

Szent István Egyetem

**A magyarországi törpeharcsák (*Ameiurus spp.*)  
vizsgálata morfológiai bélyegek valamint molekuláris  
genetikai módszerek segítségével**

**Doktori értekezés tézisei**

Szabóné Béres Beatrix

Gödöllő

2018

## **A Doktori Iskola**

**megnevezése:** Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola

**tudományága:** Állattenyésztési tudományok

**vezetője:**

**Dr. habil. Mézes Miklós**

a Magyar Tudományos Akadémia rendes tagja, tanszékvezető, egyetemi tanár

Szent István Egyetem; Mezőgazdaság – és Környezettudományi Kar, Állattudományi Alapok Intézet, Takarmányozástani Tanszék

**témavezetők:**

**Dr. Urbányi Béla, D.Sc.**

a Magyar Tudományos Akadémia doktora, tanszékvezető, egyetemi tanár

Szent István Egyetem  
Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar  
Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet  
Halgazdálkodási Tanszék

**Dr. Kovács Balázs, Ph.D.**

Tudományos főmunkatárs

Szent István Egyetem  
Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar  
Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet  
Halgazdálkodási Tanszék

-----  
Az iskolavezető jóváhagyása

-----  
A témavezetők jóváhagyása

# 1. TARTALOMJEGYZÉK

1.	TARTALOMJEGYZÉK.....	3
2.	A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK.....	5
2.1	A munka előzményei.....	5
2.2	Célkitűzéseim.....	6
3.	ANYAG ÉS MÓDSZER .....	7
3.1	A vizsgálatok helyszínei.....	7
3.2	A morfológiai vizsgálatok.....	8
3.3	DNS kinyerés, tárolás.....	8
3.4	A fajspecifikus genetikai markerek azonosítása.....	9
3.5	Multiplex PCR reakció a fajok azonosításához.....	10
3.6	Mitokondriális DNS-analízis.....	10
3.7	PCR termékek szekvencia meghatározása .....	10
3.8	Az eredmények statisztikai elemzése .....	11
4.	AZ EREDMÉNYEK.....	12
4.1	Új fajspecifikus nukleáris genomi DNS markerek azonosítása és jellemzése <i>A. melas</i> ból és <i>A. nebulosus</i> ból.....	12
4.2	Az <i>A.melas</i> , az <i>A.nebulosus</i> és hibridjeik azonosítására szolgáló PCR-alapú marker-teszt kidolgozása .....	13
4.3	A törpeharcsák COI mitokondriális szekvenciaanalízise .....	14
4.4	A múzeumi példányok genetikai vizsgálata .....	15
4.5	Főkomponens analízis .....	15

## 1.TARTALOMJEGYZÉK

5.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	16
6.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	19
7.	TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK.....	20
7.1	Az értekezés témakörében megjelent tudományos publikációk.....	20
7.2	Az értekezés témájában tartott előadások .....	20
7.3	Az értekezés témájában megjelent poszter, absztrakt .....	21
7.4	Könyvfejezet.....	23
7.5	Egyéb, nem az értekezés témájában megjelent tudományos publikációk ....	23
8.	IRODALOMJEGYZÉK .....	25

## 2. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

### 2.1 A munka előzményei

A törpeharcsák (*Ameiurus spp.*, angol megfelelője: bullhead catfish) hazánkban igen elterjedt, de nem őshonos lakói. Az ember tudatos, de gyakran nem kellően átgondolt telepítő munkája következtében az elmúlt évszázadban eredeti élőhelyéről (Észak-Amerika) sokfelé széthurcolták. Behurcolása, mint tógazdasági tenyésztésre alkalmas halfajé- egyrészt nyugatra, Idaho államba és Kaliforniába, másrészt a dél-amerikai, ázsiai és európai kontinens felé történt. A honosítás olyan jól sikerült, hogy néhány évtized alatt a törpeharcsa eljutott a Brit-szigetek kivételével Európa szinte valamennyi országába (PINTÉR 1976). Az eredeti élőhelyén a jó növekedési erélye miatt ígéretes, gazdaságilag fontos hálnak tartották, Európában azonban nem érte el a tőle elvárt célt. Ennek ellenére robusztus teste, impozáns, arányos megjelenése teret adott a díszakváriumokban való terjesztésére is.

A fajok közötti természetes hibridizáció és introgresszió jelei nagyon sok taxonómiai csoportban kimutathatóak (RIESEBERG 1997, ARGUE és DUNHAM 1999, HARDMAN és PAGE 2003, PAYSEUR et al. 2004, SANZ et al. 2009). Ennek a folyamatnak számos evolúciós és ökológiai következménye lehet, például egyes rendszertani csoportok összeolvadásával (RHYMER és SIMBERLOFF 1996) szaporodásukban elszigetelt új fajok, új hibridek jelenhetnek meg, melyekben hozzájárulnak az örökítő anyag fajok közötti áramláshoz introgresszió útján (ARNOLD és MARTIN 2009).

Bizonyos esetekben ez a jelenség az emberi beavatkozásoknak köszönhető vagy a fajok inváziójához is köthető (JOSE MADEIRA et al. 2005, BUCCIARELLI et al. 2002). Az emberi beavatkozások és hatások nagymértékben befolyásolják az édesvízi halak populációinak változását (FERGUSON 1990, CROSS, 2000). Az

## 2. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

introgresszió megváltoztatja a résztvevő fajok genetikai hátterét, ami befolyásolja adaptációs és inváziós képességüket, valamint a fajokat elválasztó ökológiai és biológiai határokat. A törpeharcsa fajok esetében pontosan ez a jelenség figyelhető meg Magyarországon is. Kutatómunkám során a Magyarországra behurcolt törpeharcsa fajok előfordulását, jellemző fenotípusos bélyegeit és hibridizációját vizsgáltam morfológiai és molekuláris genetikai módszerekkel. Mivel nem őshonos, invazív, gazdasági és ökológiai károkat okoz, vizsgálata kiemelkedően fontos a hazai természetes vízi akvakultúra szempontjából.

### 2.2 Célkitűzéseim

A vizsgálataimban megfogalmazott célkitűzéseim a következőekben foglalom össze:

1. Az egyes törpeharcsa fajok morfológiai bélyegeinek vizsgálata több magyarországi populációból gyűjtött reprezentatív számú minta alapján.
2. Molekuláris genetikai vizsgálati módszer fejlesztése az Európába behurcolt három faj (*A. melas*, *A. nebulosus* és *A. natalis*) és hibridjeik elkülönítésére.
3. Mitokondriális szekvencia vizsgálatok elvégzése a Magyarországra behurcolt fajok azonosításához.
4. A tiszta fajok és hibridek előfordulási gyakoriságának becslése genomi markerek és mitokondriális szekvenciák, valamint fenotípus összehasonlítások alapján.

