



NAKVI Nemzeti Agrárszaktanácsadási,
Képzési és Vidékfejlesztési Intézet

Hungarian Journal of
Aquaculture
and Fisheries

HALÁSZAT

106. évfolyam | 1. szám 2013 tavasz

Alapítva: 1899



Molekuláris biológiai vizsgálatok alkalmazása és hasznosulása az ichthyológiában és a halkórtanban

3. oldal

Rotatória tömegtenyészet intenzív (zárt) rendszerekben

5. oldal

Alszik-e a menyhal nyáron?

10. oldal

A magyar és román határon átnyúló Maros és Körös folyókban élő rák populációk elterjedése

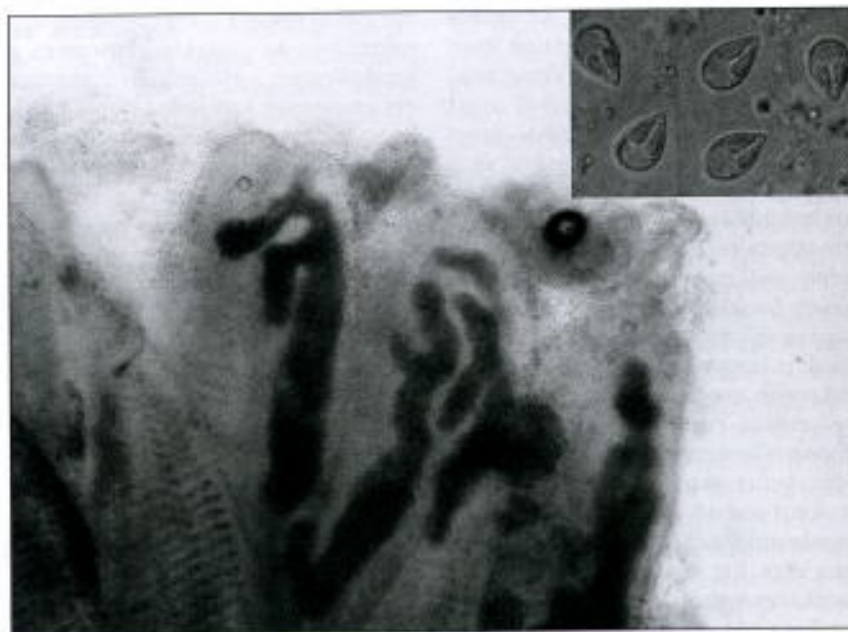
25. oldal

Molekuláris biológiai vizsgálatok alkalmazása és hasznosulása az ichthyológiában és a halkórtanban

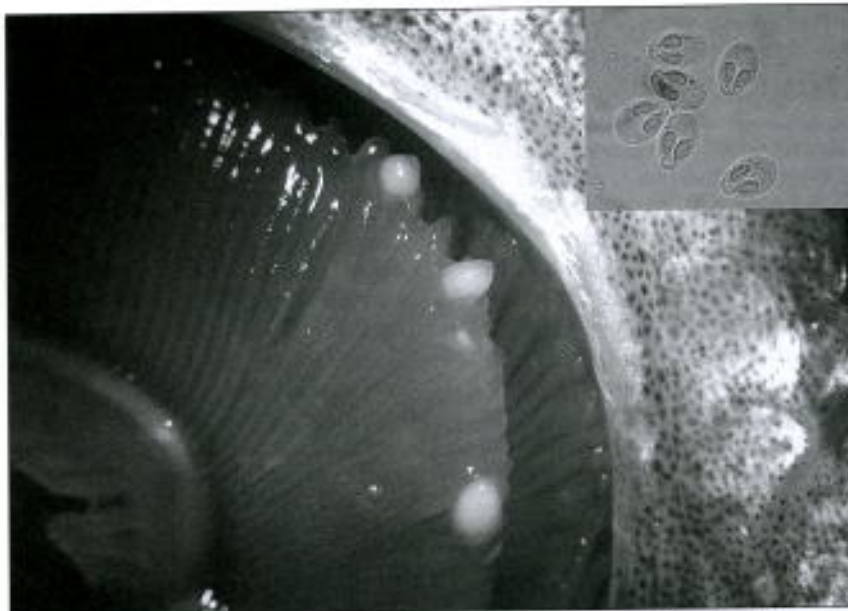
A molekuláris biológiai vizsgálatok alkalmazásának haszna és a módszer szükségessége ma már nem kétséges a technikát nem művelő laikusok számára is. A TV-ben vetített krimikben általánosan elfogadott, hogy egy minimális DNS alapján a bűnelkövető biztosan megjelölhető, s nem léteznek a korábbi bizonytalanságok az apaság megállapítása során sem.

