

Konzervációbiológiai és molekuláris taxonómiai vizsgálatok a magyar vakcsiga (*Bythiospeum hungaricum* (Soós, 1927)) populációján a Mecsek hegység két barlangjában

ANGYAL DOROTTYA

Bevezetés

A Mecsek földalatti vizeinek egyik karakterisztikus, bennszülött gerinctelen faja a magyar vakcsiga (*Bythiospeum hungaricum* (Soós, 1927)). A fajt Soós Lajos 1927-ben írta le eredetileg *Lartetia hungarica* néven (további szinonim elnevezései: *Paladilhia hungarica*, *Paladilhiopsis hungarica*) egy Dudich Endre és Gebhardt Antal által 1927. január 18-án, az Abaligeti-barlang patakjából gyűjtött típuspéldány alapján. Eszerint az állat nagyon kicsiny, háza 2,2 mm magas és 0,9 mm átmérőjű, kúpos-hengeres alakú, tompa csúcsú, üvegszerűen átlátszó. A héj nyílása kissé jobbra kiugró, tojásdad alakú, alul szélesebb, felül keskenyebb ívben kerekített (Soós 1927).

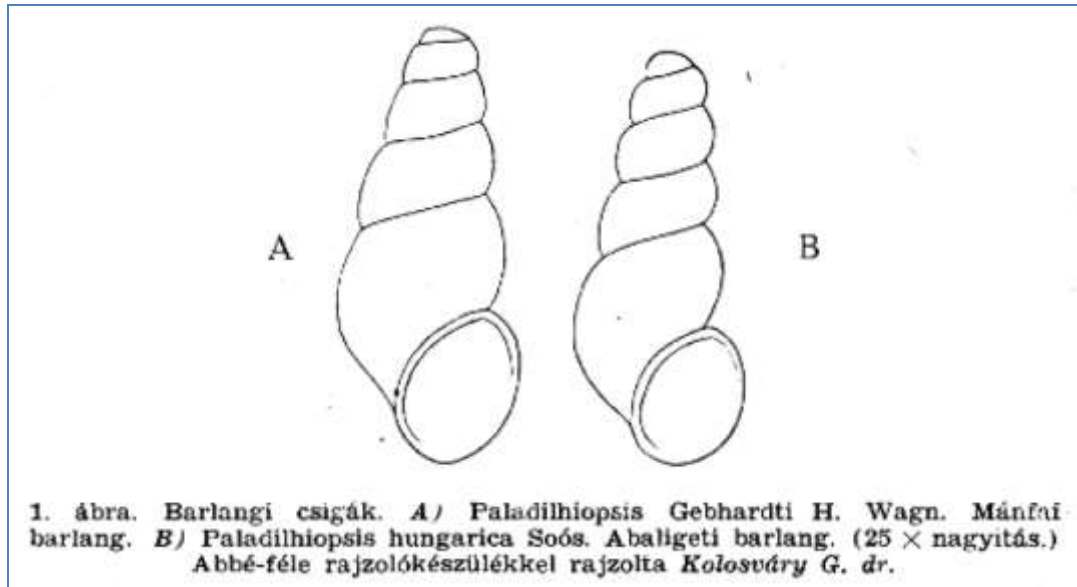
1. **ábra:** *Bythiospeum hungaricum* (Soós, 1927) héjak az Abaligeti-barlang patakjából (Leg.: Angyal D., 2010. 10. 11).



1931-ben Gebhardt újabb vakcsiga egyedeket talált a Nyugat-Mecsek keleti peremén fekvő forrásbarlangban, a Mánfai-kőlyukban. A minta Wágner Jánoshoz került, aki ez alapján új fajt írt le, melyet – a gyűjtő tiszteletére – *Paladilhiopsis gebhardti* H. Wagner, 1931 névvel illetett (H. Wagner 1931). A két barlangból gyűjtött példányok közötti fő alaktani különbségként a mánfai egyedek héjának kevésbé karcos alakját találta. Emellett úgy vélte, hogy a két barlang vízrendszere nincs összeköttetésben egymással, s hogy az ekként elszigetelt biotópok létfeltételei az egykor nyilván azonos fajnak különválásához vezettek (Gebhardt 1933). Később felszíni karsztvizekből, így a

kantavári forrásból és a Mélyvölgy 2. számú forrásából is közöltek előfordulási adatokat (Wágner 1942, Gebhardt 1958).

