

A Kárpát-medence új halfaja: a bihari márna (*Barbus biharicus*)

New species of the Carpathian basin: biharian barbel (*Barbus biharicus*)

Antal L.¹, László B.², P. Kotlík³, Mozsár A.^{1,4}, Czeglédi I.^{1,4}, Oldal M.⁵,
Kemenesi G.⁵, Jakab F.⁵, Nagy S. A.¹

¹Debreceni Egyetem TTK, Hidrobiológiai Tanszék, Debrecen

²Debreceni Egyetem OEC, Orvosi Mikrobiológiai Intézet, Debrecen

³Laboratory of Molecular Ecology, Institute of Animal Physiology and Genetics, Czech Academy of Sciences, Liběchov, Czech Republic

⁴MTA ÖK, Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany

⁵Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai Kutatóközpont, Virologia kutatócsoport, Pécs

Kulcsszavak: citokróm *b*, ATP-szintáz, béta-aktin, filogenetika, morfometria

Keywords: cytochrome *b*, ATP synthase, beta-actin, phylogenetic, morphometric

Abstract

Three species of small-sized rheophilic *Barbus* fishes are endemic to and widely distributed throughout the mountain regions in the Danube River basin. In Hungary, barbels referred to as *B. petenyi* occur in streams in the foothills of the Carpathians near the borders with Slovakia, Ukraine and Romania. However, up to now, no genetic investigations were carried out on rheophilic barbels in this region. This study aims to clarify the taxonomic identity and distribution of the rheophilic barbels in the Hungarian plain based on molecular and morphological analyses. Two mitochondrial genes (cytochrome *b*, ATPase 6/8) and one nuclear gene (beta-actin intron 2) were sequenced and several morphometric and meristic characters were recorded. Phylogenetic and morphological analyses revealed that there are four genetically distinct lineages among the rheophilic barbels in the Carpathian Basin. The results demonstrated that North-Hungarian *Barbus* populations belong to *B. carpathicus* and that *B. petenyi* presumably does not occur in Hungary. As expected, *B. balcanicus* was only recorded in samples from the Balkans analyzed for reference. A distinct species (*B. biharicus* Antal, László & Kotlík, 2016), new to science, was discovered to be present in Sebes-Körös River (Crişul Repede) in eastern Hungary and western Romania.

Bevezetés

A Kárpát-medence hegyvidéki vizeinek endemikus halfaja a Petényi-márna (*Barbus petenyi* Heckel, 1852), mely egy kistermetű reofil pontyféle (Kotlík et al. 2002, Bănărescu & Bogutskaya 2003). A fajt eredetileg Erdélyből, a mai Románia területéről írták le, nevét Petényi Salamon János magyar zoológusról kapta (Bănărescu & Bogutskaya 2003). A leírást követően a faj taxonómiai helyzete többször is változott, ugyanis egyes szerzők a *B. meridionalis* Risso, 1827, mások pedig a *B. peloponnesius* Valenciennes, 1842 alfajának tekintették a XX. században (Bănărescu 1964, Karaman 1971, Doadrio, 1990).

A Duna vízgyűjtőjén élő pataki márnák populációi morfológiailag igen hasonlóak, azonban a XXI. század elején mitokondriális DNS (mtDNS) szekvenciájában mutatózó különbségek alapján eltérő evolúciós vonalakat írtak le a *B. petenyi* fajon belül (Tsigenopoulos & Berrebi 2000, Machordom & Doadrio 2001a, Kotlík & Berrebi 2002). 2002-ben Kotlík és munkatársai megállapították, hogy a Duna vízgyűjtőjén a Petényi-márna mellett két másik, a tudomány számára új faj, a kárpáti márna (*B. carpathicus* Kotlík, Tsigenopoulos, Ráb et Berrebi, 2002) és a balkáni márna (*B. balcanicus* Kotlík, Tsigenopoulos, Ráb et Berrebi, 2002) is él. A genomi és a mitokondriális génszekvenciák alapján végzett további filogenetikai vizsgálatok alátámasztották, hogy valóban három

különböző faj él a Duna vízgyűjtőjén, s ezek valószínűleg a miocén korban váltak szét egymástól (Marková et al. 2010, Gante 2011, Berrebi et al. 2013, Konopiński et al. 2013, Buonerba et al. 2015). A Petényi-márna a Kárpátok keleti és déli részén, valamint a Balkán-hegységben, a kárpáti márna a Nyugati- és a Keleti-Kárpátokban, a balkáni márna pedig a Balkán-hegység nyugati részén és a Dinári-hegység vízfolyásaiban él (Kotlík et al. 2002, Kottelat & Freyhof 2007) (1. ábra).

A pataki márnák alapvetően a hegyvidéki, gyorsabb sodrású, oxigénben dúsabb vizeket preferálják, ezért többnyire hiányoznak az Alföld vizeiből (1. ábra). Hazánkban a korábban Petényi-márnaként ismert faj elsősorban a Kárpátok lábaihoz tartozó Ézaki-középhegység vízfolyásaiban él, a szlovák, az ukrán és a román határ közelében (Halasi-Kovács & Harka 2012). Szűk elterjedésének is köszönheti, hogy fokozott védettségi státuszt élvez. A hazai pataki márnák tényleges taxonómiai helyzete eddig nyitott kérdés volt, ugyanis a korábbi tanulmányok egyikében sem szerepeltek Magyarországról származó minták. Jelen vizsgálat célja az volt, hogy genetikai és morfológiai vizsgálatok alapján megállapítsuk a magyarországi pataki márnák taxonómiai helyzetét és elterjedését.