Az ichthyológiában és halkórtanban sem nélkülözhetők ezek a módszerek. Ma már egyetlen tudományos lap sem fogad el rendszertani munkát, ha az állításokat nem támasztják alá DNS elemzésével nyert adatok. A pontyfélék genetikai rokonságának vizsgálata során például, érdekes eredmények születtek. A DNS szekvenciák hasonlósága alapján a karikakeszeg és a dévérkeszeg igen közeli rokonsága volt kimutatható, s számos ichthyológus szerint indokolt a karikakeszegnek az *Abramis* genusba való átsorolása. Ez a halak rendszertanában járatlanok számára nem meglepetés, mivel a fiatal dévérkeszeg és karikakeszeg elkülönítése számos horgász számára jelent nehézséget. Már korábban is tudott volt a karikakeszeg és a szilvaorrú keszeg közötti rokonság. Ez már a halandó számára nehezebben megemészthető tény, mivel a széles testű, állóvízben gyakori karikakeszeg, és a megnyúlt testű folyami hal, a szilvaorrú keszeg közötti hasonlóság korábban csak a halak anatómiájával foglalkozó szakemberek számára volt evidencia. A DNS vizsgálatok arra utalnak, hogy a karikakeszeg egy oldalról a dévérrel, másoldalról a szilvaorrú keszeggel mutat rokonságot. A DNS szerkezet még érdekesebb adatokat szolgáltatott a Leuciscinae alcsaládhoz sorolt halak genetikai rokonsága vonatkozásában. Már az elnevezés miatt is természetesnek tűnt, hogy a fejes domolykó (*Leuciscus cephalus*) és a nyúldomolykó (*Leuciscus leuciscus*) rokon halfajok. A DNS vizsgálatok azonban arra hívták fel a figyelmet, hogy a fejesdomolykó genetikailag elkülönül a többi leuciscidától, s indokolt a *Squalius* genusba való besorolása, mint az a korábbi rendszertani munkákban volt megtalálható. További érdekesség, hogy a balin (*Aspius*

