



## A fenékjáró küllő (*Gobio* sp.) néhány romániai állományának filogenetikai vizsgálata

### Phylogenetic features of some Romanian gudgeon (*Gobio* sp.) stocks

Takács P.<sup>1</sup>, Ferincz Á.<sup>2</sup>, Imecs I.<sup>3</sup>, Kovács B.<sup>2</sup>, Nagy A. A.<sup>4,5</sup>, Ihász K.<sup>2</sup>, Vitál Z.<sup>1</sup>, Csoma E.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Ökológiai Kutatóközpont, Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany

<sup>2</sup> Szent István Egyetem, Halgazdálkodási Tanszék, Gödöllő

<sup>3</sup> ACCENT GeoÖkológiai Szervezet, Tusnádfürdő

<sup>4</sup> Milvus Csoport Madártani és Természetvédelmi Egyesület, Marosvásárhely

<sup>5</sup> Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Biol. és Geol. Kar, Magyar Biol. és Ökol. Int., Kolozsvár

<sup>6</sup> Debreceni Egyetem, ÁOK, Orvosi Mikrobiológiai Intézet, Debrecen

**Kulcsszavak:** fenékjáró küllő, délkeleti Kárpátok, tiszai vízgyűjtő, speciáció

**Keywords:** common gudgeon complex, Southeast Carpathians, Tisza drainage, speciation

#### Abstract

In this work we present the results of phylogenetic studies made on stream dwelling gudgeons (*Gobio* sp.) collected from eleven Southeast Carpathian watercourses. Despite the relatively limited geographic range of the studied area, the mtCR sequenations resulted altogether nine haplotypes. Which were classified into two valid species and a haplogroup with doubtful phylogenetic and taxonomic position. The Danubian gudgeon (*G. obtusirostris*) was indicated only from the direct Danubian inflows, from Nera /Néra/ and Krassó/Caras/ rivers. Common gudgeon (*G. gobio*) was found in the River Argyas /Argeş/, which also flows into the Danube but originates on the outer, southern Carpathian slopes. The new, currently doubtful haplogroup of „*Gobio* sp. 1” is occurring widely in the sampled area: Sebes-Körös /Crişul Repede/, Fehér-Körös /Crişul Alb/, Béga /Bega/, Temes /Timiş/, Berzava /Bârzava/, Sztrigy /Strei/, Kis-Küküllő /Târnava Mică/, and Olt rivers. This taxonomically doubtful group (“cryptic species”) indicated only from the Middle Tisza drainage previously. Our present study revealed, that the *G. gobio* appears from the lower Danubian watershed as well. Therefore this area can't be excluded from its range. Additionally the „*Gobio* sp. 1”, this slightly differentiated but phylogenetically distinct entity is the solely occurring *Gobio* taxa on the middle and lower Tisza basin. To clarify the taxonomic position of this group additional (e.g. morphological) investigations will be needed.

#### Bevezetés

Az utóbbi évtizedekben egyre szélesebb körben alkalmazott molekuláris módszerek jelentős segítséget nyújthatnak olyan csoportok taxonómiai és filogenetikai helyzetének tisztázásában melyek esetében a hagyományos, morfológiai (fenotípus alapú) módszerekkel végzett elemzések nem igazán voltak sikeresek (Kotlík et al. 2004, Sediva et al. 2008). Számos vizsgálat történt már a fenékjáró küllő *Gobio gobio* [Linnaeus 1758] állományain is (Naseka & Freyhof 2002, Mendel et al. 2008, Takács et al. 2014, Zangl et al. 2019). Ugyanakkor e fajcsoport taxonómiai és filogenetikai viszonyai, különösen a Kárpát-medencében élő állományok esetében még korántsem mondhatók feltártnak (Takács 2018). Az első genetikai vizsgálatok, a hagyományos taxonómiai módszerekkel elvégzett vizsgálatok eredményeihez hasonlóan (Bănărescu et al. 1999), a fajkomplex nagymértékű változatosságára mutattak rá. Ugyanakkor a tapasztalt, általában kismértékű különbségek ellenére számos alfajt faji szintre emeltek. Emiatt a *Gobio gobio* elterjedési területéből kivették a Közép- és Al-Dunai vízrendszert. Ezekről a területekről az ezidáig alfaji szinten kezelt dunai (*G. g. obtusirostris* Valenciennes 1842) és kárpáti küllőt (*G. g. carpathicus* Vladkov 1925) emelték faji szintre (Kottelat & Freyhof 2007). Az újabb vizsgálatok eredményei szerint azonban a terület vízrendszerében nem csak valid fajok, hanem

bizonytalan filogenetikai és taxonómiai helyzetű csoportok is előfordulnak. A közép-tiszai vízrendszerben egy a dunai küllő és a *G. gobio* között átmeneti helyzetet elfoglaló haplocsoport („*Gobio* sp. 1”) tekinthető dominánsnak (Mendel et al. 2008, Takács et al. 2014). A Mura–Dráva-rendszerben egy a dunai küllőhöz hasonló, de attól elkülönülő „délnyugati haplocsoport” a domináns, amely a filogenetikai elemzések tanulsága szerint átmeneti helyzetet foglal el a dunai küllő és a „*G. sp. 1*” között (Takács et al. 2014, Zangl et al. 2019). A genetikai kutatások eredményei arra is utalnak, hogy a vizsgálatok térléptékének csökkentésével, illetve új, eddig nem vizsgált vízgyűjtők küllőállományainak genetikai vizsgálatával nyert új információk nagyban segíthetik a területen élő küllőállományok filogenetikai viszonyainak megismerését.

