

Kokcidium OTKA zárójelentése

Összefoglaló

Összefoglalás

34 halfajból 67 kokcidium típust gyűjtöttünk. Ezek közül 54-et azonosítottunk 30 eddig ismert fajjal. Két fajt eddig le nem írt élősködőnek tekintünk. A fajok többsége *Goussia* volt, s csupán 6 faj tartozott az *Eimeria* genushoz. Az oociszták morfológiája, előfordulási helye, a fertőzés jellege és évszakossága alapján a talált kokcidiumokat öt fő csoportba soroltuk. A halélősködő kokcidiumok 18S rDNS szerkezetük alapján a madarak és emlősök két nagy Apicomplexa csoportja, a bélélősködő *Eimeria* fajok, illetve a cisztaformáló fajok között helyezkednek el a genetikai törzsfán. A halélősködő eimeriák DNS szerkezetüket tekintve a melegvérű állatok eimeriáihoz állnak közel. Az epicelluláris fejlődésű bélben- és vesében fejlődő *Goussia* fajok a cisztaképző apicomplexákhoz állnak a legközelebb. Úgy véljük, hogy a nagy oocisztájú fajok kevésbé specifikus élősködők, ezért a különböző halfajokból leírt *Goussia* fajok egy része synonymnak tekintendő. Ugyanakkor mind molekuláris eredményeink, mind keresztfertőzéses kísérleteink azt igazolják, hogy a kis oocisztájú *Goussia* fajok szigorúan fajlagos élősködők. Az aranyhalnak és ezüstkárásznak azonos, általunk *G. carassiorum* n. sp néven leírandó faja van. Ezt a fajt a genetikailag közel álló pontyira és széles kárászra nem tudtuk átvinni. Hasonló képen a ponty *G. carpelli* fajával kárászokban kokcidiózis nem volt kiváltható.

A tógazdaságban gyakori *G. carpelli*-vel kísérletesen viszonylag intenzív fertőzést tudtunk létrehozni, de annak kórtani hatása nem volt mérhető. Kísérletekkel bizonyítottuk, hogy a baromfi-kokcidiózis gyógyítására használt kokcidiósztatikumok eredményesen használhatók a halak kokcidium-fertőzésének megelőzésére

Summary

67 coccidian types were collected from 34 species of fish. Of them 54 were identified with 30 known coccidian species. Two species proved to be undescribed. Most species belonged to genus *Goussia*, and only 6 species to *Eimeria*. Based on morphology and location of oocysts in the fish, as well as on the character and seasonality of infection, coccidia found were classified into 5 groups. By their 18S rDNA structure fish coccidia located in the genetic tree of Apicomplexa between gut dwelling *Eimeria* spp of warm blooded animals and cyst forming apicomplexans. By their DNA structures fish eimerians showed the closest resemblance to the *Eimeria* group of mammals and birds; while epicellular coccidia of the gut and the kidney were relatively close to cyst forming coccidia .

Goussia species with large oocysts seem to be less specific to host, therefore, species described from different fishes might be synonyms. At the other side both molecular studies and cross-infection experiments proved that *Eimeria* and *Goussia* spp with small oocysts were relatively specific. Gold fish and gibel carp have a common *Goussia* sp. to be described as *Goussia carassiorum*. This species could not be transmitted to the common carp and the crucian carp. At a similar way *G. carpelli*, the specific parasite of the carp caused no infection in *Carassius* spp.

While infecting the common carp with *G. carpelli*, relatively intensive infections were elicited, nevertheless no significant pathologic effect was found.

Successful experiments were performed with coccidiostatic drugs. Drugs used to prevent coccidiosis of chickens and rabbits, show a high effect to fish coccidia, as well.

Részletes jelentés

Halélősködő kokcidiumok előfordulásának, fejlődésének, fajlagosságának és kórtani hatásának vizsgálata.