2. **ábra:** A két *Paladilhiopsis* fajt összehasonlító ábra Wágner János 1942-ben, „Magyarország barlangjainak puhatestű faunája” címen publikált közleményéből (Barlangvilág, 1-2.).



1956-ban a Természettudományi Múzeumban elpusztult a két taxon ott őrzött típusanyaga, ezért egy későbbi revízió során Pintér László a *Lartetia hungarica* fajnak neotypust jelölt ki (Pintér 1968) és a szignifikáns morfológiai különbségek hiányára és a barlangok egymással érintkező vízrendszerére hivatkozva amellettt érvelt, hogy a *P. gebhardtii* ezzel konspecifikus (lásd még Fehér et al. (2006)). A jelenleg elfogadott álláspont szerint a Fauna Europaea szinonim névként kezeli a *B. gebhardtii*-t (Bank 2011). A legutóbbi Vörös lista értékelés is ez alapján történt (Sólymos és Fehér 2011), ahol a *B. hungaricum* a sérülékeny (Vulnerable – VU) kategóriába került, amit azzal indokoltak, hogy szűk elterjedési körű, endemikus fajról van szó (Sólymos et al. 2006).

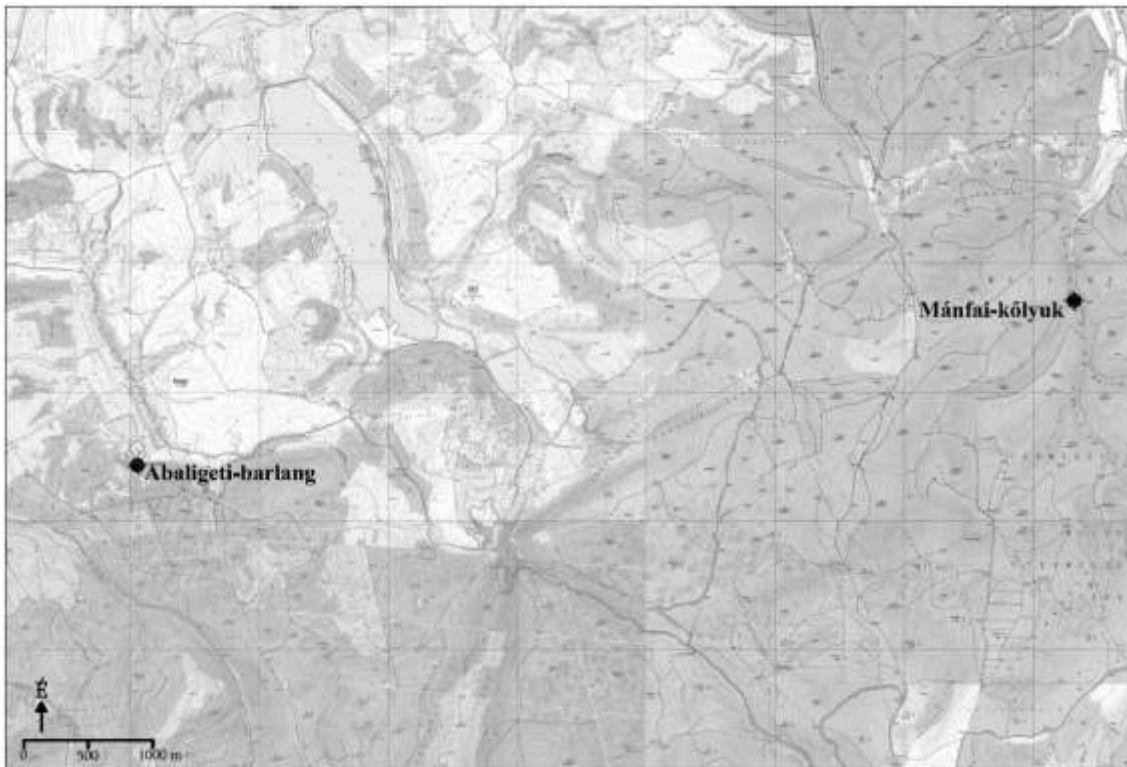
Sólymos et al. (2007) a hazai puhatestű fauna védelmével kapcsolatos prioritásokat megvitató közleményükben a *B. hungaricum* helyzetét megnyugtatónak találták az alapján, hogy a faj is védett és élőhelye is védelem alatt áll. Sólymos et al. (2007) azonban figyelmen kívül hagyták azt a tényt, hogy Magyarországon a barlangok nem voltak mindig *ex lege* védettek és az elmúlt fél évszázadban a magyar vakcsiga élőhelyéül szolgáló barlangokat emberi beavatkozások egész sora érte. Az Abaligeti-barlangot 1957-ben kezelésbe vette a Baranya megyei Idegenforgalmi Hivatal és a főág teljes hosszában betonjárdát, hidakat, lépcsőket, korlátokat és elektromos világítást létesített, megnyitva ezzel a barlangot a nagyközönség számára (Havasi et al. 2003). A Mánfai-kölyuk drasztikusabb beavatkozás áldozata lett: a komlói vízmű a barlang forrását vízkivételre és víztárolásra foglalta a város vízellátása céljából. 1969-ben egy mesterséges tárót hajtottak a barlangra, benne betongátat emeltek, a tárót csővezetékekkel építették be. E beavatkozások hatására a Mánfai-kölyuk nagy része elvesztette természetes jellegét (Kordos 1984). Mivel feltételezésem szerint a kiépítések a barlangok vizeit kolonizáló gerinctelen fajok – így a *B. hungaricum* – létét is befolyásolhatták, indokoltnak találtam a faj természetvédelmi helyzetének felmérését.