A Kárpát-medence déli területeinek vízrajzi adottságait figyelembe véve feltételezhető, hogy a Mura–Dráva-vízrendszer és a közép-tiszai vízgyűjtő közé ékelődő, filogenetikai szempontból eddig nem vizsgált alsó-tiszai vízrendszerben egy eddig ismeretlen, de filogenetikailag a két vízrendszerben honos haplocsoportok közé eső küllő csoportot tudunk kimutatni. Feltételezésünket alátámasztja, hogy a fenékjáró küllő harmadik Kárpát-medencei alfaját /*G. g. muresius* Jászfalusi 1951/ éppen a Maros vízrendszeréből említik (Jászfalusi 1951).

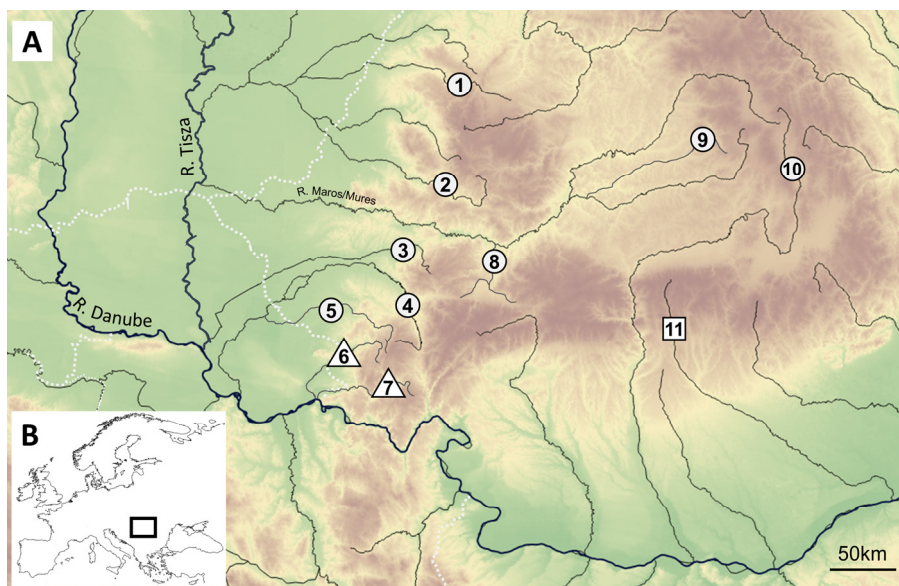
Ha feltételezésünk beigazolódik, akkor a dunai küllő és a „*G. sp. 1*” állományai filogenetikailag nem fognak élesen elválni egymástól. Így a számos, jelenleg érvényesnek tekintett faj helyett inkább egy kvázi genetikai kontinuum (folyamatos átmenet) lesz megfigyelhető az egyes szomszédos kárpát-medencei részvízgyűjtők küllőállományai között.

A fentieknek megfelelően jelen munkánkkal tehát 1) filogenetikai információkat szeretnénk szolgáltatni az ebből a szempontból még nem vizsgált alsó-tiszai vízrendszerből, illetve egyéb, a Kárpát-medence déli, délkeleti részén található vízfolyásokból származó fenékjáró küllő-állományokról. Ezenkívül 2) vizsgálati eredményeink felhasználásával pontosítani szeretnénk a Kárpát-medencében, különösen pedig a közép-tiszai vízgyűjtőn előforduló küllőállományok taxonómiai és filogenetikai helyzetét.

### Anyag és módszer

A genetikai vizsgálatokhoz a Kárpát-medence és a Kárpátok délkeleti részén található 11 vízfolyáson végeztünk gyűjtéseket. A vízfolyásokat úgy választottuk ki, hogy azok összessége jól reprezentálja a terület hidrogeográfiai viszonyait (Dövényi 2012). A vizsgált vízfolyások közül a legészakabbra fekvő **Sebes-Körös** egyike a Körös három fő ágának. Erdélyben, a kalotaszegi dombvidéken, Körösfő (Izvoru Crișului) település felett ered. Hossza 209 km, vízgyűjtő területe 2973 km<sup>2</sup>. A mintavételt Barátka (Bratca) település mellett végeztük (1. ábra: 1). A **Fehér-Körös** az Erdélyi-érchegységben ered, majd a Fekete-Körössel való egyesülése után Kettős-Körös néven folyik tovább. Teljes hossza 235,7 km, ebből a magyarországi szakasz hossza 9,8 km. A folyó felső szakaszán, Sövényes (Leasa) település mellett végeztük a felméréseket (1. ábra: 2). A Tisza legalsó bal oldali mellékfolyója a **Béga** a romániai Ruszka-havas nyugati oldalán ered. A Bánságon keresztülfolyva a szerbiai Titel mellett ömlik a Tiszába. Hossza 254 km, vízgyűjtő területe 2878 km<sup>2</sup>. Erősen szabályozták, alsó szakasza ázott meder, illetve egyebek között a Temessel is több hajózható csatorna köti össze. A gyűjtést a folyó Facsád (Făget) alatti szakaszán végeztük el (1. ábra: 3). A **Temes** a Déli-Kárpátokhoz tartozó Krassó–Szörényi-érchegységben, Karánsebestől (Caransebeș) 20 km-re délre, Temesfő környékén ered. Keresztülfolyik a Bánságon és Pancsovánál (Pančevo) torkollik a Dunába. Hossza 359 km, ebből 241 km Romániában található. Vízgyűjtő területe 13085 km<sup>2</sup>. Zaguzsén (Zăguzeni) település mellett végeztük a halászatot (1. ábra: 4). A Temes egyik jelentős bal oldali mellékveze a **Berzava** a Nyugati Kárpátokban fekvő Bánáti-hegységben ered. Hossza 166 km, vízgyűjtő területének mérete 1190 km<sup>2</sup>. Gátalja (Gătaia) település mellett halásztunk (1. ábra: 5). A Szörényi-érchegységben, Stájerlakaninától néhány kilométerre eredő **Krassó** a Duna bal oldali mellékfolyója. Hossza 110 km, vízgyűjtő területe 1400 km<sup>2</sup>. Kákófalva (Grădinari) mellett halásztunk (1. ábra: 6). A **Néra** Romániában, a Déli-Kárpátokban lévő