1/ Terepvizsgálatok:

Kokcidiumfertőzést 7 kivételével csaknem valamennyi magyarországi halfajból ki tudtunk mutatni (1. táblázat). Oocisztákat 34 halfajból gyűjtöttünk. Néhány halfajban 4 illetve 5 kokcidium faj is előfordult. A sporociszták szerkezete alapján a fajok többségét a *Goussia* genusba soroltuk, közülük 7 faj bizonyult *Eimeria*-nak. Megjegyzendő, hogy a bélélősködő *Eimeria* fajok főképpen a hazánkba betelepített vagy betelepült tengeri halakat (angolna és gébfajok) fertőzték. A *Goussia* fajok közül a bélben elszórtan fejlődő, (dispers fertőzést okozó) kis oocisztájú (8-12 μm méretű), „carpelli” típusú fajok voltak a leggyakoribbak. Ezek kísérletes és előzetes molekuláris eredményeink alapján az emlősök és madarak *Eimeria*-élősködőihez hasonlóan szigorúan fajlagos parazitáknak tűnnek. A goussiák egyéb csoportjait a bélben epicellulárisan (14-19 μm) vagy góciókban fejlődő (21-30 μm), illetve a vesében és egyéb belső szervekben fejlődő, (30-35 μm oocisztájú) fajok képezik. Ez utóbbiak morfológiailag és DNS szerkezetüket tekintve hasonlítanak egymásra, és valószínűleg széles gazdakörrel rendelkező élősködők.

A táblázatban szereplő fajokat morfológiai alapon azonosítottuk. Ezek validitását folyamatban lévő molekuláris vizsgálataink eredményei fogják alátámasztani vagy tagadni.

A vizsgálat során talált új fajok: *Goussia carassiorum* sp. n. ezüstkárászból és aranyhalból, *Goussia aerocystidis* sp. n. domolykóból, és *Goussia* sp. razbórából. (Leírásukra csak sikeres DNS feltárás után kerül sor). Az Európában ismert fajok közül Magyarországon jelen vizsgálatok során találtuk meg a *Goussia aculeati* fajt tüskés pikóban. A táblázatban *Goussia* sp néven szereplő fajok többsége a szigorúan gazdaspecifikus kokcidiumok közé tartozik. Valószínűleg új fajok. Leírásukhoz a DNS szekvenciák folyamatban lévő feldolgozása szükséges.

Molekuláris vizsgálatra csak a megfelelően tisztított mintákat küldtük el amerikai partnerünknek. Az elküldött 204 mintából 74 esetében sikerült DNS-t feltárni.

Vizsgálataink megerősítették korábbi megfigyeléseinket, mely szerint a kis oocisztájú „carpelli típusú” fajok folyamatosan fejlődnek, és az év bármely szakaszában előfordulnak, a nagyobb oocisztájú epicelluláris, gócos és belső-szervekben található fajok éves ciklus szerint fejlődnek, és tavasszal képeznek oocisztákat.

2. Kísérletes vizsgálatok a bélélősködő halkokcidiomok gazdafajlagosságára, kórtani hatására, és gyógykezelési lehetőségeire vonatkozóan:

2.1. Keresztfertőzéses kísérletek:

2.1.1 Kísérletek *Goussia carpelli*-vel. Ezzel a fajjal minden esetben tudtunk oligochaetákat (*Tubifex* és *Limnodrilus* fajok) fertőzni, amelyek paratenikus gazdaként sikeresen vitték át a sporozoitákat fertőzés-mentes pontyokra, s váltottak ki azokban kokcidiom-fertőzöttséget. Ugyanakkor, korábbi kísérleteinket több halfajra kiterjesztve, nem tudtuk fertőzni a márna, a kűsz, az ezüst kárász, aranyhal és széles kárász ivadékait. Bár szakirodalmi adatok szerint az oociszták közvetlen etetésével is kiváltható a fertőzöttség, ez nekünk nem sikerült.

2.1.2. Kísérletek aranyhalból és ezüst kárászból származó oocisztákkal (*Goussia carassiorum* sp. n.). Két kísérletben aranyhalból származó oocisztákkal fertőztünk oligochaetákat, majd azok etetésével 10-10 aranyhal, ezüstkárász, széles kárász és ponty egyedeket. Az első kísérletben 5 aranyhalban és két ezüstkárászban alakult ki fertőzöttség, a széles kárász és ponty egyedek fertőzés mentesek maradtak.