## 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 3.1 A vizsgálatok helyszínei

A kísérletekben Magyarország egyes vízgyűjtő területein, természetes körülmények között élő törpeharcsa egyedek kerültek kifogásra különböző módszerekkel. Ezek közül a horgászhoroggal és az elektromos halászgéppel fogott egyedek szerepeltek döntő többségében. Előfordult olyan eset is, amikor varsás halászat alkalmával kaptam halakat kutatási célra.

A mintákat a következő tavakból és folyókból gyűjtöttem:

Dráva-folyóból Pécssett (Majláthpuszta) (52 egyed), a Hármaskörös folyóból Gyomaendrődről (8 egyed), a Vaja-tóból (75 egyed), a Pilisvörösvári tóból (13 egyed), az Adácsi-tóból (56 egyed), a Körös-folyóból Dénesmajornál (114 egyed), a Jászsági csatornából (6 egyed) (összeköttetés a Tiszával), a békéscsabai Kettős-Körösből (11 egyed), a Hatvani Lőrinci-tóból (51 egyed) (összeköttetés a Zagyva folyóval), Külső-Béda tóból Mohácsnál (30 egyed) (a Dunával összeköttetés), valamint a Szikra Holtvízből Töserdőben (50 egyed).

Ezen kívül a korábban (1990-ben) összegyűjtött hibrid, *Ictalurus nebulosus pannonicus* alfajként azonosított halak mintáit a Magyar Természettudományi Múzeum Hal Gyűjteménytára bocsátotta a rendelkezésemre. Összesen 1 holotípust és 13 paratípusmintát (azonosítóval) biztosítottak számomra. A halakból izommintákat gyűjtöttem a múzeumi személyzet felügyelete mellett.

A genetikai vizsgálatokhoz, genetikai kontrollként 20 mintát vizsgáltam meg az Európába behozott három törpeharcsa faj mindegyikéből. A mintákat Dr. Hanping-Wang professzor (Ohio State University South Centers) bocsátotta rendelkezésemre. A farokúszókat az USA-ból származó natív élőhelyükről, morfológiai azonosítást követően gyűjtötték össze.

### 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

A morfológia vizsgálatokat a Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halgazdálkodási Tanszékén végeztem. A DNS szintű vizsgálatok a Környezetipari Regionális Egyetemi Tudásközpont (KÖRET) Kutató Laboratóriumában történtek.

#### 3.2 A morfológiai vizsgálatok

A Magyarországon befogott egyedeken morfológiai vizsgálatokat végeztem. Az elemzések során megvizsgáltam azokat a paramétereket, amelyeket megkülönböztető fenotípusként írtak le korábban. Mind szubjektíven értékelhető, mind objektíven mérhető paramétereket alkalmaztam. Megvizsgáltam a halak testszínezetét és ennek alapján az egyedeket két kategóriába osztottam: az olívaöld test sárgás hassal és a szürke test fehér hassal. Megvizsgáltam a bajusz színét, az ivarukat, a test oldalán megjelenő sötét, körülhatárolt foltok vagy pöttyök jelenlétét, a márványozottságot, illetve a szabálytalan oldalon előfordulását, valamint a különböző farokúszó-, hátúszó-, hasúszó- és a farok alatti úszósugárszámot. Ezen kívül vizsgáltam a mellúszótüske fogazottságát is, mely szintén szakirodalmi adatok alapján fajmeghatározó fenotípusos bélyeg.

A halakat minden esetben szegfűszegolaj (*Syzygium aromaticum*) segítségével túlaltattam és ezután végeztem el a morfológiai vizsgálatot. Ezt követően minden egyes egyedről farokúszó mintákat gyűjtöttem, amelyeket  $-20\text{ °C}$ -on abszolút ethanolban tároltam a további feldolgozásig.

#### 3.3 DNS kinyerés, tárolás

A genetikai vizsgálatokat az anyai öröklődést mutató mt DNS vizsgálatával kezdtem. A DNS tisztítása a minta származásától és méretétől függően több módon történt, az esetek többségében, különösen a magyarországi minták esetében, az ún. sós kicsapásos (MILLER et al. 1988) technikát alkalmaztam. Kisebb szövetmintáknál, a fenol-kloroformos DNS tisztítás adott megfelelő



### 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

mennyiségű, tiszta DNS-t. Míg a korábban formalinnal fixált múzeumi minták esetén egy erre a célra fejlesztett speciális kitet alkalmaztam a DNS kinyerésére.

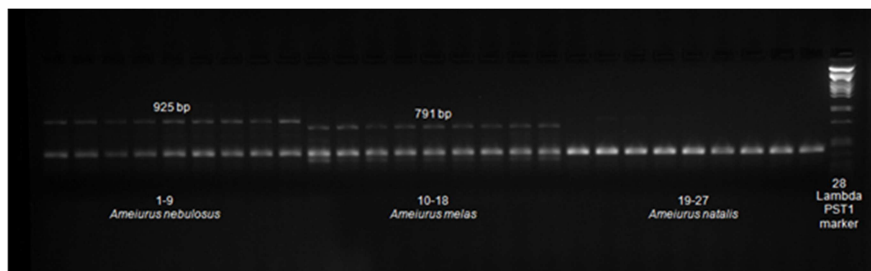
#### 3.4 A fajspecifikus genetikai markerek azonosítása

A mitokondriális PCR-ek adaptálása során, szélsőséges körülmények mellett, egy a citokróm b-specifikus primerpárral (CytB\_L\_14724F és Cytbasa\_R) a várt DNS fragment mellett egy nem várt PCR termék is amplifikálódott az *A. nebulosusból* és *A. melasból* (1. ábra). A fragmentek mérete különböző volt a két fajban, így alkalmasak voltak a fajspecifikus genetikai markerek kifejlesztésére.

Az amplifikált „extra” fragmenteket kivágtam az agaróz gélből, és a QIA Quick Gel Extraction Kit (Qiagen) segítségével izoláltam, a gyártó ajánlásainak megfelelően.

Mindegyik fragmenst pGEM T Easy plazmid vektorba ligáltam pGEM T Easy Vector System alkalmazásával (Promega), majd XL1 Blue E. coli sejtekbe (Stratagene) transzformáltam.