Anyag és módszer

Mintavétel

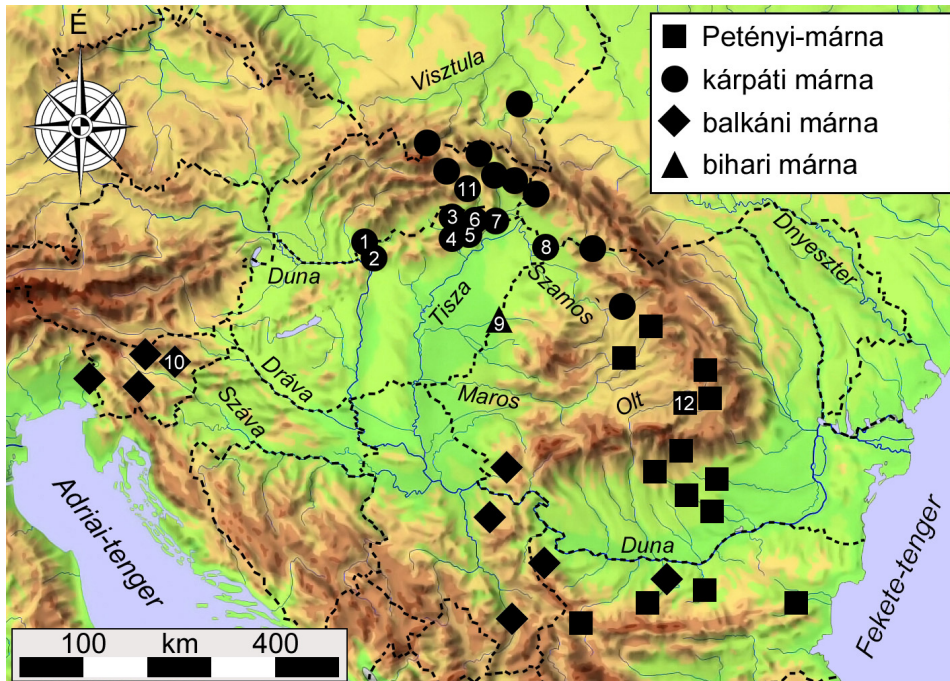
Vizsgálatainkhoz a korábban ismert hazai élőhelyek közül kilenc mintavételi helyszínről összesen 28 pataki márna egyedét gyűjtöttünk, míg Romániából, Szlovákiából és Szlovéniából további 4-4 Petényi-márna, kárpáti márna és balkáni márna egyed került begyűjtésre 2010 és 2012 között (1. ábra). A gyűjtőeszköz Magyarországon egy akkumulátoros, pulzáló egyenárammal működő HansGrassl típusú kutató halászgép, míg a szomszédos országokban kézi háló volt. A DNS-tartalom kivonásáig a begyűjtött egyedeket és a szövetmintákat 96 százalékos etanolban -20 °C-os hőmérsékleten tároltuk. A minták begyűjtését és tárolását az Országos Környezetvédelmi, Természetvédelmi és Vízügyi Főfelügyelőség engedélyezte (engedélyszám: 14/4620-3/2010.).

2015-ben az addigi eredmények alapján feltételezett új fajból a morfológiai és a merisztikus bélyegek vizsgálata céljából további 27 egyed került befogásra a Sebes-Kőrös (Crișul Repede) barátkai (Bratca, Románia) szakaszáról (46.9279°N 22.5934°E).

Molekuláris módszerek

A szövetminták DNS-tartalmát DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Németország) segítségével nyertük ki. A két mitokondriális és az egy genomi gén vizsgálatát polimeráz láncreakcióval (PCR), nagy hűségű AccuTaq™ DNA polymerase (Sigma-Aldrich, USA) segítségével végeztük. A mitokondriális citokrom *b* (Cyt *b*) gén 598 bázispár hosszúságú szakaszának felszaporítására a L15267 (5'AATGACTTGAAGAACCACCGT3') és H15891 (5'GTTTGATCCCGTTTCGTGTA3') primereket (Briolay et al. 1998) használtuk, mivel ugyanezen Cyt *b* szakaszt használták a pataki márnákat érintő korábbi taxonómiai vizsgálatok során is (Tsigenopoulos & Berrebi 2000, Kotlík & Berrebi 2002, Tsigenopoulos et al. 2002), így eredményeinket ezekkel közvetlenül össze tudtuk vetni. A teljes mitokondriális ATP-szintáz 6 és 8 géneket (842 bázispár) az ATP8.2 (5'AAAGCRTYRGCCTTTAAGC3') és a Co3.2 (5'GTTAGTGGTCAKGGGCTTGGRTC3') primerekkel szaporítottuk fel (Machordom & Doadrio 2001b). A sejtmagban kódolt béta-aktin (Act-2) gén (496 bázispár) második intronjának felszaporításához pedig az Act18U21 (5'GCTCCAGAAAACCTATAAGT3') és az Act554L21 (5'CTCACTGAAGCTCTCTTAAC3') primereket használtuk (Marková et al. 2010).

Az agaróz gélelektroforézist követően a felszaporított PCR termékek tisztítását QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen) segítségével végeztük. A szekvenálás BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) felhasználásával történt. A felszaporított termékek kétirányú szekvenálását ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) automata szekvenátorral végeztük.