A második kísérletben 10-10 halból 9 aranyhal és 3 ezüst kárász vált fertőzötté, a pontyok és a széles kárász egyedek negatívak maradtak.

A harmadik kísérletben ezüstkárászból gyűjtött, oligochaetákban „érlelt” oocisztákkal fertőztük a halakat (5-5 ezüstkárász, aranyhal, ponty és széles kárász). Itt mindössze 1 aranyhalban és 1 ezüstkárászban alakult ki fertőzöttség.

A negyedik kísérletben ugyancsak ezüstkárászból gyűjtött, oligochaetákkal etetett oocisztákkal fertőztük a halakat. A 8-8 hal közül csupán 1 aranyhalban alakult ki fertőzöttség.

Bár ezekben, a kísérletekben a pontynál tapasztalt intenzív fertőzöttségeket nem tudtuk produkálni, az eredmények arra utalnak, hogy a leírandó *G. carassiorum* fajnak csupán az aranyhal, és a genetikailag hozzá legközelebb álló ezüstkárász a gazdája, és a fertőzöttség az Európában őshonos széles kárászban nem alakul ki. Az új fajra vonatkozó közleményt csak akkor kívánjuk megírni, ha egy újabb, megismételt kísérlet azonos eredményt ad, s azt a folyamatban lévő molekuláris vizsgálatok eredményei is igazolják.

2.1.3. A három leggyakoribb gébfaj feltételezetten azonos kokcidiomaival (*Goussia kessleri* és *Eimeria daviesae*) hasonló módon végzett kísérletünk eredménytelennek bizonyult. Nem biztos tehát, hogy ezeknek, a halfajoknak a fertőződésénél is szerepet kapnak az oligochaeták.

2.2. Kórtani kísérletek

Kísérleteket végeztünk a fertőzöttségnek a pontyivadék súlygyarapodását befolyásoló hatásának felmérésére.

Három alkalommal 10-10 halat sporozoitákat hordozó illetve fertőzés-mentes oligochaetákkal etettünk 10 napon át. Az utolsó fertőzés utáni 15. napon kiirtott halak testtömegét mértük. Sajnos a fertőzött és kontroll csoportok között szignifikáns különbségek nem mutatkoztak.

Eredményeinkből arra a következtetésre jutottunk, hogy ezek a *Goussia* fajok a baromfi és nyúl eimeriák egy részéhez hasonlóan viszonylag apatogénnek bizonyulnak, és a súlygyarapodást nem befolyásolják lényegesen.

2.3. Gyógykezelési kísérletek:

2.3.1. Kísérletesen bizonyítottuk, hogy a gyakorlatban használt kokcidiom ellenes szerek közül a Diclazuril, Lasalocid, Robenidin HCl and Maduramicin igen jó hatásfokkal alkalmazható halkokcidiózis esetén is. Bizonyos fokú kokcidiom-ellenes hatást észleltünk az Amprolium, Toltrazuril, Monensin-Na, Narazin and Salinomycin-Na készítmények alkalmazásakor is. A kétségtelenül jó hatásfok ellenére kísérleteinket az alábbi okok miatt nem folytattuk:

2.3.2. A kórtani vizsgálatok arra mutattak, hogy viszonylag erős kokcidium-fertőzések sem okoznak olyan károsodásokat, hogy azok ellen gyógyszeres védekezésre lenne szükség.

2.3.3. A fertőzés folyamatos perzisztens jelentkezése (a baromfi kokcidiózishoz hasonlóan) nem utal tartós rezisztencia megszerzésére, ezért a gyógykezelést folyamatosan kellene alkalmazni, ami a tógazdaságokban nehezen kivitelezhető gazdaságtalan beavatkozás.

2.3.4. A kísérletek pozitív eredménye lehetővé teszi, hogy szükség esetén a módszert kis finomításokkal azonnal alkalmazni lehessen.