Krassó-Szörényi-érchegységben ered, és a szerbiai Fehértemplom (Bela Crkva) mellett torkollik a Dunába. Hossza 126 km, ebből 27 km határfolyó, vízgyűjtő területe 1420 km<sup>2</sup>. A folyó Bozovics (Bozovici) és Nagylaposnok (Lăpușnicu Mare) település közötti szakaszán halásztunk (1. ábra: 7). A Hátszegi-medence vizeit összegyűjtő **Sztrigy** a Maros egyik jelentős bal oldali mellékfolyója, hossza 90 km. A folyóban Petrény (Petreni) község határában halásztunk (1. ábra: 8). A **Kis-Küküllő** a Görgényi-havasokban ered Romániában. Hossza 144 km, vízgyűjtő területe 2071 km<sup>2</sup>. A Nagy-Küküllővel egyesülve jön létre a Küküllő, ami 28 km után éri el Mihálcfalvánál (Mihalt) a Marost, amely a Tisza egyik legjelentősebb bal oldali mellékfolyója. Kibéd (Chibed) melletti mintahelyen végeztük a gyűjtéseket (1. ábra: 9). Az **Olt** az erdélyi Gyergyói-havasokban eredő, 24050 km<sup>2</sup> vízgyűjtő területű folyó. A Vöröstoronyi-szoroson keresztül tör át a Déli-Kárpáton, 615 km megtétele után Islaz alatt ömlik a Dunába. Az Olton lévő mintahelyünket Csíkszereda (Miercurea Ciuc) alatt jelöltük ki (1. ábra: 10).



1. ábra. A mintavételi pontok elhelyezkedése a Kárpát-medence délkeleti részén (A). Az azonos síkidomok azonos haplocsoportokat jelölnek. □: *G. gobio*, △: *G. obtusirostris*, ○: "*G. sp. 1*". A mintaterület elhelyezkedése Európában (B). A mintavételi helyek kódjait és egyéb adatait az 1. táblázatban tüntettük fel.

Fig. 1. Distribution of the 11 sample sites in the Southeast area of the Carpathian basin (A). White dotted line: country borders. The different shaped signs show the appearance of different haplogroups. □: *G. gobio*, △: *G. obtusirostris*, ○: "*G. sp. 1*". Location of the sampling area is indicated in subfigure B. For more information see Table 1.

A vizsgált vízfolyások közül egyedülként az **Argyas** található teljes egészében a Kárpát-medencén kívül.

Romániában a Fogarasi-havasok déli oldalán ered, majd a Géta-hátságán keresztül törve a Román-alföldön ömlik a Dunába. Hossza 350 km, vízgyűjtő területének mérete: 12600 km<sup>2</sup>. A vízfolyás Rotunda és Oești települések közötti szakaszán végeztünk mintavételt (1. ábra: 11).

A gyűjtéseket 2016 és 2018 őszén elektromos halászgéppel végeztük (engedélyszám: 08/21.03.2016 és 08/26.03.2018). Mintahelyenként 2–6, összeségében 56 darab, elszórta pettyezet úszókkal jellemezhető küllőgyedet gyűjtöttünk, melyeket fotózás (2. ábra) és az úszóból vett szövetmintavétel után a gyűjtési helyükön eresztettük szabadon. Az úszómintákat további felhasználásig 96%-os etil-alkoholban -20°C-on tároltuk.

A DNS izolálását 10–20 mg úszómintából DNeasy Blood and Tissue kitékkel (Qiagen, Germany), a gyártó utasítása szerint végeztük. A kivont DNS mennyiségét és minőségét