1. ábra. A pataki márnák élőhelyei a Kárpát-medencében. A szám nélküli szimbólumok jelzik a Kotlík és munkatársai (2002) által publikált lelőhelyeket, a számokkal ellátott szimbólumok a jelen vizsgálat gyűjtési helyeit mutatják: 1. Kemence-patak (mintakód: HU006-008), GPS: 48.0461°N 18.9185°E; 2. Török-patak (HU018-020), 47.8371°N 19.0062°E; 3. Bódva (HU001-002), 48.3330°N 20.7306°E; 4. Sajó (HU012-014), 48.1509°N 20.8071°E; 5. Vadász-patak (HU021-023), 48.3227°N 20.8863°E; 6. Hernád (HU003-005), 48.4198°N 21.2130°E; 7. Kemence-patak (HU009-011), 48.4652°N 21.4963°E; 8. Tisza (HU015-016), 48.1072°N 22.8315°E; 9. Sebes-Körös (HU024-028), 47.0146°N 21.6255°E; 10. Hudinja (SLO001-004), 46.2323°N 15.2778°E; 11. Torysa (SK001-004), 48.9775°N 21.2539°E; 12. Ajta-patak (RO001-004), 45.9838°N 25.6509°E.

Fig. 1. Map of the Carpathian (Pannonian) Basin showing the geographic location of sampling sites of rheophilic barbels. Symbols without numbers indicate the original distribution area of three *Barbus* species based on Kotlík et al. 2002; Symbols with numbers represent the sampling sites of the present study: 1. Kemence stream (samples HU006-008), GPS: 48.0461°N 18.9185°E; 2. Török stream (HU018-020), 47.8371°N 19.0062°E; 3. Bódva River (HU001-002), 48.3330°N 20.7306°E; 4. Sajó River (HU012-014), 48.1509°N 20.8071°E; 5. Vadász stream (HU021-023), 48.3227°N 20.8863°E; 6. Hernád River (HU003-005), 48.4198°N 21.2130°E; 7. Kemence stream (HU009-011), 48.4652°N 21.4963°E; 8. Tisza River (HU015-016), 48.1072°N 22.8315°E; 9. Sebes-Körös River (HU024-028), 47.0146°N 21.6255°E; 10. Hudinja River (SLO001-004), 46.2323°N 15.2778°E; 11. Torysa River (SK001-004), 48.9775°N 21.2539°E; 12. Aita stream (RO001-004), 45.9838°N 25.6509°E.

Genetikai adatok elemzése

A nyers szekvenciák ellenőrzését és illesztését a BioEdit 7.2.5 (Hall 1999) és a GeneDoc 2.7 szoftverek (Nicholas et al. 1997) segítségével végeztük. Eredményeinket a génbankban elérhető *B. petenyi*, *B. carpathicus*, *B. balcanicus* és néhány egyéb pataki márna bázissorendejeire hasonlítottuk össze (a génbanki azonosítók a 2. ábrán szerepelnek) (Zardoya & Doadrio 1999, Tsigenopoulos & Berrebi 2000, Machordom & Doadrio 2001a, Kotlík & Berrebi 2002, Tsigenopoulos et al. 2002, Marková et al. 2010, Levin et al. 2012, Konopiński et al. 2013, Buonerba et al. 2015). A jelen vizsgálat során kinyert új szekvenciákat KT733654–KT733670 azonosító számokkal helyeztük el a génbankban. Elemzéseinket a MEGA6 (Tamura et al. 2013) és a PhyML (Guindon et al. 2010) szoftverekkel végeztük. A filogenetikai rekonstrukció a maximum-likelihood algoritmus alapján történt. A Cyt *b* szekvenciák elemzésekor a TN93+G (Tamura & Nei 1993) modelt

alkalmaztuk, míg az ATPase 6/8 szekvenciák esetében a TN93+I model, az Act-2 esetében pedig a T92 model bizonyult a legalkalmasabbnak a Bayes-féle információs kritérium alapján (Posada & Buckley 2004, Tamura et al. 2011). A filogenetikai fa megbízhatóságának becslésére 1000-szeres ismétlésben bootstrap analízist végeztünk (Felsenstein 1985).

Morfológiai adatok elemzése

A *Barbus* fajok közötti morfológiai különbségek vizsgálatához 27 testparamétert valamint merisztikus bélyegeket (úszósugar- és pikkelyképlet) használtunk (1. táblázat) fel Kotlík és munkatársai (2002), valamint Žutinić és munkatársai (2014) munkái alapján. A *B. petenyi*, a *B. carpathicus* és a *B. balcanicus* fajok esetén Kotlík és munkatársai (2002) adatsorát használtuk fel.

Az eltérő méretű egyedek morfológiai sajátosságainak összehasonlíthatósága érdekében adatainkat Elliott és munkatársai (1995) szerint standardizáltuk. A fajok közötti különbségek feltárására használt diszkriminanciaanalízist a STATISTICA 12.0 szoftver (StatSoft 2013) segítségével végeztük el. Ezt követően Spearman-rangkorellációt alkalmaztunk, hogy megállapítsuk, mely morfológiai karakterek felelősek a fajok közötti elkülönülésért. A korrelációelemzés alapján szignifikánsnak bizonyuló karakterek esetén ANOVA post hoc (Tukey HSD) teszt segítségével meghatározzuk az egyes fajok közötti különbségeket.