3. Molekuláris biológiai vizsgálatok halakból gyűjtött kokcidiumok DNS-ének meghatározására. (2. táblázat)

A táblázatban a vizsgálatra küldött 204 mintából csak azok szerepelnek, melyekből sikeresen vontunk ki DNS-t, illetve azok, melyek feldolgozása még folyamatban van.

3.1. Terven kívüli kooperáció:

Az 1. táblázatban szereplő halakból gyűjtött kokcidium mintákat amerikai partnerünknek, dr. Benjamin Rosenthal-nak (Animal Parasitic Diseases Laboratory, Henry A. Wallace Beltsville Agricultural Research Center-East, Beltsville, USA), küldtük feltárássra és további vizsgálatra.

3.2. A mintagyűjtés metodikai vonatkozásai:

A kokcidiumokat a halak beléből és egyéb szerveiből gyűjtöttük. Mivel megfelelő tisztítási eljárások nem ismertek, a morfológiai úton meghatározott oocisztákat a bélnyálkával, bélpaprékkal, illetve a szervek kisebb szövetdarabjaival együtt juttattuk el partnerünkhöz. A minták egy részét alkoholban fixálva Eppendorf csőben küldtük ki, a minták más részéből a DNS-t előzőleg feltártuk.

3.2.3. A vizsgálatra küldött minták morfológiai, fejlődési és lokációs típus szerinti csoportosítása:

A gyűjtött és molekuláris vizsgálatra az USA-ba küldött mintákat morfológiai jellegzetességeik, lokációjuk és a szövetekkel való kapcsolatuk alapján 5 fő csoportba különítettük el (2. táblázat). A táblázatban csak azokat a fajokat tüntetjük fel, amelyekből sikeres DNS izolálás történt, illetve amelyeknél a DNS izolálás biztató eredményt adott.

Az első csoportba (2/1 táblázat) a veseutakban élősködő epicelluláris fejlődésű fajokat soroltuk.

A második csoportba (2/2 táblázat) a bélben gócos kokcidiosist okozó fajokat helyeztük el.

A harmadik csoportot (2/3 táblázat) a bélben epicellulárisan fejlődő *Goussia* fajok alkotják.

A negyedik csoportba a kis oocisztájú, bélben elszórta fejlődő *Goussia* fajok (2/4 táblázat) kerültek.

Az ötödik csoportot (2/5 táblázat) a talált *Eimeria* fajok képezik.

3.3. Eredmények:

3.3.1. Mintáinknak csak mintegy harmadából sikerült a 18S rDNS szekvenciákat vizsgálni.

Néhány mintából csak a 28S rDNS szakasz feltárása volt sikeres.

3.3.2. A feltárás hatásfokát csökkentette az a tény, hogy a halkokcidiumokat törékeny oocisztá-faluk miatt tisztítani nem lehet, s ezért azok nagymennyiségű gazdaszövetrel, vagy béltartalommal együtt lettek fixálva.

3.3.3. A halkokcidiumok DNS szekvenciái jelentősen különböznek az emlősökből és madaraktól ismert kokcidiumok szekvenciáitól.

3.3.4. A halkokcidiumok a filogenetikai fán az *Eimeria* típusú (valódi) kokcidiumok és a cisztaképző (*Sarcocystis-Toxoplasma* típusú) apicomplexák között helyezkednek el (1. ábra).

3.3.5. Az *Eimeria* és *Goussia* fajok egymástól jól elkülönülnek. (2-4. ábrák).

3.3.5.1. Az *Eimeria* fajok DNS szerkezetüket illetően közel állnak a melegvérűek kokcidium-fajaihoz, annak ellenére, hogy közöttük „carpelli típusú”, dispers fejlődésű bélélősködők (*E.*

percae), epicelluláris fejlődésű bélélősködők (*E. anguillae*) és belső szervekben élő, goussiákra emlékeztető módon szezonális fejlődésű fajok (*E. rutili*) egyaránt előfordulnak (2. ábra).

3.3.3.2. A kis oocisztával rendelkező, kompakt szerkezetű, bélben elszórtan (dispersen), folyamatosan fejlődő *Goussia* fajok jól elkülönülnek a gócos kokcidiózist okozó, nagy oocisztájú, szezonális goussiáktól, de DNS szerkezetüket illetően viszonylagos hasonlóság észlelhető (3. ábra).