Mindkét faj mintáiból 16-16 megfelelő méretű inserteket tartalmazó klónt, szekvenáltam mindkét szálon, a vektoron tapadó T7 és SP6 primerek segítségével.



**1. ábra:** A CytB\_L\_14724F és Cytbasa\_R primerek fajspecifikus fragmentmintázata. 1-9. *A. nebulosus*; 10-18 *A. melas*, 19-27 *A. natalis*; 28. molekulásúly marker.

### **3.5 Multiplex PCR reakció a fajok azonosításához**

Az *A. nebulosus*, *A. melas* és hibridjeik azonosítására specifikus multiplex és triplex PCR reakciókat hoztam létre és optimalizáltam, HENEGARIU et al. (1997) módszerével.

A korábban meghatározott fajspecifikus szekvenciák alapján egy fajspecifikus primerpárt (Neb\_F, Neb\_R) terveztem Primer Express 3.0.1-vel. (ABI), amely minden egyedben csak egy, azonban a két fajban különböző méretű genomiális fragmentet sokszoroz fel. Emellett felhasználtam egy kontroll (P5 és 16sarL 59) primerpárt (amely a mitokondriális 16s gén egy szakaszát amplifikálja fel) a multiplex reakció létrehozásához.

A lánchosszabbító vagy anneálási hőmérsékletet, a lánchosszabítás időtartamát, valamint az adalékanyagok koncentrációját és a primerek mennyiségét mindaddig változtattam, amíg mind a három termékből (az *A. nebulosus* és az *A. melas* és ezek kevert DNS-éből) megfelelő eredményt nem kaptam.

### **3.6 Mitokondriális DNS-analízis**

Az univerzális FF2d és FR1d primereket (IVANOVA et al. 2007) választottam ki a mitokondriális szekvenciaalapú faj azonosítására. Ezek a primerek a citokróm oxidáz I gén (COI), egy 708 bp hosszúságú szakaszát amplifikálják.

### **3.7 PCR termékek szekvencia meghatározása**

A PCR-amplifikált mitokondriális COI fragmenseket és fajspecifikus fragmenteket tartalmazó plazmidokat NucleoSpin Gel és PCR Clean up (Macherey-Nagel), valamint a nagy sebességű plazmid mini (Geneaid) kitekkel tisztítottam, mielőtt a szekvenálásra sor került volna. A szekvenálást BigDye Terminator szekvenáló KIT-tel (ABI) végeztem el.

### 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

A szekvenciákat ABI Prism 3130 (ABI) szekvenáló segítségével határoztam meg POP7 polimer és 50cm-es kapilláris felhasználásával. A szekvenciákat a FinchTV 1.4 és Mega5 (TAMURA et al. 2011) szoftver segítségével elemeztem, illetve BLAST analízissel hasonlítottam össze az NCBI, GenBank adatbázisában található szekvenciákkal.

#### **3.8 Az eredmények statisztikai elemzése**

A morfológiai eredmények statisztikai értékeléséhez Anova analízist végeztem Tukey-teszttel (HUZSVAI et al. 2012, EVANS 1983).

A főkomponens-analízis (PCA) célja elsősorban az adatok csökkentése és azok összegzése. A vizsgálat megkezdésekor még nagyon sok a változó, amelyek egymással korrelálnak, ezek számát szeretnénk csökkenteni ezzel a módszerrel. Tehát az egymással esetlegesen korreláló változókat kevesebb számú nem korreláló komponensekbe redukálja. A csoportosan korreláló változók pedig a főkomponenseket alakítják ki.

A korreláció kiszámításához, a morfológiai paraméterek és a genotípus (WESSA 2015) közötti korreláció p értékéhez *PCAGEN 1.2.1* szoftvert használtam.

## 4. AZ EREDMÉNYEK

### 4.1 Új fajspecifikus nukleáris genomi DNS markerek azonosítása és jellemzése *A. melas*ból és *A. nebulosus*ból

A mitokondriális citokróm oxidáz B gén szekvenciájának felsokszorozásához tesztelt egyik primer pár (CytB\_L\_14724F és Cytbasa\_R), az optimalizáció során alkalmazott szélsőséges kondíciók mellett, egy halványabb fajspecifikus extra fragmentet is felsokszorozott a várt fragment mellett az *A. nebulosus* és *A. melas* egyedekből, míg az *A. natalis* mintákból csak a várt Cytochrome-b specifikus fragmentet kaptam.

A két "extra fragment" az összes, az eredeti élőhelyről származó minta esetében (20 barna és fekete törpeharcsa kontroll) jelen volt és nem mutattak ellentmondást a két faj egyetlen egyedének mintájában sem.

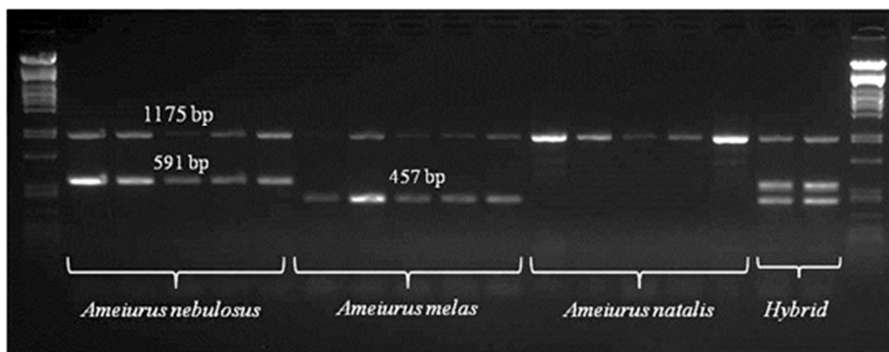
A két fajspecifikus fragment teljes hosszúságú nukleotidszekvenciája meghatározásra és Génbankban elhelyezésre került (génbanki azonosítói: *A. nebulosus*: KX943306, *A. melas*: KX943305).

Az *A. nebulosus* szekvencia hossza 925 bp (KX943306), míg az *A. melas* 791 bp (KX943305) volt. A két szekvencia azonos lókusztól származik, azonban az *A. melas* eredetű szekvenciában 4 db deléción (133bp), 14 db egy bázis páros szubsztitúció és egy darab egy bázis inszerció eltérés található az *A. nebulosus* szekvenciához viszonyítva.

## 4.2 Az *A.melas*, az *A.nebulosus* és hibridjeik azonosítására szolgáló PCR-alapú marker-teszt kidolgozása

A két faj és hibridjeik pontosabb azonosításához új primer párt terveztem (Neb\_F és Neb\_R) a két fajspecifikus szekvencia konszenzus részéhez.