Eredmények és értékelés

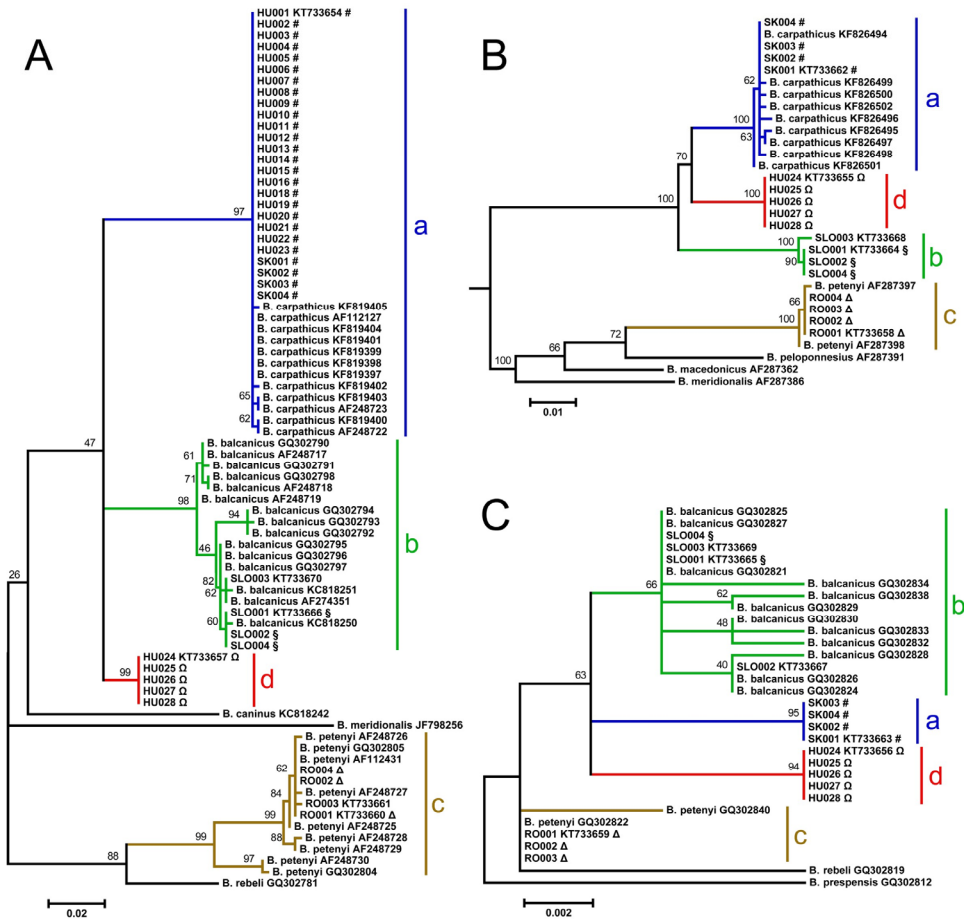
DNS-szekvenciák elemzése

A 39 vizsgált minta Cyt *b* (546 bázispár hosszúságú) szekvenciái között hat, a 17 vizsgált minta ATP-szintáz 6/8 (842 bp) szekvenciái között öt haplotípust azonosítottunk. Az Act-2 (496 bp) esetén a 16 vizsgált minta között hat egyedi szekvenciát találtunk. Az összes új Act-2 szekvencia homozigótának bizonyult a vizsgált szakaszon, kivéve két *B. balcanicus* szekvenciáját (SLO002 és SLO003), melyek ugyanabban a pozícióban voltak heterozigóták, valamint az SLO02 szekvencián egy további heterozigóta pozíciót azonosítottunk.

A filogenetikai kapcsolatokat minden gén esetén a MEGA6 és a PhyML szoftverek segítségével is feltártuk, és ezek során azonos eredményeket kaptunk (2. ábra). Az elemzéshez a nyert Cyt *b* szekvenciák mellett felhasználtuk a génbankban fellelhető *B. petenyi*, *B. carpathicus* és *B. balcanicus* azonos szekvenciáit is, és a vizsgálat eredményeként igazoltuk a korábbi tanulmányokban leírt három klád jelenlétét (2A. ábra). A magyarországi populációkból származó egyedek genetikailag a *B. carpathicus* (HU001-HU023) kládjába rendeződtek, kivéve a Sebes-Körösből gyűjtött öt mintát (HU024-HU028), melyek teljesen elkülönülő kládot alkottak (2A. ábra). Míg az összes vizsgált *B. carpathicus* szekvencia egy haplotípusba tartozott, addig a *B. balcanicus* és a *B. petenyi* esetén két haplotípust azonosítottunk. A talált új kládban minden egyed ugyanazon haplotípusba tartozott (2A. ábra).

Mintáink egy részét további genetikai vizsgálatoknak vetettük alá, hogy a Cyt *b* elemzése során kapott eredményeinket ellenőrizzük. A három ismert faj, valamint a Sebes-Körösből származó egyedek ATP-szintáz 6/8 és Act-2 génjeinek szekvenálását és filogenetikai elemzését végeztük el. A filogenetikai rekonstrukció során mindkét gén esetében szekvenciáink négy eltérő kládba rendeződtek (2B. és 2C. ábra). A *B. balcanicus* fajnál az ATP-szintáz 6/8 esetén három haplotípust azonosítottunk (amelyből kettő heterozigóta). A többi fajnál ezzel szemben mindössze egy haplotípust találtunk génenként. Kutatócsoportunk volt az első, amely a *B. balcanicus* esetén ATP-szintáz 6/8, a *B. carpathicus* esetén pedig Act-2 szekvenciákat közölt a génbankban.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy az észak-magyarországi pataki márnák genetikailag a *B. carpathicus* fajhoz tartoznak, és genetikailag nagyon közel állnak a szlovák populációkhoz, továbbá kiderült, hogy a *B. petenyi* néven ismert faj nem él Magyarországon. A filogenetikai elemzés azt mutatja, hogy a Sebes-Körösben élő pataki márnák genetikailag jelentősen eltérnek a korábban ismert rokonfajoktól.