Ma már tudjuk, hogy a két barlang felszíni vízgyűjtő területének nincs közös határa és az elvégzett vízfestések sem bizonyítják a barlangok hidrológiai összeköttetését (Berényi Üveges 2012, szóbeli közlés). Így módon elképzelhető, hogy az egymástól elszigetelten fejlődő populációk a genom szintjén észlelhető változásokon mehetek keresztül. Éppen ezért molekuláris taxonómiai vizsgálatot végeztünk az Abaligeti-barlangból és a Mánfai-kőlyukból gyűjtött példányokon annak eldöntésére, hogy mekkora köztük a genetikai távolság és ez mikori szétválást valószínűsít, illetve, hogy ez alapján a két populáció tekinthető-e külön konzervációbiológiai egységnek vagy akár külön taxonnak.

Anyag és módszer

2010. szeptember és 2011. november között több alkalommal végeztem gyűjtéseket az Abaligeti-barlangban és a Mánfai-kőlyukban. Mintavételi módszerként egyelést, planktonhálózást és vízi csapdákat (fálevelekkel töltött, kilyuggatott, vízbe süllyesztett nejlonszakokat) alkalmaztam. Az egyedeket 96%-os etanolban fixáltam, a vízi csapdákból származó mintákat ALPHA STO-4-65 zoom sztereomikroszkóp alatt válogattam. A csigapéldányok azonosítását Fehér Zoltán (MTM Állattára) végezte. A *B. hungaricum*-ról készült felvételeket ALPHA DCM 510 USB kamera segítségével készítettük (PE-GK, Állattani és Állattenyésztési Tanszék). A barlangok aktuális állapotáról, a bennük található természetes képződményekről és ipari műtárgyakról fotódokumentációt készítettem.

3. ábra: Az Abaligeti-barlang és a Mánfai-kőlyuk elhelyezkedése a Mecsekben.



A molekuláris vizsgálatok a Magyar Természettudományi Múzeum Molekuláris Taxonómiai Laboratóriumában zajlottak 2011. október és november havában. A munkálatok során a laboratórium vezetője, Krízsik Virág volt segítségemre.

