, *vöröshasú unka*, *alpesi tarajosgötte*, *dunai tarajosgötte*, *közönséges tarajosgötte*, *barna varangy*

IRODALOM

Babik, Wieslav – Branicki, W. – Crnobrnja-ISAILOVIĆ, J. et al. (2005): Phylogeography of Two European Newt Species – Discordance between mtDNA and Morphology. *Molecular Ecology*, 14, 2475–2491. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2005.02605.x
 Babik, Wieslav – Branicki, W. – Sandera, M. et al. (2004): Mitochondrial Phylogeography of the Moor Frog, *Rana arvalis*. *Molecular Ecology*, 13, 1469–1480.

DOI: 10.1111/j.1365-294X.2004.02157.x
 Bucci-Innocenti, Stefania – Raggi, M. – Mancino, G. (1983): Investigations of Kariology and Hybrids in *Triturus boscai* and *T. vittatus*, with a Reinterpretation of the Species Groups within *Triturus* (Caudata: Salamandridae). *Copeia*, 3, 585–598.
 Dely Olivér Gy. (1967): *Kétlélűek – Amphibia – Magyarország Állatvilága (Fauna Hungariae)*, 20, 3. Akadémiai, Budapest

- Frost, Darrell R. – Grant, T. – Faivovich, J. et al. (2006): The Amphibian Tree of Life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 297, 1–370. • https://www.google.com/url?sa=t&ct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CDkQFjAB&url=http%3A%2F%2Fdigitallibrary.amnh.org%2Fdspace%2Fbitstream%2Fhandle%2F2246%2F5781%2FB297.pdf%3Fsequence%3D1&ei=-SQSU9uFEMKJyAPuuYHYDQ&usg=AFQjCNE3JrVI5323-BBIZnqNz7cDio-NxA&sig2=S8gvyk42-9TxqlRdcj_UPg
- Pabijan, Maciej – Wandicz, A. – Hofman, S. et al. (2013): Complete Mitochondrial Genomes Resolve the Phylogenetic Relationships within *Bombina* (Anura: Bombinatoridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 69, 63–74. DOI: 10.1016/j.ympev.2013.05.007 • [https://www.google.com/url?sa=t&ct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CDUQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Fpublication%2F236938846_Complete_mitochondrial_genomes_resolve_phylogenetic_relationships_within_Bombina_\(Anura_Bombinatoridae\)%2Ffile%2F9c96051c8aa3f861a5.pdf&ei=oP8SU-DMJ8PRywOLiYHCQ&usg=AFQjCNHLpmfgRl05_iHy3pGqK4ScXOog&sig2=imjyBpCVqOfq_8tkXBpVyw](https://www.google.com/url?sa=t&ct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CDUQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Fpublication%2F236938846_Complete_mitochondrial_genomes_resolve_phylogenetic_relationships_within_Bombina_(Anura_Bombinatoridae)%2Ffile%2F9c96051c8aa3f861a5.pdf&ei=oP8SU-DMJ8PRywOLiYHCQ&usg=AFQjCNHLpmfgRl05_iHy3pGqK4ScXOog&sig2=imjyBpCVqOfq_8tkXBpVyw)
- Recuero, Ernesto – Canestrelli, D. – Vörös J. et al. (2012): Multilocus Species Tree Analyses Resolve the Radiation of the Widespread *Bufo Bufo* Species Group (Anura: Bufonidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 62, 71–86. DOI: 10.1016/j.ympev.2011.09.008
- Schmitt, Thomas – Varga Zoltán (2012): Extra-Mediterranean Refugia: The Rule and Not the Exception? *Frontiers in Zoology*. 9, 22. doi:10.1186/1742-9994-9-22 • <http://www.frontiersinzoology.com/content/pdf/1742-9994-9-22.pdf>
- Vörös Judit – Alcobendas, M. – Martínez-Solano, I. et al. (2006): Evolution of *Bombina bombina* and *Bombina variegata* (Anura: Discoglossidae) in the Carpathian Basin: A History of Repeated mt-DNA Introgression across Species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 38, 705–718. DOI: 10.1016/j.ympev.2005.08.010
- Vörös Judit – Arntzen, Jan W. (2010): Weak Population Structuring in the Danube Crested Newt, *Triturus dobrogicus*, Inferred from Allozymes. *Amphibia-Reptilia*. 31, 339–346. • https://www.researchgate.net/publication/233574302_Weak_population_structuring_in_the_Danube_crested_newt_Triturus_dobrogicus_inferred_from_allozymes
- Vörös Judit – Major Ágnes (2007): Kétéltű-populációk földrajzi szerkezete a Kárpát-medencében. In: Forró László (szerk.): *A Kárpát-medence állatvilágának kialakulása*. Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest
- Wielstra, Ben – Litvinchuk, S. N. – Naumov, B. et al. (2013): A Revised Taxonomy of Crested Newts in the *Triturus karelinii* Group (Amphibia: Caudata: Salamandridae), with the Description of a New Species. *Zootaxa*. 3682, 441–453. • <http://biotaxa.org/Zootaxa/article/view/zootaxa.3682.3.5>