2. ábra. Filogenetikai kapcsolatok a Kárpát-medence pataki márnái között. A filogenetikai rekonstrukció a maximum-likelihood algoritmus alapján történt, 1000-es bootstrap analízissel. A) Citokrom b gén (TN93+G modell). B) ATP-szintáz 6/8 gén (TN93+I). C) Béta-aktin gén 2. intronja (T92). A korábban publikált szekvenciákat a fajok neve és a mellette álló génbanki azonosító jelzi. A vizsgált egyedek szekvenciáit azok egyedi kódja jelöli, melyek mellett fel van tüntetve a génbanki azonosító, illetve egy szimbólum, mely jelzi a velük azonos szekvenciájú mintákat (HU001-028, SK001-004, RO001-004 and SLO001-004). Klád betű/színkódok: a/kék – *B. carpathicus*, b/zöld – *B. balcanicus*, c/barna – *B. petenyi*, d/piros – *B. biharius*

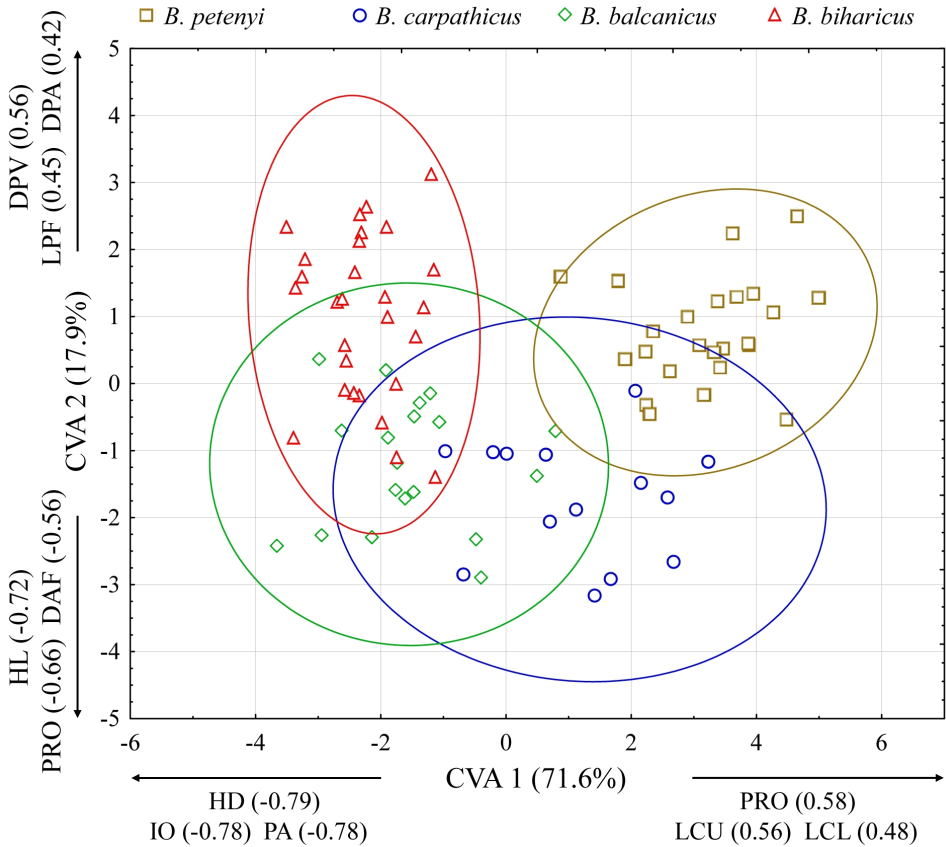
Fig. 2. Phylogenetic relationships of the rheophilic barbels from the Carpathian Basin. All trees are maximum-likelihood reconstructions with branch support estimated based on 1000 bootstrap replicates. A) Cytochrome b gene (TN93+G model). B) ATPase 6/8 gene (TN93+I). C) Beta-actin gene intron 2 (T92). Previously published sequences are labelled with the species name and GenBank accession number. New sequences are labelled with the number of the individual sequenced. GenBank accession number is given for those individuals whose sequence was deposited in GenBank, with individuals carrying identical sequences indicated by symbols (HU001-028, SK001-004, RO001-004 and SLO001-004). Letter/color coding: a/blue – *B. carpathicus*, b/green – *B. balcanicus*, c/brown – *B. petenyi*, d/red – *B. biharius*

Morfometriai adatok elemzése

A 27 testparaméter (1. táblázat) alapján végzett diszkriminanciaanalízis eredményei szerint az új faj egyes morfológiai bélyegek mentén elkülönülést mutat a korábbról ismert három fajtól (3. ábra). Az első tengely a teljes variancia 71,6 százalékát, míg a második tengely a teljes variancia 17,9 százalékát magyarázza. A rangkorreláció alapján a fajok morfológiai elkülönülésért elsősorban a fej magassága (HD; $r = -0,79$), az interorbitális távolság (IO; $r = -0,78$) és a preanális távolság (PA; $r = -0,78$) felel. Ezen morfológiai

bélyegek mutatták a legerősebb negatív összefüggést az első tengellyel, illetve ezen morfológiai bélyegek esetében az új *Barbus* faj szignifikánsan eltért ($P < 0,0001$) a másik három fajtól, kivéve a fej magasságát, mely nem mutatott szignifikáns különbséget ($P = 0,2465$) az új faj és a *B. balcanicus* között. A preorbitális távolság (PRO; $r = 0,58$), a farokúszó felső (LCU; $r = 0,56$) és alsó lebenyének hossza (LCL; $r = 0,48$) pozitív összefüggést mutatott az első tengellyel, a preorbitális távolság esetén volt a legjelentősebb különbség ($P < 0,0001$) az új faj esetén.