aspius) DNS szerkezete közeli rokonságot mutat a *Leuciscus* nem egyéb tagjaival, pl. a jász keszeggel (*Leuciscus idus*), s ezért az újabb rendszertani munkákban már mint *Leuciscus aspius* kerül említésre. A két megnyúlt testű hal, a balin és a jász rokonsága kevésbé meglepő, azonban az apró növesű nyúldomolykó és a jászkeszeg igen szoros rokonsága közel sem volt könnyen feltételezhető. Igen érdekes Brito és munkatársainak a vizsgálata, akik a nyúldomolykó és hibridjeinek molekuláris viszonyait tanulmányozták. Azt találták, hogy a nyúldomolykó és a jászkeszeg között igen gyakran jönnek létre hibridek. Ismert, hogy az emlősök vonatkozásában a hibridek általában terméktelenek, mint pl az öszvér. Halak esetében viszont a hibridek termékenyek, és a legismertebb példa az, hogy a fehér és pettyes busa hibridjeit oly módon elszaporították, hogy genetikailag tiszta fehér busát már nehéz találni. A molekuláris hasonlóság és egyes halfajok közötti gyakori hibridizáció a fajok közötti rokonságra utal. Érdekes módon a halak közötti közeli genetikai kapcsolat jól nyomon követhető volt a fajok parazitákkal való fertőzöttségében is. Parazitológusok számára jól ismert, hogy a *Dactylogyrus* kopolyfűregék rendkívül specifikus élősködők, és döntő többségük csak egyetlen halfajon képes megtelepedni. Az eddig ismert néhány kivétel esetében az élősködő a gazdán kívül csak a legközelebbi rokon halfajt képes megfertőzni. A ponty 10 *Dactylogyrus* faja közül csupán kettőt ismerünk, amely más halon, történetesen a kárászokon (széles kárász, ezüstkárász, aranyhal) is élősködik. Érdekesebb ez a kérdés olyan parazitacsoportok esetében, ahol a fajok nagyfokú morfológiai hasonlósága miatt a faj-specifititás nehezen tanulmányozható. Ilyen csoportot képeznek a nyálkaspórák (Myxozoa). Ezek között akadnak fajok, melyek egy genuson belül több halfajban is fejlődni képesek. (Legismertebb képviselőjük a pisztrángok kergekórját okozó *Myxobolus cerebralis*, melyet több salmonida halfajból is leírtak). Mások viszont csak egyetlen halfajon vagy annak legközelebbi rokonán képesek élősködni, (Erre a legjobb példát a busa és pettyes busa közös parazitája a *Myxobolus pavlovskii* szolgáltatja). Ellenpélda a *Myxobolus drjagini* faj, melynek jelentős méretű cisztái csak a fehér busa fején jelennek meg évente. Ezekre az élősködőkre vonatkozóan több éves tapasztalatok vannak, melyek a tételek igazságát viszonylag megbízható módon bizonyítják. Az



Dévrkeszeg kopolyfűregékének végét fertőző *Myxobolus macrocapsularis* ciszták, és néhány cisztából kiszabadított spóra.



Myxobolus dujardini faágszerű cisztái (plasmódiomai) domolykó kopoltyúlemezeiben, és a faj néhány spórája.

esetek zömében azonban a kép közel sem ilyen tiszta. Számos morfológiailag el nem különíthető nyálkaspórák okoz hasonló elváltozásokat közel rokon és viszonylag távol álló halakban. Ilyenkor annak megállapítására, hogy egy faj kártételéről van-e szó, vagy több hasonló megjelenésű fajjal állunk-e szemben, molekuláris biológiai vizsgálatok szükségesek. Ezeknek az alapvető kérdéseknek a megválaszolása meglehetősen indokolt, ugyanis nem mindegy, hogy a fertőzöttséget más halfajok is közvetíthetik, vagy az esetleges védekezési mechanizmust egyetlen haszonhal-faj egyedeire kell korlátozni. Az utóbbi években elvégzett vizsgálataink ilyen kérdésekre adtak választ. Vizsgálatainkat az élősködők spóráiból nyert szekvenciák tanulmányozásával és a megfelelő szekvencia szakaszok összehasonlításával végeztük. Ezekből következtetéseket vontunk le az adott nyálkaspórák faj önállóságára, egyéb fajokkal való genetikai rokonságára, és közvetve a halgazdák genetikai rokonságára vonatkozóan. Érdekesebb eredményeink közül a következőket említjük. A dévérkeszeg kopoltyúlemezeinek csúcán a *Myxobolus macrocapsularis* faj esetenként szabad szemmel is jól látható gombostüfejnél nagyobb cisztákat hoz létre. Ezt az élősködőt elsőként a karikakeszegből írták le. Kevésbé gyakran, de magunk is megtaláltuk ezt az élősködőt a karikakeszeg kopoltyúján. DNS vizsgálataink igazol-