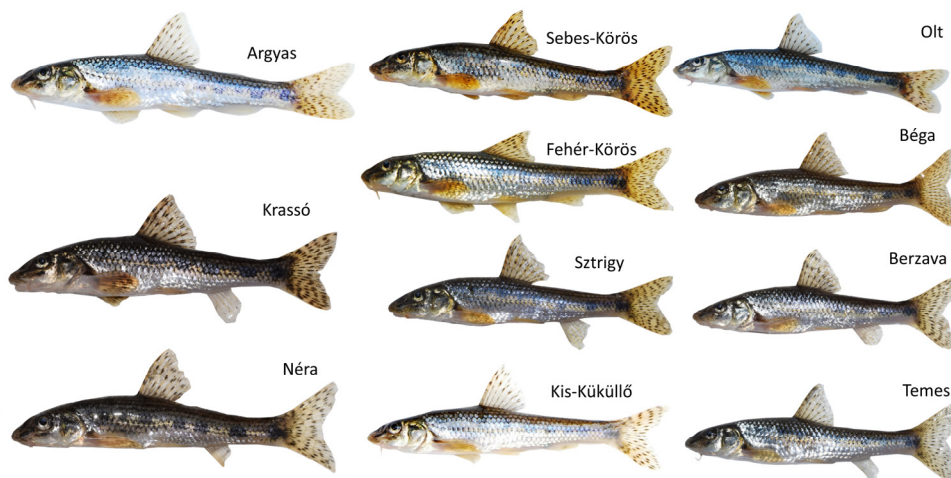
NanoDrop 2000c Spektrofotométerrel ellenőriztük (Thermo Scientific, USA). A filogenetikai vizsgálatokhoz a mitokondriális DNS kontrollrégiójának (mtCR) szakaszát használtuk fel. Az eredetileg 711b hosszú mtCR szekvenciákat CR159 (CCCAAAGCAAGTACTAACGTC) és CR851 (TGCGATGGCTAACTCATAC) oligonukleotidok (Mendel et al. 2008) segítségével PCR reakcióban felszaporítottuk. A PCR reakciókhoz az alábbi összetételű, 40 µl végső térfogatú mixet használtunk: 0.02 U/µL Phusion Hot Start II DNA Polymerase, 5X Phusion Green HF Buffer (Thermo Fisher Scientific), 200 µM dNTPs (Thermo Fisher Scientific), 500–500 nM primer és 200 ng templát DNS.

1. táblázat. A mintázott folyók sorszáma, magyar és román neve. A mintavétel időpontja, a mintaszakasz koordinátája, és tengerszint feletti magassága (Alt.) és a vizsgálatok során előkerült haplotípusok (H1-H9) egyedszámjai. A jelenvizsgálat során először kimutatott haplotípusokat félkövér betűtípussal emeltük ki. A helyek és haplotípusok kódjai megegyeznek az 1-2-3. ábrán használt kódokkal.

Table 1. Code, name of the sampled rivers, collection date, and geocoordinates, altitude above sea level (Alt.) and haplotype frequencies in each sampling sites. H1-H9 indicated haplotypes during this study. Site numbers and haplotype codes correspond with Fig 1-2-3. Previously unknown haplotypes are highlighted with bold letter type

N <sup>a</sup>	Vízfolyás neve / Water body	Dátum / Date	Geokoordináták / Coordinates	Tszf. (m)	Haplotípusok egyedszámjai (N) / N of haplotypes											
					H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	Σ		
1.	Sebes-Körös /Crişul Repede/	2016.09.06.	N46.933 E22.664	354		6										6
2.	Fehér-Körös /Crişul Alb/	2016.09.06.	N46.277 E22.535	209		2										2
3.	Béga /Bega/	2018.09.26.	N45.846 E22.131	139						4						4
4.	Temes /Timiş/	2018.09.25.	N45.478 E22.180	178					3	3						6
5.	Berzava /Bârzava/	2018.09.27.	N45.441 E21.454	109						6						6
6.	Krassó /Caraş/	2018.09.27.	N45.109 E21.581	102							4	1				5
7.	Néra /Nera/	2018.09.27.	N44.902 E21.988	235											5	5
8.	Sztrigy /Strei/	2018.09.28.	N45.786 E23.015	208			5									5
9.	Kis-Küküllő /Târnava Mică/	2016.09.09.	N46.539 E24.983	382			5	1								6
10.	Olt /Olt/	2016.09.09.	N46.319 E25.828	652		5	1									6
11.	Argyas /Argeş/	2016.09.07.	N45.268 E24.656	525	5											5
					Σ	5	13	11	1	3	13	4	1	5		56

A reakciókat egy GeneAmp 9700 PCR-rel (Applied Biosystems) végeztük el a következő beállításokkal: 98°C 1 percig, ezt követően 35 ciklusban 98°C-on 10 másodpercig, hibridizációt 60°C-on 30 másodpercig, hosszabbítást 72°C-on 25 másodpercig, a végső láncszaporítást 72°C-on 5 percig végeztük.



2. ábra. Az egyes mintázott folyószakaszokról begyűjtött küllők reprezentatív példányai  
Fig. 2. Representative gudgeon specimens collected from the eleven surveyed river sections

A PCR-termékeket QIAquick Gel Extraction Kit segítségével tisztítottuk. A szekvenáláshoz BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit-et használtunk, a gyártó ajánlásait követve, ProFlex Thermal Cyclerben. A szekvencialeolvasást ABIprism 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems) segítségével végeztük el, a gyártó ajánlásait követve POPO7 polimer és 50cm kapilláris felhasználásával. A kapott szekvenciákat manuálisan trimmeltük 612 b hosszúra FinchTV 1.4.0 (Geospiza) szoftverrel. A szekvenciák illesztéséhez a MEGA5 szoftverbe ClustalX 2.0.11 szoftver modulját alkalmaztuk (Larkin et al. 2007). A szekvencia polimorfizmus analízisét és a haplotípus elemzését FaBox szoftver használatával (Villesen 2007) végeztük el.

A kapott szekvenciákat Mega - BlastN online szoftver segítségével (Morgulis et al. 2008) génbanki szekvenciákkal hasonlítottuk össze. A jelen vizsgálat során kimutatott szekvenciáink taxonómiai és filogenetikai helyzetének tisztázására azokat a szomszédos régiókban előforduló Gobioninae-fajok, illetve még nem tisztázott helyzetű csoportok haplotípusaival vetettük össze. Az összevetéshez felhasznált génbanki szekvenciák kódjait a 2. táblázatban tüntettük fel.