3.3.3.3. Érdekes, hogy a laza oociszta-szerkezetű epicelluláris fejlődésű bélélősködő fajok és a tőlük csak valamivel, nagyobb méreteikkel különböző, párhuzamos fejlődésű, szezonálisan gócosban fejlődő fajok egymástól a genetikai fán viszonylag távol helyezkednek el (3. és 4. ábra). A genetikai különbség különösen azért meglepő, mert korábban felmerült, hogy az egy-egy halban fejlődő epicelluláris és gócos fajok esetleg szinonim fajok lehetnek.

3.3.3.4. Ugyancsak nem várt eredményt adott a veseélősködők és bélben epicellulárisan fejlődő *Goussia* fajok közeli rokonsága (4. ábra). Morfológiai úton ugyan tisztáztuk, hogy a vesecatornában élő (*G. balatonica*-*G. leucisci*) fajok is epicellulárisan fejlődnek, de mind a lokáció, mind az oociszták nagysága alapján lényegesen különböznek a bélélősködő (*G. pannonica*, *G. koertingi*) epicelluláris fajoktól. Az ábrában szándékosan hagytuk meg az *Eimeria nemethi* faj nevét. A példa nehézségeinket szemlélteti. Utólagos szövettani elemzés mutatott rá, hogy a vesemintánkban az *E. nemethi* fajon kívül *G. leucisci* típusú oociszták is előfordultak, s a DNS szekvenciák ezek értékeit tükrözik. A csoport további érdekessége, hogy a fajok 18S rDNS szekvenciái igen közeli rokonságot mutatnak a cisztaképző melegvérű kokcidiumok egyes fajaival (4. ábra).

3.4. Következtetések.

3.4.1. Keresztfertőzési kísérleteink és molekuláris vizsgálataink megerősítették korábbi megfigyeléseinket, hogy a bélélősködő „carpelli” típusú kokcidiumok szigorúan gazdafajlagos élősködők.

3.4.2. Ezzel szemben valószínűsítjük, hogy az éves ciklus szerint fejlődő fajok széles gazdakörű élősködők. Ezek 18S rDNS szerkezetében csak kisebb különbségek mutathatók ki (3. sz. táblázat). Ezek a fajok morfológiailag gyakorlatilag elkülöníthetetlenek. Feltűnő, hogy a süllő (*G. desseri*), a ponty (*G. subepithelialis*) és a keszegfélék (*G. balatonica*) gócos kokcidiózist okozó fajok között csak 1-2 %° különbség mutatkozott a 18S rDNS szekvenciákban, ugyanakkor egy bizonyos eltérés a fenti fajok között következetesen kimutatható volt. A talált különbség nem elégséges a fenti fajok önállóságának bizonyítására. Egyelőre az viszont igazolva látszik lenni, hogy a keszegfélékben (leuciscinae alcsalád) gyakori vesekokcidiumok széles gazdakörű élősködők, és egyetlen fajt reprezentálnak.

3.5. A témából megírás alatt lévő közleményeink címei a következők:

3.5.1. Rosenthal, B., Molnár, K.: *Eimeria* originated in fish.

3.5.2. Molnár, K., Rosenthal, B.: Profound phylogenetic diversity characterizes coccidian parasites of fish ascribed to the genus *Goussia*.

3.5.3. Rosenthal, B., Molnár, K.: Epicellular development and kidney localization are confirmed by 18S rDNA sequencing as valid diagnostic features for parasites belonging to an ancient clade of coccidia in fish.

3.5.4. Rosenthal, B., Molnár, K.: Limited 18S rDNA differentiation among coccidian parasites that develop as nodules in the guts of several fish species.

3.5.4. Molnár, K., Székely, Cs.: *Goussia carassiorum* sp. n. (Eimeriidae: Apicomplexa), a common parasite of the goldfish and the gibel carp.

3.5. 4. Molnár, K. New and less known coccidia from cyprinid fishes in Hungary, with description of *Goussia aerocystidis* sp. n. (Apicomplexa: Eimeriidae).