A morfometriai bélyegekkel szemben a merisztikus jellegek nem mutattak szignifikáns különbségeket a fajok között.



3. ábra. A *Barbus* fajok morfometriai adatai diszkriminanciaanalízisének ordinációja. Rövidítések: HL: fejhossz, PRO: preorbitális távolság, DAF: farokalatti úszó hossza, DPV: mellúszó és a hasúszó alapja közötti távolság, LPF: mellúszó hossza, DPA: mellúszó és az anális úszó alapja közötti távolság, HD: fej magassága, IO: szemek közötti távolság, PA: preanális távolság, LCU: farokúszó felső felének hossza, LCL: farokúszó alsó felének hossza

Fig. 3. Discriminant analysis for comparison of the morphology of *Barbus* species. Abbreviations: HL: Head length; PRO: Preorbital distance; DAF: Depth of anal fin; DPV: Distance between pectoral and ventral fin bases; LPF: Length of pectoral fin; DPA: Distance between pectoral and anal fin bases; HD: Head depth; IO: Interorbital distance; PA: Preanal distance; LCU: Length of upper caudal lobe; LCL: Length of lower caudal lobe

1. táblázat. A bihari márna morfolometriai és merisztikus bélyegei
 Table 1. Morphometric and meristic characteristics of *B. biharicus*

Morfometriai bélyegeik / Morphometric characters					
	Holotípus <i>Holotype</i>	N = 28		Holotípus <i>Holotype</i>	N = 28
	HNHM- ICH	Átlag ± szórás <i>Mean ± SD</i>		HNHM- ICH	Átlag ± szórás <i>Mean ± SD</i>
	2015.51.1.	Értékhatár <i>Range</i>		2015.51.1.	Értékhatár <i>Range</i>
Standard testhossz / <i>Standard length SL (mm)</i>	79,3	90,9 ± 15,7 55,2-115,3	Standard testhossz / <i>Standard length SL (mm)</i>	79,3	90,9 ± 15,7 55,2-115,3
A standard testhossz százalékában / <i>In percent of SL</i>					
Teljes testhossz / <i>Total length</i>	119,4	117,4 ± 1,2 115,1-120,7	Mellúszó hossza / <i>Length of pectoral fin</i>	21,2	20,3 ± 1,1 16,1-21,6
Fejhossz / <i>Head length</i>	23,7	23,5 ± 1,2 21,3-25,9	Farokúszó felső felének hossza / <i>Length of upper caudal lobe</i>	22,3	21,3 ± 0,9 19,3-23,1
Maximális testmagasság / <i>Maximum body depth</i>	22	20,9 ± 1,2 18,7-23,4	Farokúszó minimális hossza / <i>Length of middle caudal part</i>	9,3	9,0 ± 0,7 7,9-11,1
Predorzális távolság / <i>Predorsal distance</i>	51,8	51,5 ± 1,5 48,4-54,3	Farokúszó alsó felének hossza / <i>Length of lower caudal lobe</i>	24	21,1 ± 1,9 12,9-24,0
Preanális távolság / <i>Preanal distance</i>	76,2	77,5 ± 1,3 74,9-80,8	Test szélessége / <i>Body width</i>	15,8	15,0 ± 0,9 11,8-16,6
Preventrális távolság / <i>Preventral distance</i>	56,6	56,7 ± 1,4 54,1-59,2	Fej szélessége / <i>Head width</i>	14,3	14,2 ± 0,5 13,0-15,3
Mellúszó és a hasúszó alapja közötti távolság / <i>Distance between pectoral and ventral fin bases</i>	34,9	33,8 ± 2,1 26,8-36,7	Preorbitális távolság / <i>Preorbital distance</i>	8,6	8,8 ± 0,3 8,3-9,3
Mellúszó és az anális úszó alapja közötti távolság / <i>Distance between pectoral and anal fin bases</i>	54	54,6 ± 2,2 48,7-58,4	Posztorbitális távolság / <i>Postorbital distance</i>	10,2	9,9 ± 0,7 8,7-11,4
Faroknyél hossza / <i>Length of caudal paduncle</i>	17,6	16,7 ± 1,1 13,2-18,9	Szemátmérő / <i>Horizontal eye diameter</i>	4,9	4,9 ± 0,5 3,9-5,9
Minimális testmagasság / <i>Minimum body depth</i>	9,5	9,2 ± 0,3 8,5-9,8	Szemek közötti távolság / <i>Interorbital distance</i>	9,2	8,4 ± 0,5 7,2-9,5
Faroknyél magassága / <i>Depth of caudal paduncle</i>	11,3	11,0 ± 0,5 10,3-12,3	Fej magassága / <i>Head depth</i>	17,4	16,4 ± 0,9 15,0-17,7
Hátúszó alapja / <i>Length of dorsal fin base</i>	12,5	12,5 ± 0,5 11,5-14,2	Merisztikus bélyegeik / <i>Meristic characters</i>		
Farokalatti úszó hossza / <i>Depth of anal fin</i>	15,4	15,0 ± 1,7 12,7-19,3	Úszósugárképlet / <i>Rays in dorsal and anal fins</i>	D II-III / 7-8 A I-II / 4-5	
Anális úszó alapja / <i>Length of anal fin base</i>	6,8	6,7 ± 0,5 5,3-8,3	Pikkelyképlet / <i>Scale counts</i>	51	9-11/8-10 56
Hasúszó hossza / <i>Length of ventral fin</i>	15,5	14,8 ± 0,7 13,2-15,9			

Történeti biogeográfia

Az Erdélyi-szigethegység (Munții Apuseni) miocénbeli (késő-bádeni – kora-szarmata) felgyűrődése fontos szerepet játszhatott a *Barbus* fajok izolálódásában (Thamó-Bozsó et al. 2002). A kiemelkedett Erdélyi-szigethegység a terület fő vízfolyásaiban (Szamos/Someș, Maros/Mureș, Körös/Criș) élő pataki márnák számára egy áthatolhatatlan földrajzi barrierként szolgál. Feltehetően e fő vízfolyások elszeparálódása, és így a populációk közötti hibridizáció (mely folyamat egyébként más pataki márnáknál ismert) és ezáltal a génáramlás megszűnése vezetett az új fajok genetikai és a morfológiai elkülönüléséhez (Berrebi et al. 2013, Gante et al. 2015).