Az egyes haplotípusok különbségeinek feltárásához MEGA5 (Tamura et al. 2011) programban számoltuk azok százalékos nukleotidkülönbségeit. Illetve egy halványfoltú küllő (*Romanogobio vladykovi* (Fang, 1943)) szekvenciáját (génbanki azonosító MK975878) külcsoporthként használva Maximum Likelihood módszerrel dendrogramot készítettünk. A median-joining algoritmus használatával az újonnan kimutatott és a génbanki szekvenciák felhasználásával Network v. 10.0.0.0 (Bandelt et al. 1999) szoftver segítségével hálózatelemzést is készítettünk. A hasonló haplotípusokat mindkét módszer esetében haplocsoportokba soroltuk.

2. táblázat. A statisztikai elemzéseknél (2. és 3. ábra) felhasznált génbanki haplotípusok kódjai  
Table 2. GenBank haplotypes used for the ML tree and Network computation. Numbers (No) of haplotypes correspond with the numbers displayed at each species/haplogroups in Figure 2 and 3

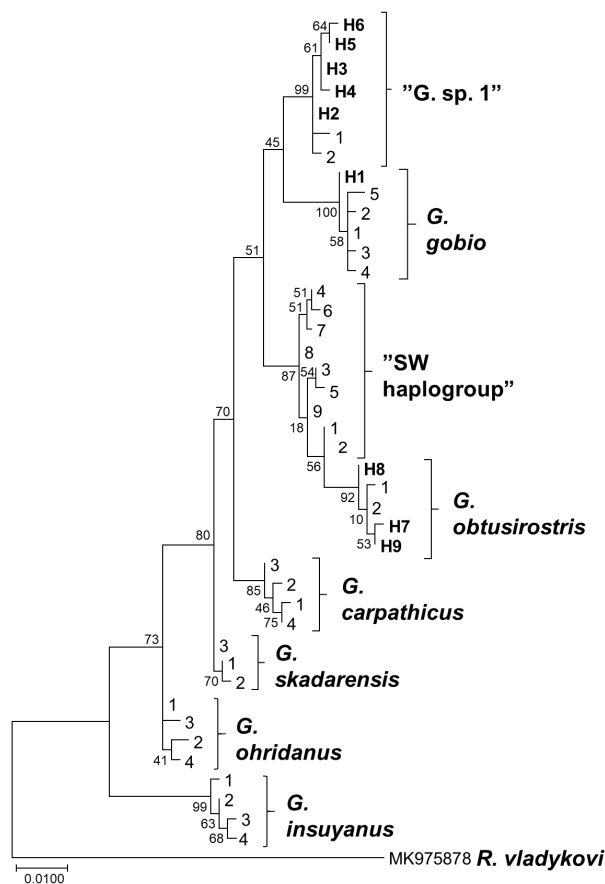
№	<i>Gobio obtusirostris</i>	"SW haplo-csoport"	" <i>Gobio</i> sp. 1"	<i>Gobio gobio</i>	<i>Gobio skadarensis</i>	<i>Gobio carpathicus</i>	<i>Gobio ohridanus</i>	<i>Gobio insuayanus</i>
	Valenciennes, 1842			(Linnaeus, 1758)	Karaman, 1937	Vladykov, 1925	Karaman, 1924	Ladiges, 1960
1	KC757328	KC757330	KC757340	EU131542	EU131568	EU131559	EU131572	EU131576
2	KC757329	KC757331	KC757342	EU131543	EU131569	EU131552	EU131570	EU131574
3		KC757332		EU131544	EU131567	EU131561	EU131571	EU131579
4		KC757333		EU131545		EU131560	EU131573	EU131580
5		KC757334		EU131546				
6		KC757335						
7		KC757336						
8		KC757337						
9		KC757338						

### Eredmények

A vizsgálatok során a kilenc egymástól eltérő DNS-szekvenciát (haplotípust) tudunk kimutatni. Az ezek közti nukleotidkülönbségek 1 és 20 (0,16-3,27%) között szórtak, átlagosan 10 nukleotidnyi (1,63%) különbséget mutattak. A kimutatott szekvenciák közül hét eddig nem szerepelt a Génbank adatbázisában. A H2 és H3 kódú szekvenciák a Blast analízis tanulsága szerint teljes egyezést mutattak a KC757339 és KC757341 kódú génbanki szekvenciákkal. A génbanki adatokkal való összevetés alapján elmondható, hogy a H1-es haplotípus a *G. gobio*, a H7-H9-es haplotípusok a *G. obtusirostris* szekvenciáival mutatják a legnagyobb hasonlóságot. A H2-H6 haplotípusok a filogenetikailag tisztázatlan helyzetű "*G. sp. 1*" csoport haplotípusaihoz állnak legközelebb (3. ábra).