3.6. Megjelent közlemények:

3.6.1.Molnár, K. (2006): Some remarks on parasitic infections on the invasive *Neogobius* spp. (Pisces) in the Hungarian reaches of the Danube River, with description of *Goussia szekelyi* sp. n. (Apicomplexa: Eimeriidae). J. Appl. Ichthyol. 22. 395-400.

3.6.2.Molnár, K. (2006): Phylum Apicomplexa. In: P.T.K. Woo (ed.): Fish Diseases and Disorders. Vol. 1: Protozoan and Metazoan Infections. Second edition. CAB International. Wallingford. pp. 183-204. (könyv)

3.6.3.Molnár, K., Ostoros, Gy. (2007): Efficacy of some anticoccidial drugs for treating coccidial enteritis of the common carp caused by *Goussia carpelli* (Apicomplexa: Eimeriidae). Acta Vet. Hung. 55: 67-76.

3.7. Előadások:

3.7.1.Molnár, K.: A rendszertan és a taxonómia szerepe az Apicomplexa és Myxozoa paraziták kutatásában. A Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlése, 2006. okt. 18-20.

3.7.2.Rosenthal, B., Molnár, K., Ostoros, G, Dunams, D: Part of the family: Molecular genetic analysis indicates that piscine coccidia exhibit especially great evolutionary diversity, and gave rise to the coccidia of terrestrial vertebrates. 7th International Symposium on Fish Parasites, Viterbo, Italy. Abstract: Parassitologia 49: Suppl. 2. p. 325, 2007.

3.7.3.Rosenthal, B., Molnár, K., Ostoros, G, Dunams, D:"Especially great phylogenetic diversity characterizes the coccidia infecting fish." Invited lecture for the 41st Coccidiosis Conference held at the Annual Meeting of the American Society of Parasitologists in Knoxville, Tennessee, August 15, 2009.

1. Táblázat. Kokcidium-fertőzöttség a hároméves kutatás során vizsgált halakban

Halfaj neve	Kokcidium faj neve	Gyűjtés helye	Kokcidium típusa	18S rDNA
<i>Acipenser ruthenus</i>	<i>Goussia acipenseris</i>	D	E	n. s.
	<i>Goussia vargai</i>	D	N	?
<i>Anguilla anguilla</i>	<i>Eimeria anguillae</i>	B	E	+
<i>Rutilus rutilus</i>	<i>Goussia sp.</i>	B, D	Di	+
	<i>G. balatonica</i>	B	N	+
	<i>G. pannonica</i>	B	E	+
	<i>G. leucisci</i>	B	K	+
	<i>Eimeria rutili</i>	B	M	?
<i>Ctenopharyngodon idellus</i>	-----			--
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	<i>Goussia sp.</i>	B,	Di	n.s.
	<i>G. balatonica</i>	B	N	-
	<i>G. pigra</i>	B	E	+
	<i>G. leucisci</i>	B	K	+
<i>Leuciscus cephalus</i>	<i>Goussia chalubskii</i>	D	Di	+