Összegzés

A molekuláris filogenetikai és a morfológiai vizsgálatok egyaránt alátámasztották, hogy a Sebes-Körösből származó példányok egyetlen eddig ismert fajba sem sorolhatók. A tudományra nézve új faj a bihari márna (*Barbus biharicus* Antal, László & Kotlík, 2016) nevet kapta (részletes fajleírás: Antal et al. 2016), ezzel utalva a tájra, amelynek szülőtte. Természetvédelmi érték tekintetében azonos szinten áll a Kárpát-medence egyéb pataki márnáival, hiszen korábban egy fajba sorolva kaptak fokozottan védett státuszt. A vizsgálatok során azt is igazoltuk, hogy az észak-magyarországi folyók vízrendszerében a kárpáti márna (*B. carpathicus*) él, továbbá Petényi-márna (*B. petenyi*) és balkáni márna (*B. balcanicus*) nem él hazánkban, azonban előbbi esetén a Marosból, utóbbi esetén a Drávából előkerülhetnek lesodró egyedek a jövőben.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk kutatótársainknak (Meta Povž, Ján Koščo, Ilie Cătălin Telcean, István Sas-Kovács, Alfred-Ștefan Cicort-Lucaciu, Péter Géza és Halasi-Kovács Béla), akik az egyedek begyűjtésében nyújtottak nélkülözhetetlen segítséget. Köszönjük Vörös Juditnak (a Magyar Természettudományi Múzeum halgyűjteményének főmuzeológusa) az adminisztratív segítséget. Továbbá köszönet illeti azokat a kollégákat, akik információkkal, javaslatokkal, szakmai konzultációkkal segítettek a munkánkat: Varga Zoltán Sándor, Csoma Eszter, Takács Péter, Sallai Zoltán. A kutatás a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0024 és a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg. P. K. intézményi támogatásban részesült (RVO:67985904).

Irodalom

- Antal L., László B., Kotlík P., Mozsár A., Czeglédi I., Oldal M., Kemenesi G., Jakab F., Nagy S. A. (2016): Phylogenetic evidence for a new species of *Barbus* in the Danube River basin. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 96: 187–194.
- Bănărescu, P. M. (1964): *Fauna Republicii Populare Romine [Fauna of the People's Republic of Romania Vol. 13]. Pisces – Osteichthyes*. Academia Republicii Populare Romine, Bucuresti, pp. 959.
- Bănărescu, P. M., Bogutskaya, N. G. (eds.) (2003): *The Freshwater Fishes of Europe*. V. 5/II. Cyprinidae 2. Pt. II: *Barbus*. AULA-Verlag, Wiebelsheim.
- Berrebi, P., Chenuil, A., Kotlík, P., Machordom, A., Tsigenopoulos, C. S. (2013): Disentangling the evolutionary history of the genus *Barbus sensu lato*, a twenty years adventure. p. 29–55. In: Alves, J. (ed.): *Professor Carlos Almaça (1934-2010) – Estado da Arte em Áreas Científicas que Desenvolveu*. Museu Nacional de Historia Natural e da Ciencia, Lisboa.
- Briolay, J., Galtier, N., Brito, R. M., Bouvet, Y. (1998): Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome *b* DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9: 100–108.
- Buonerba, L., Zaccara, S., Delmastro, G. B., Lorenzoni, M., Salzburger, W., Gante, H. F. (2015): Intrinsic and extrinsic factors act at different spatial and temporal scales to shape population structure, distribution and speciation in Italian *Barbus* (Osteichthyes: Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 89: 115–129.
- Doadrio, I. (1990): Phylogenetic relationships and classification of western palaeartic species of the genus *Barbus* (Osteichthyes, Cyprinidae). *Aquatic Living Resources* 3: 265–282.
- Elliott, N. G., Haskard, K., Koslow, J. A. (1995): Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of southern Australia. *Journal of Fish Biology* 46: 202–220.