Az egymáshoz hasonló haplotípusokat csoportokba rendeztük. Csoporton belüli hasonlóságok a *G. obtusirostris* csoport (H7-H9) esetében 0.2–0.3% között szórt (átlag±SD:

0.29±0.13%), míg a "G. sp. 1" (H2-H6) csoport esetében 0.2–0.5% között változott (átlag±SD: 0.22±0.09%). A *G. gobio* csoport esetében ezt az értéket nem tudtuk számolni, mert a csoportban csak egy haplotípus szerepelt. A *G. gobio* és *G. obtusirostris* csoportok közti nukleotid különbségek 3.1±0.16%-nak adódtak. A „G. sp. 1” csoport átlagosan 1,19(±0,19)%, és 2,4(±0,2)% eltérést mutatott a *G. gobio* és a *G. obtusirostris* csoportjaitól. Különböző haplocsoportokba sorolt haplotípusok nem jelentek meg ugyanazon a mintaszakaszon. Sőt a mintázott 11 szakasz közül nyolcban csak egy, míg a maradék háromban két haplotípus volt jelen. A haplocsoportok eloszlása jellegzetes földrajzi trendet mutat. A Dunába torkolló Nérából és Karasból a *G. obtusirostris*, a Kárpátok külső, déli oldalán eredő ugyancsak a Dunába torkolló Argyasból a *G. gobio* került elő. Ugyanakkor a Sebes- és Fehér-Körös, Olt, Sztrigy, Kis-Küküllő, Béga, Temes, Berzava vízfolyásokból kizárólag az eddig csak a Tisza középső vízrendszeréből ismert, de ott domináns, "G. sp. 1" csoport haplotípusait tudtuk kimutatni (4. ábra).

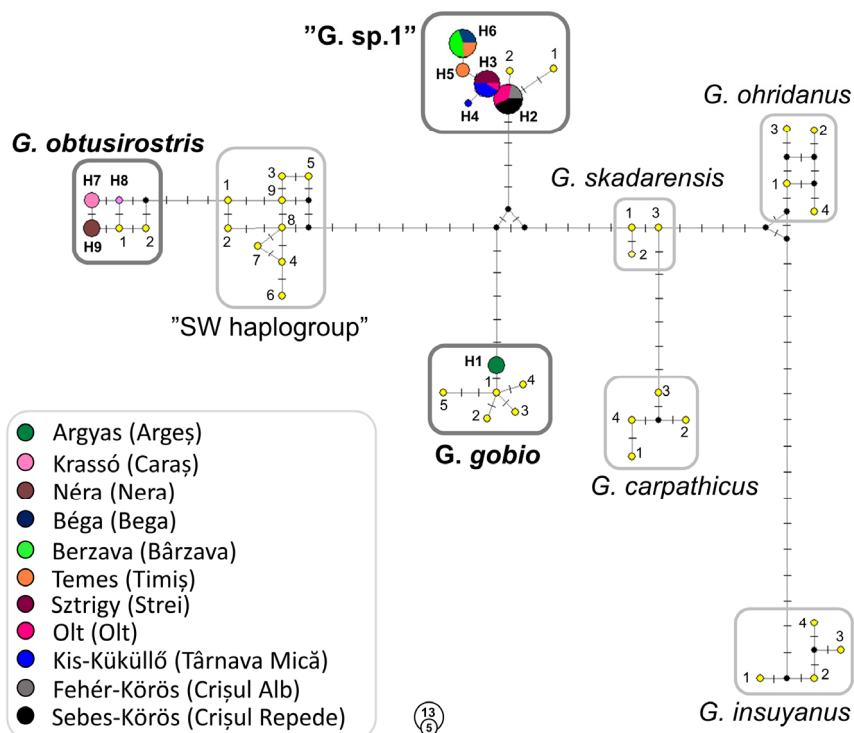


3. ábra. A vizsgálatok során előkerült 9 haplotípus és rokon fajok génbanki haplotípusainak Maximum Likelihood módszerével készített dendrogramja. Az egyes csoportszétválások bootstrap értékeit az elágazásokon tüntettük fel. A vizsgálatok során előkerült haplotípusok (H1-H9) mellett az elemzésbe bevont génbanki haplotípusok fajoként sorszámozott kódjait a 2. táblázatban tüntettük fel.

Fig. 3. Maximum Likelihood tree derived from mtCR sequences of the investigated 56 *Gobio* individuals and literature data. Bootstrap data values for ML posterior probabilities are listed near the nodes. The names of valid species are italicized, the name of the two groups with an uncertain taxonomic position is enclosed in quotation marks. Haplotypes revealed in this study are marked with their codes (H1-H9) for more details see Table 1. Haplotypes and higher taxonomic groups were highlighted by bold. GenBank accession numbers of the literature data in case of each species correspond with the numbers displayed on Table 2.

## Értékelés

A vizsgált terület relatíve kis kiterjedése (kb. 50000 km<sup>2</sup>), illetve a viszonylagosan alacsony elemzett mintaszám ellenére a két valid fajt és egy taxonómiailag kérdéses helyzetű csoportot tudtunk kimutatni. Az előkerült kilenc haplotípusból hét bizonyult újnak. Ez utóbbi eredmények arra utalnak, hogy a területen egyedi, értékes és diverz küllőállományok találhatóak, amelyek kimutatása önmagában is értékes adatokkal járult hozzá a genusz filogenetikájának megismeréséhez. A haplotípusok vízrajzi eloszlása is érdekes vonásokat mutat. Az egyetlen, de ezidáig ismeretlen *G. gobio* haplotípust az Argyas felső szakaszáról, annak dunai torkolatától kb. 300 km-re mutattuk ki. Ez az új, genetikai módszerrel is igazolt előfordulási adat, összhangban egyik előző munkánk megállapításaival (Takács et al. 2014), illetve ellentétben a jelenleg is elfogadottal (Freyhof 2011) arra utal, hogy mind a közép-, mind az al-dunai vízrendszer a *G. gobio* elterjedési területének részét képezi. Meg kell jegyezni azonban, hogy a szóban forgó területen nem ez az egyetlen és vélhetőleg nem is ez a domináns *Gobio*-faj.