Ez a primer pár az *A. nebulosus*ból és az *A. melas*ból származó 457 bp hosszúságú 591 bp hosszú fragmentet amplifikálta. Ezen kívül mindkét fragmentet amplifikálja a hibrid genomokból (2. ábra).



**2. ábra:** A törpeharcsa fajok azonosítására kifejlesztett multiplex PCR reakció, amely az eredeti, alacsony hatékonyságú adaptált PCR reakciónál sokkal hatékonyabb kimutatást tesz lehetővé. Az első és az utolsó sáv Lambda PstI molekulasúly-marker.

A specifikus markerek mellett számos mitokondriális primer párt teszteltem a multiplex PCR lehetséges kontrolljainak. Végül a P5 és 16sarL 59 primereket választottam, amelyek a 16s gén egy 1,175 bp hosszú fragmensét amplifikálják.

Az optimalizált multiplex PCR két fragmentet adott a fekete (*A. melas*)- és barna (*A. nebulosus*) törpeharcsa egyedek mintáiból és hármat az első generációs hibrid egyedekből származó mintákból, míg a sárga törpeharcsa (*A. natalis*) egyedekből csak a kontroll fragment kimutatható. Ezt azonban a magyarországi minták között nem találtam.

Az összes rendelkezésre álló 466 mintát vizsgáltam a kidolgozott multiplex PCR teszttel. Az eredmények szerint 426 példány volt *A. melas*, 37 példány *A. nebulosus*, míg csak két minta származott első generációs hibrid egyedből. A fekete törpeharcsa minden élőhelyen jelen volt, de a barna törpeharcsa-specifikus fragmentet csak a vajai (19 példány) és töserdői (19 minta) élőhelyekről származó mintákban találtam meg. Emellett a hibrid genotípus (három fragment) csak Töserdőből származó két mintában volt jelen.

### 4.3 A törpeharcsák COI mitokondriális szekvenenciaanalízise

A fajok azonosításához mitokondriális szekvenenciaanalízist végeztem. Ezek során meghatároztam a Cytochrome Oxidase I (COI) gén azon szakaszát, amelyet a fajok azonosítására kidolgozott Barcoding programban a használnak (KOCHZIUS et al. 2010, WARD et al. 2005).

Az alkalmazott univerzális oligók (FF2d, FR1d) jól működtek a vizsgált *Ameiurus* fajokban, és a kívánt méretű (708 bp) méretű fragmentumokat amplifikáltak.

A rendelkezésre álló minták legalább 25%-ának szekvenciáját vizsgáltam minden egyes élőhelyről. Ezt kiegészítettem azokkal a mintákkal, amelyek az *A. nebulosus* genom jelenlétét mutatták a nukleáris genomi DNS-vizsgálatok során, valamint azokkal, amelyek a színezetük alapján egyértelműen fekete törpeharcsaként azonosítottam.

Összesen 176 egyed mitokondriális COI szekvenciáját elemeztem, valamint három mintát minden fajból az amerikai kontrollmintákból. Az Észak-Amerikából származó kontrollminták szekvenciái 100%-ban azonosak voltak a Gene Bank *A. melas*, *A. nebulosus* és *A. natalis* szekvenciáival, a BLAST eredmények alapján.

A 11 hazai élőhely közül mindössze két élőhelyen (Vaja és Töserdő) találtam meg együtt az *A. melas* és *A. nebulosus* fajokat.

A mitokondriális szekvenciák és a sejtmagi marker vizsgálatok eredményének összevetése során két élőhelyen egy-egy (Töserdő,

## 4. EREDMÉNYEK

Jászsági csatorna) az F1-nél későbbi generációból származó genetikailag hibrid egyedet azonosítottam.

Vizsgálataim során 138 magyarországi egyed hordozott *A. melas* (Génbanki azonosítói: KX909375–KX909513) és 37 magyarországi egyed hordozta az *A. nebulosus* eredetű mitokondriális szekvenciát (Génbanki azonosítói: KX909514 - KX909551).

A hibrid egyedek (3 Tőserdő, 1 Jászsági csatorna) anyai öröklődésű mitokondriális szekvenciái és a fenotípusos ivar adatai alapján megállapítható, hogy a hibridizáció mindkét ivari kombinációban megtörténhet.

### 4.4 A múzeumi példányok genetikai vizsgálata

A formalinban fixált mintákból a DNS kinyerése bonyolult és nehézkes, a kinyerhető DNS mennyisége kevés, töredezett és rossz minőségű volt. Azonban a sejtmagi multiplex PCR teszt a legtöbb mintával kielégítő eredményt adott és működött. Összesen 7 példányban találtam *A. melas* specifikus markert, 5 példány pedig hibrid volt a genom DNS tesztek szerint. Sajnos a minták nem voltak alkalmasak a mitokondriális COI gén szekvenálására.

### 4.5 Főkomponens analízis

A genetikai eredmények alapján azonosított három genotípus (*A. melas*, *A. nebulosus* és hibrid) csak a tőserdői élőhelyen volt megtalálható azonos környezeti körülmények közül, így csak itt tudtam összehasonlítani azok morfológiai jellemzőit a genetikai adatokkal. Ennek alapján a fajok fő morfológiai különbségei a test, a hasi színe és a test márványozottsága volt. A két tulajdonság előfordulása 100%-ban megegyezett a genetikai tesztek eredményével és megkülönbözteti a két fajt. A hibridekben ezek a tulajdonságok anyai hatást mutatnak.

## 5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A fajok és a hibrid egyedek azonosításánál a fenotípusos analízis, mint elsődleges módszer (SPECZIÁR és BERCSÉNYI 2009, RUTKAYOVA et al. 2013) igen nagy valószínűséggel hordoz hibát és bizonytalanságot, mivel az egyes egyedek paramétereinek elkülönült értékelése nehezen valósítható meg objektív módon.

Megbízhatóbb azonosítás lehetséges a genetikai fajazonosítással és az egyed eredetének vizsgálatával. A felállított új multiplex genetikai vizsgálati módszer elsősorban az első generációs hibridek azonosítására alkalmas, későbbi generációs hibridek esetében csak korlátozott az információ. Azonban nagyon megbízhatóan működik az *A. melas* és az *A. nebulosus* fajok azonosításában, mind Észak-Amerikából, mind Európából. Továbbá sikeresen alkalmaztam (feltételezhetően első generációs) hibrid minták azonosítására is.