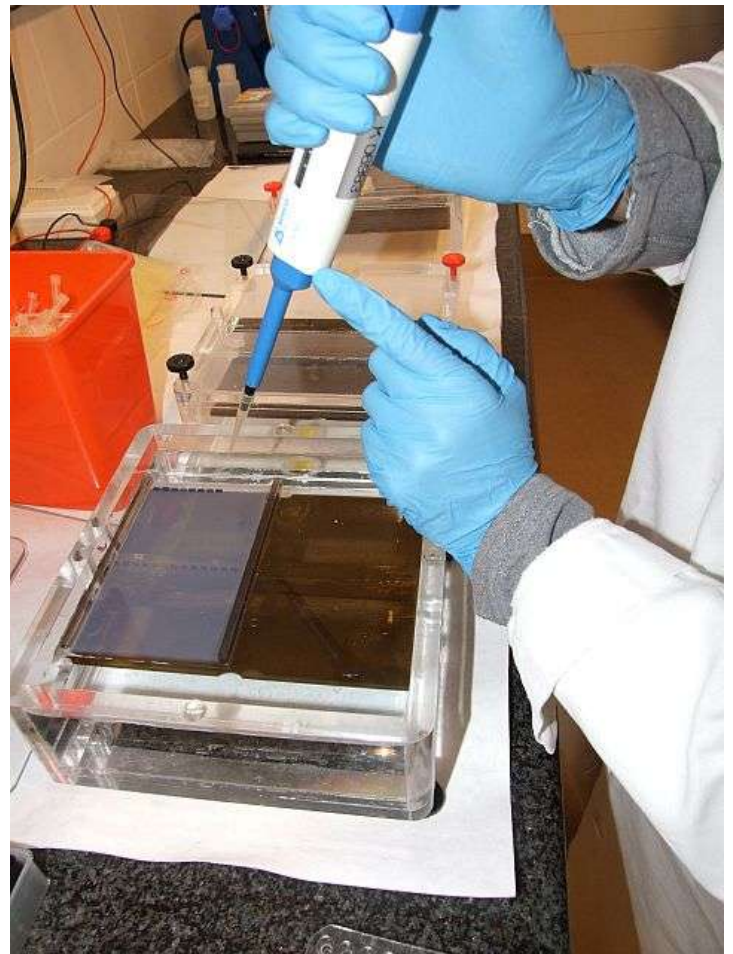
A DNS analízis menete:

Az Abaligeti-barlangból és a Mánfai-kőlyukból gyűjtött 4-4 *Bythiospeum* példányt vákuum centrifuga segítségével kiszárítottuk, majd sztereomikroszkóp alatt eltávolítottuk róluk a héjat. Az állatokat Polycar AT redukáló puffer hozzáadásával porrá törtük. Az eképpen előkészített mintákból a QIAamp DNA Micro Kit segítségével izoláltuk a DNS-t (4. ábra). Az eljárás főbb lépései a sejtek lizálása, a DNS kötődése a QIAamp Min Eluate oszlop membránjához, a membrán lemosása és a DNS adszorbensről való leoldódása. A DNS koncentrációját az egyes mintákban gélelektroforézis (5. ábra) és nanodrop segítségével ellenőriztük. Ezután polimeráz láncreakció segítségével (PCR) amplifikáltuk a nagy variabilitású mitokondriális gén, a citokróm-oxidáz I. gén (COI) egy szakaszát. A PCR során forward primerként LCO 1490-t, reverse primerként COI-H-t, polimerázként Dream Taq-ot alkalmaztunk. A kész PCR termékeket Roche High Pure Purification Kit segítségével tisztítottuk, majd szekvenáló PCR-rel szekvencia analízist végeztünk.

4. ábra: DNS izolálás a mintákból.



5. ábra: A DNS-koncentráció kimutatása gélelektroforézissel.



Eredmények

Mindkét barlangból sikerült magyar vakcsiga példányokat gyűjtenem. Az Abaligeti-barlangban a főági patakban, a kövek alját és a patakmedret átvizsgálva több helyről is előkerültek egyedek, legtávolabbról a bejárattól számított 440 méteres távolságból. A Mánfai-kőlyukból az alsó, patakos járatból és a felső, vízmű által hasznosított mesterséges táróban található csorgavízgyűjtő csatornából is gyűjtöttem *Bythiospeum* példányokat.