	<i>G. janae</i>	D	E	+
	<i>Goussia sp. n.</i>	D	M	-
<i>Leuciscus idus</i>	<i>Goussia sp.</i>	D	Di	?
	<i>G. balatonica</i>	D	N	?
	<i>G. pannonica</i>	D	E	?
<i>Phoxinus phoxinus</i>	<i>Goussia sp.</i>	P	Di	n.s.
<i>Aspius aspius</i>	----			
<i>Alburnus alburnus</i>	<i>G. cylindrospora</i>	B, D	Di	+
	<i>G. balatonica</i>	B	N	-
	<i>Eimeria nemethi</i>	B	M	+
<i>Blicca bjoerkna</i>	<i>Goussia sp.</i>	B, D	Di	+
	<i>G. balatonica</i>	B	N	+
	<i>G. pannonica</i>	B	E	+
	<i>G. leucisci</i>	B	K	+
<i>Abramis brama</i>	<i>Goussia sp.</i>	B, D	Di	-
	<i>G. balatonica</i>	B	N	+
	<i>G. pannonica</i>	B	E	+
	<i>G. leucisci</i>	B	K	+
	<i>G. siliculiformis</i>	B	M	+
<i>Abramis ballerus</i>	<i>Goussia sp.</i>	D	Di	n.s.
<i>Abramis sapa</i>	<i>Goussia sp.</i>	D.	Di	n.s.
<i>Vimba vimba</i>	<i>Goussia sp.</i>	D.	Di	n.s.
<i>Pelecus cultratus</i>	-----			
<i>Chondrostoma nasus</i>	<i>Goussia leucisci</i>	D	K	n.s.
<i>Tinca tinca</i>	<i>Goussia sp.</i>	H	N	n.s.
<i>Barbus barbus</i>	<i>G. koertingi</i>	D	E	?
<i>Gobio gobio</i>	<i>G. molnari</i>	P	Di	n.s.
	<i>G. metchnikovi</i>	P	M	n.s.
<i>Pseudorasbora parva</i>	<i>G. strelkovi</i>	B	N	n.s.
<i>Carassius carassius</i>	<i>Goussia sp.</i>	F	Di	?
<i>Carassius gibelio</i>	<i>G. carassiorum sp. n.</i>	F, B	Di	+
	<i>G. leucisci</i>	B	N	?
<i>Carassius auratus</i>	<i>G. carassiorum sp. n.</i>	H,	Di	?
<i>Cyprinus carpio</i>	<i>G. carpelli</i>	H	D	+
	<i>G. subepithelialis</i>	H	N	+
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	<i>G. sinensis</i>	H	Di	?
<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>	<i>G. sinensis</i>	H	D	?
<i>Silurus glanis</i>	-----			
<i>Esox lucius</i>	-----			
<i>Lota lota</i>	-----			
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	<i>G. aculeati</i>	P	Di	-
<i>Lepomis gibbosus</i>	-----			
<i>Perca fluviatilis</i>	<i>Goussia laurelea</i>	B	Di	+
	<i>Eimeria percae</i>	B	Di	+
<i>Gymnocephalus cernuus</i>	<i>G. acerinae</i>	B, D	Di	+

<i>Sander lucioperca</i>	<i>G. desseri</i>	B	N	+
<i>Sander volgensis</i>	<i>G. desseri</i>	B	N	n.s.
<i>Percottus glehnii</i>	Goussia sp.	T	Di	-
<i>Neogobius fluviatilis</i>	<i>Goussia kessleri</i>	D	Di	+
	<i>G. szekelyi</i>	D	(E)	+
	<i>Eimeria daviesae</i>	D	Di	+
<i>Neogobius kessleri</i>	<i>Goussia kessleri</i>	D	Di	n.s.
	<i>G. szekelyi</i>	D	(E)	n.s.
	<i>Eimeria daviesae</i>	D	Di	n.s.
<i>Neogobius melanostomus</i>	<i>Goussia kessleri</i>	D	Di	-
	<i>G. szekelyi</i>	D	(E)	-
	<i>Eimeria daviesae</i>	D	Di	-
<i>Proterorhynchus marmoratus</i>	<i>Eimeria credintsi</i>	D	Di	n.s.
	<i>Eimeria marmorata</i>	D	Di	n.s.

Jelmagyarázat: B = Balaton D= Duna T= Tisza, H= tógazdaságok P = patakok

Di= disperz E= Epicelluláris N= gócos K =vese M= más szervek

Vastag betűvel azok a Magyarországon még nem ismert fajok szerepelnek, melyek leírására vagy azonosítására a DNS vizsgálatok eredményének ismeretében kerülhet sor.