4. ábra. A vizsgálataink során előkerült (H1-H9) és génbanki haplotípusok felhasználásával Median-Joining módszerrel készült hálózat. Egy-egy függőleges vonal egy-egy mutációs különbséget mutat. A haplocsoportok távolsága arányos azok genetikai távolságával. A kis fekete körök hiányzó vagy hipotetikus haplotípusokat jelölnek. A sárgával jelzett számozott körök a génbanki haplotípusokat jelzik. A génbanki azonosítottakat a 2. táblázatban soroltuk fel. Az egyes egyéb színnel jelölt haplotípusokat jelző körök mérete arányos az oda sorolt egyedek számával. A vizsgálatba bevont mintahelyek magyar és zárójelbe tett román neveit valamint színkódjait az ábrán tüntettük fel. A jelen vizsgálat során előkerült haplocsoportokat sötétszürke kerettel és félkörvér betűtípussal jelztük.

Fig. 4. Median-Joining network of mtCR sequence data of the investigated 56 *Gobio* individuals. Circle size is relative to the number of individuals carrying the same haplotype. Color codes shows the origin of the individuals sharing the same haplotypes. Line length refers to the genetic distances of haplotypes. Each vertical line is one mutation step. Small black circles represent median vectors (missing or theoretical haplotypes). H1-H9: Haplotypes of the 56 specimens analysed in this study. Previously published haplotypes are marked by yellow circles. Their numbers in each box correspond with the numbers displayed in Table 2. The names of valid species are italicized, the name of the two groups with an uncertain taxonomic position is enclosed in quotation marks.



A *G. obtusirostris* három ezidáig ismeretlen haplotípusa került elő a Nérából és a Krassóból. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a területen a dunai küllő is jelen van, de csak bizonyos, a Dunával közvetlen kapcsolatban lévő vizekben. Nem is mindegyikben, hiszen a szintén a Dunába ömlő Temesből és annak mellékfolyójából a Berzavából a közép-tiszai vízgyűjtőn domináns "*G. sp. 1*" csoportba sorolt haplotípusok kerültek elő. Természetesen az emberi hatásokat, a szándékos vagy véletlen telepítést nem lehet teljesen kizárni, de a tiszai vízgyűjtőre jellemző haplocsoport megjelenését véleményünk szerint inkább (paleo) hidrológiai okok magyarázhatják. A Bánság egészen a 19. század közepéig a Kárpát-medence időszakosan vagy állandóan vízzel borított területei közé tartozott, így a terület folyóinak alsó szakaszai szinte állandó kapcsolatban álltak egymással. A Temes jelenlegi dunai torkolata mesterségesen létrehozott csatorna, tehát teljes egészében emberi hatásra jött létre. Feltételezhető hogy a múltban erős kapcsolata volt a tiszai vízgyűjtővel. Illetve jelenleg a Bégát és a Temest az alsó és középső szakaszaikon több kisebb-nagyobb csatorna köti össze, melyeken keresztül a folyók küllőállományai kapcsolódhatnak és kicserélődhetnek. Ugyanakkor a Temes-Béga rendszer viszonylagos különállóságára utal, hogy ezekből a vízfolyásokból ezidáig ismeretlen "*G. sp. 1*" haplotípusok kerültek elő. A Maros vízgyűjtőjén lévő vízfolyásokban (Kis-Küküllő, Sztrigy) és a Körösökben viszont szinte kizárólag csak már leírt haplotípusok voltak jelen. Ezek a haplotípusok egyébként a leggyakoribbak voltak a közép-tiszai vízgyűjtőn végzett vizsgálataink során. Ekkor a vizsgált egyedek 82%-a ebbe a két haplotípusba tartozott (Takács et al. 2014). Érdekes módon, a Kárpátokon áttörő, a tiszai vízrendszerrel jelenleg teljesen különálló Olthól szintén az előbb felsorolt vizekre jellemző "*G. sp. 1*" haplocsoport került elő. Ezesetben sem lehet kizárni az emberi hatást (áttelepítést), de jóval valószínűbb az a magyarázat, hogy a folyónak a földtörténeti közelmúltban volt kapcsolata a Tiszai vízrendszerhez tartozó Marossal (Posea 2002), így a két folyó küllőállományai is kapcsolatban állhattak egymással. Az Olt és Maros egykori hidrológiai kapcsolatát igazolhatja, hogy a Petényi-márna (*Barbus petenyi* Heckel, 1852) mindkét folyó vízrendszerében előfordul (Kotlík et al. 2002).

Vizsgálataink eredményei szerint tehát a terület elszórtan pettyezett úszókkal és robosztusabb testalkattal jellemezhető küllőállományai nagymértékű genetikai diverzitást mutatnak. A tény, hogy a kimutatott kilenc haplotípusból hét újonnan került elő, igazolja azt az előzetes feltételezésünket, hogy az újabb feltáratlan területek küllőállományainak vizsgálata jelentősen növelheti a csoportról rendelkezésre álló ismereteinket. Ugyanakkor a területről előkerült új haplotípusok is a már ismert haplocsoportokba voltak besorolhatók. Ez az eredmény arra utal, hogy előzetes felvetésünkkel ellentétben a Kárpátok délkeleti vízrendszerében élő küllőállományok nem töltönek be átmeneti helyzetet a Mura-Dráva-rendszerből, illetve a közép-tiszai vízrendszerből kimutatott, filogenetikailag és taxonómiai is tisztázatlan helyzetű csoportok között. Tehát feltételezhetően nem genetikai kontinuum jellemzi a medence küllőállományait, hanem a területen genetikailag többé-kevésbé elkülönülő fajok élnek. Az egyes haplocsoportok elterjedéséből úgy tűnik, hogy a Közép- és Alsó-Tisza vízrendszerében, illetve az ahhoz a földtörténeti közelmúltban kapcsolódó vízfolyásokban egy a területről kimutatott valid fajoktól (*G. gobio*-tól és a *G. obtusirostris*-tól) körülbelül azonos mértékben elkülönülő, de filogenetikailag különálló – a hálózat egyik oldalán helyet foglaló – csoport van jelen. E csoport ("*G. sp. 1*") taxonómiai helyzetének tisztázására további (pl.: morfológiai) vizsgálatok lesznek szükségesek.