1. táblázat: A 2010. szeptember és 2011. november között gyűjtött *B. hungaricum* minták néhány adata

Gyűjtés dátuma	Barlang neve	Lelőhely a barlangon belül	Mintavétel módja	Példányszám	Megjegyzés
2010.09.26	Abaligeti-barlang	főági patak, bejárattól kb. 330 m-re, patakmederben	planktonháló	2	üres házak
2010.09.26	Abaligeti-barlang	főági patak, bejárattól kb. 440 m-re, patakmederben	planhtonháló	1	-
2010.10.11	Abaligeti-barlang	főági patak, bejárattól kb. 230 m-re, kövek alján és patakmederben	egyelés, planktonháló	8	-
2010.10.11	Abaligeti-barlang	főági patak, bejárattól kb. 330 m-re, patakmederben	planktonháló	1	üres ház
2010.12.22	Mánfai-kőlyuk	2. számú vízi csapda (felső járat, mesterséges táró, csorgavízgyűjtő csatorna aljzatán)	vízi csapda	7	-
2011.10.21	Mánfai-kőlyuk	felső járat, mesterséges táró, csorgavízgyűjtő csatorna aljzatán	egyelés	13	a példányok feketék a rájuk rakódott mangán bevonattól
2011.10.21	Mánfai-kőlyuk	alsó járat, járatba levezető létra aljától 3 m-re, agyagon	egyelés	7	a példányok feketék a rájuk rakódott mangán bevonattól

A molekuláris taxonómiai vizsgálat eredménye szerint a két barlangból származó példányok COI génjének 675 bázispáron való összehasonlításakor 6,8% különbség mutatkozott.

Diszkusszió

Az újabb faunisztikai adatok alapján elmondható, hogy az emberi beavatkozás ellenére mindkét vizsgált barlangban fennmaradtak a magyar vakcsiga populációi. Az Abaligeti-barlang kiépítése, látogathatóvá tétele nem érintette közvetlenül a barlang vízrendszerét, így a vízi faunaelemek továbbra is megtalálhatják létfeltételeiket a barlangban. Ez sajnos nem mondható el a – ma már fokozottan védett – Mánfai-kőlyukról, ahol a barlang vizét visszaduzzasztásos módszerrel hasznosították. A jelenlegi végpontot egy cső kimenettel ellátott vasbeton gát jelenti, mely mögött a járatot alighanem a mennyezetig érő vízoszlop tölti ki. Ez a járatrész tehát, ami egykor bennszülött vízi gerincteleneknek adott otthont (Gebhardt 1963), ma már hozzáférhetetlen. Habár a vízmű általi kiépítés a Mánfai-kőlyuk gerinctelen faunájának elszegényedését, endemikus, valódi barlanglakó fajok eltűnését és zavart emberi környezetet kedvelő fajok megtelepedését okozta, örömdetes, hogy a *B. hungaricum* – az ipari körülményekhez alkalmazkodva – továbbra is kolonizálja a barlang vizeit. E szűk elterjedési körű, endemikus faj fennmaradása érdekében azonban javasolnám a védettség fokozását, de ami talán ennél is fontosabb: a Mánfai-kőlyuk mielőbbi rehabilitációját.

A két barlangból származó egyedek közti 6,8%-os COI gén béli eltérés meglepően nagy és azt bizonyítja, hogy a két populáció nagyon régóta, csaknem kétmillió éve egymástól elszigetelten fejlődik. A különbség nem elég nagy ahhoz, hogy két külön fajként kezeljük az Abaligeti-barlangot és a Mánfai-kőlyukat kolonizáló vakcsiga populációkat. Az alfaji szintű elválás azonban lehetséges, aminek eldöntése további – elsősorban morfológiai – vizsgálatokat igényel. Fontos lenne továbbá a faj pontos helyzetének megállapítása a *Hydrobiidae* családon belül egy filogenetikai fa felállításával.

Az utóbbi időben a faj több mecseki forrásból is előkerült (Uherkovich 2010). Érdekes lenne annak vizsgálata is, vajon jelentkezik-e bármilyen alaktani vagy élettani különbség a forrásokban és a barlangi vizekben élő populációk egyedi között, vannak-e leírható jegyei a barlangi körülményekhez való alkalmazkodásnak.