- Felsenstein, J. (1985): Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution* 39: 783–791.
- Gante, H. F. (2011): Diversification of Circum-Mediterranean Barbels. p. 283–298. In: Grillo, O., Venora, G. (eds.): *Changing Diversity in Changing Environment*. InTech, Rijeka, Croatia.
- Gante, H. F., Doadrio, I., Alves, M. J., Dowling, T. E. (2015): Semi-permeable species boundaries in Iberian barbels (*Barbus* and *Luciobarbus*, Cyprinidae). *BMC Evolutionary Biology* 15: 111.
- Guindon, S., Dufayard, J.-F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O. (2010): New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59: 307–321.
- Halasi-Kovács B., Harka Á. (2012): Hány halfaj él Magyarországon? A magyar halfauna zoogeográfiai és taxonómiai áttekintése, értékelése. *Pisces Hungarici* 6: 5–24.
- Hall, T. A. (1999): BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95–98.
- Karaman, S. M. (1971): Süßwasserfische der Türkei. 8. Teil: Revision der Barben Europas, Vorderasien und Nordafrikas. *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zool. Museum und Institut* 67: 175–254.
- Konopiński, M. K., Amirowicz, A., Kotlík, P., Kukuła, K., Bylak, A., Pekarík, L., Šediva, A. (2013): Back from the Brink: The Holocene History of the Carpathian Barbel *Barbus carpathicus*. *PLoS ONE* 8: e82464.
- Kotlík, P., Berrebi, P. (2002): Genetic subdivision and biogeography of the Danubian rheophilic barb *Barbus petenyi* inferred from phylogenetic analysis of mitochondrial DNA variation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 24: 10–18.
- Kotlík, P., Tsigonopoulos, C. S., Ráb P., Berrebi, P. (2002): Two new *Barbus* species from the Danube River basin, with redescription of *B. petenyi* (Teleostei: Cyprinidae). *Folia Zoologica* 51: 227–240.
- Kottelat, M. (1997): European freshwater fishes. An heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR), with an introduction for non-systematists and comments on nomenclature and conservation. *Biologia* 52: S1–S271.
- Kottelat, M., Freyhof, J. (2007): *Handbook of European Freshwater Fishes*. Publications Kottelat, Cornol, Switzerland.
- Levin, B. A., Freyhof, J., Lajbner, Z., Perea, S., Abdoli, A., Gaffaroglu, M., Ozulug, M., Rubenyan, H. R., Salmikov, V. B., Doadrio, I. (2012): Phylogenetic relationships of the algae scraping cyprinid genus *Capoeta* (Teleostei: Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62: 542–549.
- Machordom, A., Doadrio, I. (2001a): Evolutionary history and speciation modes in the cyprinid genus *Barbus*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 268: 1297–1306.
- Machordom, A., Doadrio, I. (2001b): Evidence of a Cenozoic Betic–Kabalian Connection Based on Freshwater Fish Phylogeography (*Luciobarbus*, Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18: 252–263.
- Marková, S., Šanda, R., Crivelli, A., Shumka, S., Wilson, I. F., Vukić, J., Berrebi, P., Kotlík, P. (2010): Nuclear and mitochondrial DNA sequence data reveal the evolutionary history of *Barbus* (Cyprinidae) in the ancient lake systems of the Balkans. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 488–500.
- Nicholas, K. B., Nicholas, H. B. Jr., Deerfield, D. W. (1997): GeneDoc: Analysis and Visualization of Genetic Variation. *EMBnet News* 4: 14.
- Posada, D., Buckley, T. R. (2004): Model Selection and Model Averaging in Phylogenetics: Advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian Approaches Over Likelihood Ratio Tests. *Systematic Biology* 53: 793–808.
- StatSoft, Inc. (2013): *STATISTICA* (data analysis software system), version 12.0. <www.statsoft.com>.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011): MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731–2739.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipiski, A., Kumar, S. (2013): MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725–2729.
- Thamó-Bozsó E., Kercsmár Zs., Nádor A. (2002): Tectonic control on changes in sediment supply: Quaternary alluvial systems, Körös sub-basin, SE Hungary. p. 37–53. In: Jones, S. J., Frostick, L. E. (eds.): *Sediment flux to basins: Causes, controls and consequences*. *Geological Society London Special Publications* 191.
- Tsigonopoulos, C.S., Berrebi, P. (2000): Molecular phylogeny of North Mediterranean freshwater barb (genus *Barbus*: Cyprinidae) inferred from cytochrome *b* sequences: biogeographic and systematic implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 14: 165–179.
- Tsigonopoulos, C. S., Karakousis, Y., Berrebi, P. (1999): The North Mediterranean *Barbus* lineage: phylogenetic hypotheses and taxonomic implications based on allozyme data. *Journal of Fish Biology* 54: 267–286.

- Tsigenopoulos, C. S., Kotlik, P., Berrebi, P. (2002): Biogeography and pattern of gene flow among *Barbus* species (Teleostei: Cyprinidae) inhabiting the Italian Peninsula and neighbouring Adriatic drainages as revealed by allozyme and mitochondrial sequence data. *Biological Journal of the Linnean Society* 75: 83-99.
- Zardoya, R., Doadrio, I. (1999): Molecular Evidence on the Evolutionary and Biogeographical Patterns of European Cyprinids. *Journal of Molecular Evolution* 49: 227–237.
- Žutinić, P., Jelić, D., Jelić, M., Buj, I. (2014): A contribution to understanding the ecology of the large spot barbel - sexual dimorphism, growth and population structure of *Barbus balcanicus* (Actinopterygii; Cyprinidae) in Central Croatia. *North-Western Journal of Zoology* 10: 158–166.

Authors:

László ANTAL (antal.laszlo@science.unideb.hu), Brigitta LÁSZLÓ, Petr KOTLIK, Attila MOZSÁR, István CZEGLÉDI, Miklós OLDAL, Gábor KEMENESI, Ferenc JAKAB, Sándor Alex NAGY (nagy.sandor.alex@science.unideb.hu)



Bihari márna, *Barbus biharicus*, HHNM-ICH-2015.51.1., holotípus, hím/tejes, 79,3 mm standard hossz; Románia: Sebes-Körös Barátka mellett. A) Élő egyed; B) Tartósított egyed (fotó: Antal L.)

Biharian barbel, *Barbus biharicus*, HHNM-ICH-2015.51.1., holotype, male, 79.3 mm SL; Romania: Sebes-Körös River (Crișul Repede) at Bratca. A) Living individual; B) Fixed and preserved individual (photo: L. Antal)