ták, hogy egyugyanazon fajról van szó, és a szekvenciák 99.9-100%-os azonosságot mutattak. A karikakeszeg kopoltyúján egy másik fajt a *M. bliccae* cisztáit is gyakran kimutattuk, melyet szilvaorrú keszeg kopoltyúján is gyakran megtaláltunk. Itt is 100%-os hasonlóság mutatkozott a két minta között. Ugyanakkor a dévérkeszeg kopoltyúján hasonló elhelyezkedésben talált, hasonló méretű cisztákból nyert spórák az előbbiektől genetikailag jól elkülönültek, és a *M. bramae* egyedeinek bizonyultak. Az eredményből azt a következtetést vontuk le, hogy a három halfaj, bár közeli genetikai kapcsolatban van egymással, az összekötő láncszem a karikakeszeg. Hasonlóan érdekes eredményeket kaptunk a dunai halak kopoltyúlemezeiben faágszerűen elágazódó nagy ciszták (plasmódiomok) esetében is. Ezeket a domolykón gyakran találtuk meg, s a *M. dujardini* faj plazmódiomaival azonosítottuk. Hasonló cisztákat találtunk a jászkeszeg, a balin és a karikakeszeg kopoltyúján is. A cisztákból nyert spórák 18S rDNA szekvenciáinak vizsgálatakor azt tapasztaltuk, hogy a jászból és balinból nyert szekvenciák egymással megegyeztek, a domolykóból izoláltaktól kis mértékben elkülönültek, s ezért ezt a nyálkaspórást új fajként írtuk le (*M. alvarezae*). Ugyanakkor a karikakeszegben talált morfológiailag hasonló plazmódiomok és ciszták jól elkülönültek az előbbi fajoktól, s *M. sitjiae* néven kerültek leírásra. A ka-

pott eredmények meglehetősen összecsengenek Perea és munkatársainak a cyprinidák rendszertanára végzett molekuláris biológiai vizsgálataival. A halak rokonsági mutatóit a paraziták DNS szerkezetével összehasonlítva már nem tűnik olyan meglepetésnek, hogy a balinnak és a jásznak azonos élősködője van, míg a domolykón talált hasonló nyálkaspórák faj szekvenciáit illetően már olyan eltérések mutatkoznak, amelyek indokoltá teszik azok új fajként való leírását. A fenti halfajokon (domolykó, balin, jász, karikakeszeg) találtunk olyan jóval kisebb plazmódiomokat és spórákat, melyek a bodorka közös nyálkaspórák parazitájára, a *M. intimus*-ra hasonlítottak. A kapott molekuláris szekvenciák azt bizonyították, hogy a jászkeszegből és balinból izolált spórák szekvenciái megegyeznek a bodorkából nyertével, s ezért egyetlen fajról van szó, a karikakeszegben talált spórák szekvenciái ebben az esetben is jól elkülönültek a tipikus *M. intimus* fajétól, s ezért ez utóbbi faj *M. eurasianus*-ként került leírásra. Eredményeinkből arra következtettünk, hogy a *M. intimus* faj viszonylag széles gazdakörű élősködő, amely a Leuciscinae alcsalád több fájában is megtelepedni képes, ezzel szemben a *M. dujardini*-*M. alvarezae* fajok esetében már a leuciscina halgazdák között is más-más gazda-specifititás mutatkozik meg. Más tekintetben nem meglepő, hogy az Abraminae alcsaláddhoz tartozó karikakeszegben morfológiailag ugyan hasonló, de genetikailag eltérő élősködők telepednek meg. Bár a felsorolt halfajok nem tartoznak a gazdaságilag legfontosabb halaink közé, a kapott eredmények azonban igen hasznosak a nyálkaspórák élősködők faj-specifitásának megítélésére. Az eredmények arra utalnak, hogy a hal-élősködő nyálkaspórák között egy bizonyos csoport-specifititás létezik, s az élősködők a tipikus gazdák mellett a genetikailag legközelebb álló halfajokon is meg tudnak telepedni. Vizsgálataink összhangban állnak a Cyprinidae család molekuláris genetikai vizsgálata során kapott eredményekkel, s azokat alátámasztják. Úgy véljük, hogy kutatásainkban nemcsak felhasználtuk az ichthyológiai tudomány eredményeit, hanem azokhoz új információkat is tudtunk adni.

Támogatás: OTKA K 100132. sz. szerződés

CECH GÁBOR, SZÉKELY CSABA,
MOLNÁR KÁLMÁN