A fajok genetikai azonosításának eredményeit figyelembe véve értékeltem azon morfológiai paraméterek alkalmazhatóságát, amelyeket leggyakrabban használtak azonosító bélyegként. Ennek alapján nyilvánvalóvá vált, hogy a két faj szétválasztásának legszélesebb körben használt jellemzői, sem a farokalatti úszósugárszámok, sem a mellúszósugárszámok nem alkalmasak a két faj megkülönböztetésére a magyar minták esetében és valószínűleg más európai minták esetében sem (HARKA és PINTÉR 1990, RUTKAYOVA et al. 2013).

A vizsgált paraméterek közül a test márványozottsága és a szürke/olajos zöld testszín, vagy a világos/sárga has mutatta a legerősebb korrelációt a fajok genotípusával. Ezt megerősítette a Szikrai-víztározó főkomponens-elemzése is, ahol a két faj és a hibridek együtt található meg a mintavételi területen és a határozó bélyegek megjelenését nem befolyásolhatták a környezeti tényezők.



## 5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Feltételezésem szerint az ellentmondásos fenotípus paraméterek a több generációs hibridizáció következtében alakultak ki, és megfelel annak az elméletnek, amely szerint az egy élőhelyen megtalálható fajkomplexekben a morfológiai és genetikai karakterek szétválasztása generációról generációra csökken, a folyamatos hibridizáció, a visszakeresztezés (backcross), a véletlenszerű szegregáció és a kromoszómák között kialakuló rekombináció miatt. A különböző szülői taxonokból származó különböző genomok keveredése új genetikai kombinációkat generálhat, amelyek új, transzgresszív fenotípusokhoz vezethet, amelyeken a természetes kiválasztódás hatása érvényesül (RIESEBERG et al. 1999, FISS et al. 1997, BELL és TRAVIS 2005, MÜLLER et al. 2010).

Következésképpen további vizsgálatokra van szükség a későbbi generációból (F<sub>x</sub>) származó hibridek morfológiai és genetikai jellemzőinek vizsgálatához és az introgressziós folyamatok modellezésére is. A kifejlesztett multiplex PCR módszer csak további nukleáris genomi markerekkel együtt lehet alkalmas a későbbi generációs hibridek megbízható azonosítására. A hibrid azonosítás matematikai modellezése a későbbi generációkból származó a hibridek besorolásához minimum négy marker szükséges, természetesen ez függ a generációs számtól, de a modell szerint összességében mintegy 70 markert kellene alkalmazni a tiszta fajok és a visszakeresztezett hibrid egyedek biztonságos azonosításához (BOECKLEN és HOWARD 1997).

A marker rendszer kiegészítése további sejtmagi DNS markerekkel, valamint azok alkalmazhatóság, érzékenység és hatékonyság tesztelése mesterségesen létrehozott F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> és talán még későbbi nemzedék (vagy későbbi generációs) hibrid egyedein is ajánlott lenne.

A magyarországi törpeharcsafajok elterjedésének vizsgálata során, a legtöbb mintavételi helynél csak *A. melas-t* találtam. Az *A. nebulosus* a vizsgált 11 élőhely közül csak kettőn volt megtalálható. A sárga törpeharcsa jelenlétét, illetve előfordulását nem tudtam igazolni.

## 5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A 466 vizsgált egyed közül csak kettő volt a hibrid genomi DNS-vizsgálat alapján, míg további két esetben eltérés volt a mitokondriális genom és a nukleáris genomi DNS genotípus eredményei között, ami arra utal, hogy ezek egy későbbi generációból származó hibrid egyedek. Ez összesen az egyedek kevesebb, mint 1% -a, ami hasonló az egyéb introgresszív fajoknál megfigyelt hibridizáció mértékéhez (MALLET 2005). Az introgresszió megváltoztatja a résztvevő fajok genetikai hátterét, ami befolyásolja adaptációs és inváziós képességüket, valamint a fajokat elválasztó ökológiai és biológiai határokat. A törpeharcsa esetében pontosan ez a jelenség figyelhető meg Magyarországon is, amely folyamatok nyomán követése több ökológiai szempontból fontos kérdés modellje is lehet.

Ezen túlmenően a mitokondriális genetikai eredmények szerint a hibridizáció mindkét ivari kombinációban megtörténhetett, mivel azonosítottam olyan hibrid egyedeket, amelyek *A. melas* és olyan hibrid egyedeket is, amelyek *A. nebulosus* mitokondriális DNS-t hordoztak. Ez a jelenség mindössze a hibridizáló fajok egyharmadánál figyelhető csak meg, a legtöbb faj esetén a természetes hibridizáció csak az egyik kombinációban valósul meg (WIRTZ 1999). Az általam vizsgált állományokban az összes hibrid kifejtett ivarszervvel rendelkezett.

Mindezek az eredmények megerősítik azt a hipotézist, hogy a fekete törpeharcsa inváziója elindult, illetve még folyamatban van, és nemcsak Magyarország természetes vizeiből, hanem Európaszerte fokozatosan kiszorítják a barna törpeharcsákat (HARKA 1997, GARCIA-DE-LOMAS et al. 2009, WILHELM 1998, GANTE és SANTOS 2002, LUSK et al. 2010, POPA et al. 2006, NOWAK et al. 2010, KAPUSTA et al. 2010, MOVCHAN et al. 2014, WILHELM et al. 1999) és újabb élőhelyeket hódít meg. Azonban a terjedésének megfigyelése és vizsgálata nagyrészt fenotípusos vizsgálatokon alapul, amit ajánlott lenne megerősíteni genetikai vizsgálatokkal is.

## 6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Izoláltam és jellemeztem, *A. melas* és az *A. nebulosus* fajok azonosítására alkalmas új nukleáris genomi szekvenciákat, amely segítségével lehetőség nyílik mind az európai, mind a magyarországi törpeharcsa állományok egyedeinek fajazonosítására.
2. Egy új, egyszerű, gyors, olcsó és jól ismételhető multiplex PCR alapú módszert fejlesztettem ki az *A. melas*, *A. nebulosus* fajok és hibridjeik azonosítására, valamint az *A. natalis* elkülönítésére.
3. Mitokondriális és nukleáris genetikai vizsgálatok alapján elsőként igazoltam, hogy a magyarországi állományokon az eredeti behurcolt fajok azonosítására használt fenotípusos bélyegek közül a test szürke / olajos zöld színe és a világos / sárga hasa színezet, illetve a test márványozottsága a legalkalmasabb.
4. Tizenegy magyarországi élőhelyről gyűjtött egyedek mitokondriális és nukleáris genomi vizsgálata során bizonyítottam, hogy az *A. melas* és az *A. nebulosus* fajok természetes hibridizációja lezajlik, igen alacsony 1% alatti gyakorisággal.
5. Mitokondriális és nukleáris genetikai vizsgálatokkal bizonyítottam, hogy az *A. melas* és az *A. nebulosus* közötti természetes hibridizáció mindkét ivari kombinációban megtörtént és több generáción keresztül introgresszó alakult ki.
6. A reprezentatív mintavételezésből származó elemzéseim elsőként támasztják alá, genetikai vizsgálatokkal és statisztikai elemzésekkel, azt a megfigyelést, hogy az *A. melas* kiszorítja/ kiszorította vizeinkből a korábban gyakoribb barna törpeharcsát.