#### Köszönetnyilvánítás

Jelen munka az NKFIH OTKA FK131426 sz. pályázata keretében valósult meg. Csoma Esztert és Takács Pétert az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja, valamint az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-20-5 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programja támogatta. Kovács Balázs munkáját az Európai Unió és a Humán Erőforrások Minisztériumának EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 és FEKUT2019: TUDFO/47138/2019-ITM sz. pályázatai támogatták. Nagy András Attila munkáját a Collegium Talentum Program támogatta.



## Irodalom

- Bănărescu P. M., Soric V., Economidis P. (1999): *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) In P. Bănărescu (Ed.), *The Freshwater Fishes of Europe. Cyprinidae 2/1*: 81–134. Wiesbaden, Germany: Aula.
- Bandelt H. J., Forster P., Röhl A. (1999): Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37–48.
- Dövényi Z. (2012). *A Kárpát-medence földrajza*. Akadémiai Kiadó, Budapest, p. 1351.
- Freyhof J., Naseka A. M. (2005): *Gobio delyamurei*, a new gudgeon from Crimea, Ukraine (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 16/4: 331.
- Freyhof J. (2011): *Gobio gobio*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T184448A8277959. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-1.RLTS.T184448A8277959.en>. Downloaded on 11 May 2020.
- Jászfalusi L. (1951): Die endemischen Cobitis und *Gobio* Arten der Tisza, Sowie ihrer Nebenflüsse. *Annales Historico-Naturales Musei Naturalis Hungarici* 1:113–125
- Kottelat M., & Freyhof J. (2007): *Handbook of European freshwater fishes*. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany, p. 640.
- Kotlík P., Tsigonopoulos C. S., Rab P., & Berrebi P. (2002): Two new *Barbus* species from the Danube River basin, with redescription of *B. petenyi* (Teleostei: Cyprinidae). *Folia Zoologica* 51/3: 227–240.
- Kotlík P., Bogutskaya N. G., & Ekmekci F. G. (2004): Circum Black Sea phylogeography of *Barbus* freshwater fishes: divergence in the Pontic glacial refugium. *Molecular Ecology*, 13/1: 87–95.
- Mendel J., Lusk S., Vasiléva E. D., Vasilév V. P., Luskova V., Ekmekci F. G., Reshetnikov S. I. (2008): Molecular phylogeny of the genus *Gobio* Curvier, 1816 (Teleostei: Cyprinidae) and its contribution to taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47: 1061–1075.
- Morgulis A., Coulouris G., Raytselis Y., Madden T. L., Agarwala R. (2008): Database Indexing for Production MegaBLAST Searches. *Bioinformatics* 24: 1757–1764.
- Posea G. (2002): *Geomorfologia României*. Editura Fundației "România de Măine". București, Romania, p. 264.
- Šedivá A., Janko K., Šlechtová V., Kotlík P., Simonović P., Delic A., & Vassilev M. (2008): Around or across the Carpathians: colonization model of the Danube basin inferred from genetic diversification of stone loach (*Barbatula barbatula*) populations. *Molecular Ecology* 17/5: 1277–1292.
- Takács P., Bihari P., Erős T., Specziár A., Szivák I., Bíró P., Csoma E. (2014): Genetic heterogeneity reveals on-going speciation and cryptic taxonomic diversity of stream-dwelling gudgeons (Teleostei, Cyprinidae) in the Middle Danubian hydrosystem (Hungary). *PLoS ONE* 9, e97278. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097278>
- Takács P. (2018): Megjegyzések a Magyarországon előforduló, *Gobio* genusba tartozó küllők taxonómiai helyzetével és névhasználatával kapcsolatban. *Pisces Hungarici* 12: 63–66.
- Takács P., Czeglédi I., Ferincz Á., Sály P., Specziár A., Vitál Z., Weipert A., Erős T. (2018): Halállományok fajgazdagsága és a védett halfajok elterjedés-mintázata magyarországi vízfolyásokban. *Hidrológiai Közöny* 98: 86–90.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. (2011): MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28/10: 2731–2739.
- Villesen P. (2007): FaBox: an online toolbox for fasta sequences, *Molecular Ecology Notes* 7/6: 965–968. doi:10.1111/j.1471-8286.2007.01821.x
- Zangl L., Daill D., Gessl W., Friedrich T., Koblmüller S. (2020): Austrian gudgeons of the genus *Gobio* (Teleostei: Gobionidae): A mixture of divergent lineages. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 58/1: 327–340.

## Authors:

Péter TAKÁCS (takacs.peter@okologia.mta.hu), Árpád FERINCZ, István IMECS, Balázs KOVÁCS, András Attila NAGY, Katalin IHÁSZ, Zoltán VITÁL, Eszter CSOMA