Köszönetnyilvánítás: Köszönetemet fejezem ki Krízsis Virágnak (MTM Molekuláris Taxonómiai Laboratórium) a laboratóriumi munkában nyújtott útmutatásáért, Fehér Zoltánnak (MTM Állattára) a minták meghatározásáért és szakmai tanácsaiért, a Pro Natura Karszt-és Barlangkutató Egyesület tagjainak: Tegzes Zoltánnak, Illés Andreának, Nyíró Artúrnak, Varga Nikolettának, Zalán Bélának, Szira Fruzsínának és Varga Adrienn-nek a mintavételezések és az információközlés során nyújtott segítségükért, Klenk Péternek (Szegedi Karszt-és Barlangkutató Egyesület) a gyűjtések során nyújtott segítségéért, Varga Katinkának (PE-GK) a csigákról készült fotók elkészítéséért.

Irodalomjegyzék

- BANK, R. (2011): Fauna Europaea: Mollusca, Gastropoda. Fauna Europaea version 2.4, <http://www.faunaeur.org> (letöltve 2012. január)
- FEHÉR, Z., MAJOROS, G. & VARGA, A. (2006): A scoring method for the assesment of rarity and conservation value of the Hungarian freshwater molluscs. *Heldia*, 6. pp. 101-114.
- GEBHARDT, A. (1933): Az Abaligeti és a Mánfai barlang állatvilágának összehasonlítása. *Állattani Közlemények* **XXX/1-2**. 36–44.
- GEBHARDT, A. (1958): Malakofaunisztikai és ökológiai vizsgálatok a Mecsek-hegységben és a Harsányi hegyn. – Janus Pannonius Múzeum Évkönyve, pp. 106–136. Pécs.
- GEBHARDT, A. (1963): A Mecsek hegység barlangjainak biológiai vizsgálata. Janus Pannonius Múzeum Évkönyve, pp. 5-32. Pécs.
- HAVASI, I., SZÉKELY, K., SALAMON, G. (2003): A Mecsek-hegység fokozottan védett barlangjai: Abaligeti-barlang. In: Székely K. (2003): *Magyarország fokozottan védett barlangjai*. Mezőgazda kiadó, Budapest. pp. 393–394.
- KORDOS, L. (1984): A Mánfai-kőlyuk. In: Magyarország barlangjai. Gondolat Kiadó. Budapest,. pp. 245-247.
- PINTÉR, L. (1968): Zur Kenntnis der Hydrobiiden des Mecsek-Gebirges (Ungarn) (Gastropoda:Prosobranchia). *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. **XIV**. 3-4. p. 441–445.
- SÓLYMOS, P., FEHÉR, Z. & VARGA, A. (2006): Mollusc conservation in Hungary: rarity, regionality and responsibility. *Tentacle* No. 14 – January, 2006. pp. 13-14.
- SÓLYMOS, P., FEHÉR, Z. & VARGA, A. (2006): A hazai puhatestűek (Mollusca) élőhely- és fajmegőrzési prioritásai. *Természetvédelmi Közlemények* 13, pp. 379-392.
- SÓLYMOS, P. & FEHÉR, Z. (2011): *Bythiospeum hungaricum*. In: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.2. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on **08 January 2012**.
- SOÓS, L. (1927): Adatok a magyarországi barlangok Mollusca-faunájának ismeretéhez. –*Állattani Közlemények*, **24**: 163–180. Budapest.
- UHERKOVICH, Á. (2010): További adatok a Mecsek-hegység puhatestű (Mollusca) fajainak elterjedéséhez. (*Natura Somogyiensis* 17, pp. 83-122, Kaposvár.
- WAGNER, H. (1931): Vorläufige Mitteilung über die Molluskenfauna der Grotte von Mánfain Südungarn. – *Zoologischer Anzeiger*, **95**: 292. Leipzig.
- WÁGNER, J. (1942): Magyarország barlangjainak puhatestű faunája. – *Barlangvilág*, 12:1–15. Budapest.

ANGYAL DOROTTYA

Pannon Egyetem, Georgikon Kar

Állattani és Állattenyésztési Tanszék

8360 Keszthely, Deák Ferenc utca 16.

E-mail: angyal.dorottya@gmail.com