## 7. TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

### 7.1 Az értekezés témakörében megjelent tudományos publikációk

**Beatrix Béres**, Dóra Kánainé Sipos, Tamás Müller, Ádám Staszny, Milán Farkas, Katalin Bakos, László Orbán, Béla Urbányi, Balázs Kovács (2017): Species specific markers provide molecular genetic evidence for natural introgression of bullhead catfishes in Hungary; Peer J., 17 page.

**Szabóné Béres** et al. / AWETH Vol 5. 4. (2009) **Szabóné Béres Beatrix**, Müller Tamás, Bakos Katalin, Kovács Balázs, Urbányi Béla (2009): Morfológiai és genetikai vizsgálatok magyarországi törpeharcsákon; „II. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Napok” elektronikus újságcikk, Animal welfare, ethology and housing systems; V. évfolyam, Különszám; p: 459-464; Gödöllő, 2009.október 16-17.

**Béres Beatrix**, Bakos Katalin, Müller Tamás, Kovács Balázs, Urbányi Béla (2010): A törpeharcsa fajok genetikai azonosítása, XVI. Ifjúsági Tudományos Fórum kézirat, Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Keszthely, 2010. március 25. ISBN:978-963-9639-36-2; Állattan-Állatélettan-Takarmányozástan; Szekció; p:1-5

### 7.2 Az értekezés témájában tartott előadások

**Beatrix Beres**, Balazs Kovacs, Tamas Muller, Bela Urbanyi (2009): "Morphological determination and genetic identification of Hungarian bullhead catfish population" International Conference, oral presentation, Trondheim, European Aquaculture Society, Trondheim, Norway 2009.08.14-17; p:104-105

**Szabóné Béres Beatrix**, Müller Tamás, Bakos Katalin, Kovács Balázs, Urbányi Béla (2009): A magyarországi törpeharcsa

## 7. TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

állományok morfológiai és genetikai vizsgálata, „II. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Napok” konferencia előadás, Gödöllő, 2009. október 16-17. p:103.

**Béres Beatrix**, Müller Tamás, Bakos Katalin, Kovács Balázs, Urbányi Béla (2010): A törpeharcsa fajok genetikai azonosítása, XVI. Ifjúsági Tudományos Fórum előadás, Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Keszthely, 2010. március 25. ISBN:978-963-9639-36-2 Állattan-Állatélettan-Takarmányozástan Szekció; p:1-5., KÜLÖNDÍJAS ELŐADÁS.

**Béres Beatrix (2010)**: A magyarországi törpeharcsák vizsgálata morfológiai bélyegek valamint molekuláris genetikai módszerek segítségével, előadás; Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola Fórum (ÁTDI), Gödöllő, 2010. április.30. kivonat: 11-15.

**Béres Beatrix**, Csenki Zsolt, Váradi László (2004): Újabb adalékok a törpeharcsa specialitásaihoz előadás Szent István Egyetem, Halgazdálkodási Tanszék, Gödöllő; XXVIII. Halászati Tudományos Tanácskozás; Szarvas, 2004. május 12-13.

**Béres Beatrix**, Bakos Katalin, Müller Tamás, Urbányi Béla, Kovács Balázs (2010): Molekuláris genetikai vizsgálatok törpeharcsa populációkon, előadás; XXXIV. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas május 12-13.

**Béres Beatrix** (2003): Az érdekes törpeharcsa előadás, Halászati Napok, XXVII. Halászati Tudományos Tanácskozás; Szarvas, 2003. május 7-8.

### **7.3 Az értekezés témájában megjelent poszter, absztrakt**

**Béres Beatrix**, Csenki Zsolt, Váradi László (2004): Újabb adalékok a törpeharcsa specialitásaihoz, XXVIII. Halászati Tudományos Tanácskozás kivonat: 60. p.

**Béres Beatrix**, Staszny Ádám, Kánainé Sipos Dóra, Urbányi Béla, KovácsBalázs (2009): „A magyarországi törpeharcsa állományok

## 7. TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

morfológiai és genetikai vizsgálata” absztrakt és poszter, XXXIII. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas.

**Beatrix Beres**, Balazs Kovacs, Tamas Muller, Bela Urbanyi (2009): ”Morfological determination and genetic identification of hungarian bullhead catfish population”, Trondheim, European Aquaculture Society, Trondheim, Norway 2009.08.14-17.

**Béres Beatrix**, Staszny Ádám, Kánainé Sipos Dóra, Urbányi Béla, Kovács Balázs (2009): „A magyarországi törpeharcsa állományok morfológiai és genetikai vizsgálata” absztrakt és poszter, XXXIII. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas; 2009. május 27-28., p:46.

**Beatrix Beres**, Balazs Kovacs, Tamas Muller, Bela Urbanyi (2009): ”Morfological determination and genetic identification of hungarian bullhead catfish population”, Trondheim, European Aquaculture Society, Trondheim, Norway 2009.08.14-17 p:104-105

**Szabóné Béres Beatrix**, Kovács Balázs, Müller Tamás, Urbányi Béla (2009): A magyarországi törpeharcsa állományok morfológiai és genetikai vizsgálata, „II. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Napok” konferencia kiadvány,; Gödöllő, 2009. **október 16-17.**p:103

**Béres Beatrix**, Bakos Katalin, Müller Tamás, Kovács Balázs, Urbányi Béla (2010): A törpeharcsa fajok genetikai azonosítása, XVI. Ifjúsági Tudományos Fórum kivonat, Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Keszthely, 2010. március 25. ISBN:978-963-9639-36-2 Állattan-Állatélettan-Takarmányozástan Szekció; p:1-5.

**Béres Beatrix**, Bakos Katalin, Müller Tamás, Urbányi Béla, Kovács Balázs (2010): Molekuláris genetikai vizsgálatok törpeharcsa populációkon, kivonat; XXXIV. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas május 12-13. p:19.

**Béres Beatrix** (2010): Fajspecifikus genetikai markerek törpeharcsa fajok vizsgálatához TUDOC nemzetközi konferencia poszter szekció p:18

## 7.4 Könyvfejezet

Dr. Horváth László, **Béres Beatrix**, Dr. Urbányi Béla (2011): Ökológiai szemléletű tógazdálkodás - Haltenyésztés hidrobiológiai alapokon; ISBN 978-963-269-218-0; p:1-167.

Dr. Horváth László, Dr. Tamás Gizella, Szerkesztette: **Béres Beatrix** (2011): Halivadék nevelés, második átdolgozott kiadás. ISBN 963 231 062 4, p:1-118.

## 7.5 Egyéb, nem az értekezés témájában megjelent tudományos publikációk

Han-PingWang, ZexiaGao, **Beatrix Beres**, Joseph Ottobre, Geoff Wallat, Laura Tiu, Dean Rapp, Paul O'Bryant, Hong Yao (2008): Effects of estradiol-17 $\beta$  on survival, growth performance, sex reversal and gonadal structure of bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*; *Aquaculture* 285 (2008) 216–223.

Dr. Horváth László, **Béres Beatrix**, Csorbai Balázs (2010): Hozamcsökkenő energiatorlódások a halastavi ökoszisztémákban, kézirat; *Halászatfejlesztés 33 – Fisheries&AquacultureDevelopment 33*; ISBN:978-963-7120-31-2; p:5-18.

Dr. Horváth László, **Béres Beatrix**, Csorbai Balázs (2010): Szervesanyag-termelés és hasznosítás a halastavakban I. rész A természetes hozam biológiai alapjai; *Halászat* 103.évfolyam 1. szám, 2010 tavasz. p: 3-7.

Dr. Horváth László, **Béres Beatrix**, Csorbai Balázs (2010): Szervesanyag-termelés és -hasznosítás a halastavakban II. rész; *Halászat* 103.évfolyam 3. szám, 2010 tavasz. p: 86-97.

Dr. Horváth László, **Béres Beatrix**, Bokor Zoltán, Csorbai Balázs (2010): Szervesanyag-termelés és -hasznosítás a halastavakban III. rész; *Halászat* 103.évfolyam 4. szám, 2010 tél. p: 119-126.

Urbányi Béla, Müller Tamás, Bokor Zoltán, Szabó Tamás, **Béres Beatrix**, Horváth László (2011): Gazdasági haszonhalak és őshonos

## 7. TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

halfajok szaporítási és ivadéknevelési kutatásainak eredményei,  
Állattenyésztés és Takarmányozás folyóirat, 2011. 60. 3. p: 247–  
262.



## 8. IRODALOMJEGYZÉK

- ARGUE, B. J., DUNHAM, R. A. (1999). Hybrid Fertility, Introgression, and Backcrossing in Fish. *Reviews in Fisheries Science*.
- ARNOLD, M. L., MARTIN, N. H. (2009). Adaptation by introgression. *Journal of Biology*, 8(9), 82. <https://doi.org/10.1186/jbiol1176>
- BELL, M. A., TRAVIS, M. P. (2005). Hybridization, transgressive segregation, genetic covariation, and adaptive radiation. *Trends in Ecology and Evolution*. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.04.021>
- BOECKLEN, W. J., HOWARD, D. J. (1997). Genetic Analysis of Hybrid Zones : Numbers of Markers and Power of Resolution. *Ecology*, 78(8), 2611–2616.
- BUCCIARELLI, G., GOLANI, D., BERNARDI, G. (2002). Genetic cryptic species as biological invaders: the case of a Lessepsian fish migrant, the hardyhead silverside *Atherinomorusc lacunosus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 273(2), 143–149. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(02\)00138-7](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(02)00138-7)
- CROSS, T. F. (2000). Genetic implications of translocation and stocking of fish species, with particular reference to Western Australia. *Aquaculture Research*, 31(1), 83–94. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00439.x>
- EVANS, S. (1983). Uses and abuses of analysis of variance. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 15(6), 629–648. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1983.tb01544.x>
- FERGUSON, M. M. (1990). The genetic impact of introduced fishes on native species. *Canadian Journal of Zoology*. <https://doi.org/10.1139/z90-153>
- FISS, F. C., SAMMONS, S. M., BETTOLI, P. W., BILLINGTON, N. (1997). Reproduction among saugeyes (F sub(x) hybrids) and walleyes in Normandy Reservoir, Tennessee. *North*

## 8. IRODALOMJEGYZÉK

- American Journal of Fisheries Management* [N.A.M.J.FISH.MANAGE.], 17(1), 215–219.  
[https://doi.org/10.1577/1548-8675\(1997\)017<0215](https://doi.org/10.1577/1548-8675(1997)017<0215)
- GANTE, H. F., SANTOS, C. D. (2002). First records of the North American catfish *Ameiurus melas* in Portugal. *Journal of Fish Biology*, 61(6), 1643–1646. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb02504.x>
- GARCIA-DE-LOMAS, J., DANA, E. D., LÓPEZ-SANTIAGO, J., GONZÁLEZ, R., CEBALLOS, G., ORTEGA, F. (2009). First record of the North American black bullhead *Ameiurus melas* (Rafinesque, 1820) in the Guadalquivir Estuary (Southern Spain). *Aquatic Invasions*, 4(4), 719–723.  
<https://doi.org/10.3391/ai.2009.4.4.23>
- HARDMAN, M., PAGE, L. M. (2003) Phylogenetic Relationships among Bullhead Catfishes of the Genus *Ameiurus* (Siluriformes: Ictaluridae). *Copeia*, 2003(1), 20–33.  
[https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2003\)003\[0020:PRABCO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2003)003[0020:PRABCO]2.0.CO;2)
- HARKA, ÁKOS , KÁROLY, PINTÉR (1990). Systematic status of hungarian bullhead pout: *Ictalurus nebulosus pannonicus* ssp.n. *Tiscia (Szeged)*, 25., 65–73.
- HARKA ÁKOS (1997). Terjed a vizeinkben a fekete törpeharcsa (in Hungarian). *Halászat*, 90., 109–110.
- HENEGARIU, O., HENEGARIU, O., HEEREMA, N., HEEREMA, N., DLOUHY, S., DLOUHY, S., VOGT, P. (1997). Multiplex PCR: critical parameters and step by step protocol. *Bio Techniques*, 23(September), 504–511.
- HUZSVAI, L., VINCZE, S. (2012). *SPSS-könyv*. Seneca Books.
- IVANOVA, N. V., ZEMLAK, T. S., HANNER, R. H., HEBERT, P. D. N. (2007). Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes*, 7(4), 544–548.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01748.x>
- JOSE MADEIRA, M., GOMEZ-MOLINER, B. J., BARBE, A. M. (2005). Genetic introgression on freshwater fish populations caused by restocking programmes. *Issues in Bioinvasion Science: EEI 2003: A Contribution to the Knowledge on*

## 8. IRODALOMJEGYZÉK

- Invasive Alien Species*, 117–125. [https://doi.org/10.1007/1-4020-3870-4\\_11](https://doi.org/10.1007/1-4020-3870-4_11)
- KAPUSTA, A., MORZUCH, J., PARTYKA, K., & BOGACKA-KAPUSTA, E. (2010). First record of brown bullhead, *Ameiurus nebulosus* (Lesueur), in the Łyna River drainage basin (northeast Poland). *Archives of Polish Fisheries*, 18(4). <https://doi.org/10.2478/v10086-010-0030-z>
- KOCHZIUS, M., SEIDEL, C., ANTONIOU, A., BOTLA, S. K., CAMPO, D., CARIANI, A., BLOHM, D. (2010). Identifying fishes through DNA barcodes and microarrays. *PLoS ONE*, 5(9), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012620>
- LUSK, S., LUSKOVA, V., HANEL, L. (2010). Alien fish species in the Czech Republic and their impact on the native fish fauna. *Folia Zool.*, 59(1), 57–72. Retrieved from [http://www.ivb.cz/fofia\\_zoologica/archive/59\\_57-72.pdf](http://www.ivb.cz/fofia_zoologica/archive/59_57-72.pdf)
- MALLET, J. (2005). Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology and Evolution*. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.010>
- MILLER, S. A., DYKES, D. D., POLESKY, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16(3), 1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>
- MOVCHAN, Y. V, TALABISHKA, E. M., VELIKOPOLSKIY, I. J. (2014). Fishes of the genus *Ameiurus* (Ictaluridae, Siluriformes) in the transcarpathian water bodies. *Vestnik Zoologii*, 48 (2), 149–156. <https://doi.org/10.2478/vzoo-2014-0015>
- MÜLLER TAMÁS, TALLER JÁNOS, KOLICS BALÁZS, KOVÁCS BALÁZS, URBÁNYI BÉLA (2010). First record of natural hybridization between pikeperch (*Sander lucioperca*) and Volga pikeperch (*S. volgensis*). *Journal of Applied Ichthyology*, 26, 481–484.
- NOWAK, M., KOSCO, J., SZCZERBIK, P., MIERZWA, D., & POPEK, W. (2010). When did the black bullhead, *Ameiurus melas* (Teleostei: Ictaluridae), arrive in Poland? *Arch. Pol. Fish*, 18, 183–186. <https://doi.org/10.2478/v10086-010-0021-0>

## 8. IRODALOMJEGYZÉK

- PAYSEUR, B. A., KRENZ, J. G., NACHMAN, M. W. (2004). Differential patterns of introgression across the X chromosome in a hybrid zone between two species of house mice. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 58(9), 2064–2078. <https://doi.org/10.1554/03-738>
- PINTÉR KÁROLY (1976). A Törpeharcsa (*Ictalurus nebulosus*, Le Sueur). *Halászat*, 69.évf.mel, 113.
- POPA LUIS OVIDIU , POPA OANA PAULA, P. E. I., IFTIME ALEXANDRU, M. S., DIACONU FLORINA, M. D. (2006). The First Record Of *Percottus Glenii* Dybowski, 1877 (Pisces: Odontobutidae) And *Ameiurus melas* Rafinesque, 1820 (Pisces: Ictaluridae) From The Romanian Sector Of The Danube. *Travaux Du Muséum National d'Histoire Naturelle «Grigore Antipa»*, XLIX (49.), 323–329.
- RHYMER, J. M., SIMBERLOFF, D. (1996). Extinction By Hybridization And Introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics*. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.27.1.83>
- RIESEBERG, L. H. (1997). Hybrid Origins Of Plant Species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 28, 359–89. Retrieved from <https://pdfs.semanticscholar.org/1daf/ae0eaa3cd62772689eefa392ea855cad1985.pdf>
- RIESEBERG, L. H., ARCHER, M. A., WAYNE, R. K. (1999). Transgressive segregation, adaptation and speciation. *Heredity*, 83, 363–372. Retrieved from <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.581.9200&rep=rep1&type=pdf>
- RUTKAYOVA, J., BISKUP, R., HARANT, R., SLECHTA, V., KOSCO, J. (2013). *Ameiurus melas* (black bullhead): Morphological characteristics of new introduced species and its comparison with *Ameiurus nebulosus* (brown bullhead). *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 23(1), 51–68. <https://doi.org/10.1007/s11160-012-9274-6>
- SANZ, N., ARAGUAS, R. M., FERNANDEZ, R., VERA, M., & GARCIA-MARIN, J.-L. (2009). Efficiency of markers and methods for detecting hybrids and introgression in stocked populations. *Conservation Genetics*, 10(1), 225–236. <https://doi.org/10.1007/s10592-008-9550-0>

## 8. IRODALOMJEGYZÉK

- SPECZIÁR A., BERCSÉNYI M., MÜLLER, T. (2009). Morphological characteristics of hybrid pikeperch. *Acta Zool Acad Sci*, 55 (1)(1), 39–54.
- 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(10), 2731–2739. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
- WARD, R. D., ZEMLAK, T. S., INNES, B. H., LAST, P. R., HEBERT, P. D. N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 360(1462), 1847–1857. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1716>
- WESSA, P. (2015). Free Statistics Software, Office for Research Development and Education.
- WILHELM SÁNDOR (1998). A fekete törpeharcsa (*Ictalurus melas* Rafinesque 1820) térhódítása az Ér folyó völgyében.
- WILHELM SÁNDOR (1999). A Berettyó és Ér folyók fekete törpeharcsa (*Ictalurus melas*, Rafinesque, 1820) állományának biometriai vizsgálata, 131–134.
- WIRTZ, P. (1999). Mother species-father species: unidirectional hybridization in animals with female choice. *Animal Behaviour*, 58(1), 1–12. <https://doi.org/10.1006/anbe.1999.1144>