2. Táblázat. Molekuláris biológiai vizsgálatok magyarországi halakból gyűjtött *Goussia* és *Eimeria* fajokon

2/1 Táblázat. Molekuláris biológiai vizsgálatok vesecsatornákból származó *Goussia* fajokon

Name of the parasite	N	Name of the fish	Site of infection	Site of collection	Date of collection	18s rDNA sequence (bp)	28s rDNA sequence (bp)	plastid rRNA large subunit sequence (bp)
Kidney spp.								
<i>Goussia (sl) leucisci</i>	A1	<i>Abramis brama</i>	kidney	Lake Balaton	26.04.2003	965	634	
<i>Goussia (sl) leucisci</i>	A4	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	kidney	Lake Balaton	30.04.2003	1015	1063	
<i>Goussia leucisci.</i>	118	<i>Carassius gibelio</i>	kidney	Balaton	24.05.05	731		
<i>Goussia leucisci.</i>	823	<i>Carassius gibelio</i>	kidney	Lake Belső	31. 03. 2008			
<i>Goussia leucisci.</i>	126	<i>Abramis brama</i>	kidney	Balaton	26.05.05	748		

<i>Goussia leucisci</i>	637	<i>Blicca bjoerkna</i>	kidney	B. szem	14.04.06	1003		
-------------------------	-----	------------------------	--------	---------	----------	------	--	--

2/2 Táblázat. Molekuláris biológiai vizsgálatok magyarországi halakban előforduló, gócos kokcidiosis-t okozó *Goussia* fajokon

Nodular spp.								
<i>G. desseri</i>	650	<i>Sander lucioperca</i>	gut	B. szemes	31.03.06	833		
<i>G. desseri</i>	652	<i>Sander lucioperca</i>	gut	B. szemes	31.03.06	784		
<i>G. desseri</i>	653	<i>Sander lucioperca</i>	gut	B. szemes	31.03.06	813		
<i>G. desseri</i>	654	<i>Sander lucioperca</i>	gut	B. szemes	31.03.06	817		
<i>G. desseri</i>	656	<i>Sander lucioperca</i>	gut	B. szemes	31.03.06	828		
<i>G. subepithelialis</i> + <i>G. carpelli</i>	619	<i>Cyprinus carpio</i>	gut	fishfarm	29.05.06	837		
<i>G. subepithelialis</i> + <i>G. carpelli</i>	6	<i>Cyprinus carpio</i>	„	Fishfarm	07.04.04	1169		
<i>G. carpelli</i> + <i>subepithelialis</i>	617	<i>Cyprinus carpio</i>	gut	fishfarm	21.04.06	830		

<i>Goussia balatonica</i>	A2	<i>Blicca bjoerkna</i>	gut	Lake Balaton	23.04.2003	982		
<i>Goussia balatonica</i>	A5	<i>Blicca bjoerkna</i>	gut	Lake Balaton	24.04.2003	992		
<i>G. balatonica</i>	638	<i>Blicca bjoerkna</i>	gut	B. szem	01.04.06	991		
<i>Goussia s.l. balatonica</i>	4	<i>Abramis brama</i>	„	Lake Balaton	01.04.04	914	1092	
<i>Goussia s.l. balatonica</i>	602	<i>Abramis brama</i>	gut	B	22.03.06	944		
<i>Goussia s.l. balatonica.</i>	603	<i>Abramis brama</i>	gut	B	29.03.06	987		
<i>Goussia s.l. balatonica</i>	604	<i>Abramis brama</i>	gut	B	23.03.06	800		
<i>Goussia s.l. balatonica.</i>	605	<i>Abramis brama</i>	gut	B	29.03.06	977		

<i>Goussia s.l. balatonica.</i>	608	<i>Abramis brama</i>	gut	D. Sződ	24.04.06	1004		
<i>Goussia s.l. balatonica.</i>	10	<i>Rutilus rutilus</i>	„	Lake Balaton	10.05.04	1175		504
<i>Goussia s.l. balatonica.</i>	11	<i>Rutilus rutilus</i>	„	Lake Balaton	10.05.04	608	1139	522
<i>Goussia s.l. balatonica.</i>	612	<i>Rutilus rutilus</i>	gut	B. szem.	10.04.06	988		

<i>G. s.l. balatonica</i>	818	<i>Leuciscus idus</i>	gut	Danube	28. 03. 2007			
<i>G. s.l. balatonica</i>	819	<i>Leuciscus idus</i>	gut	Danube	30. 03. 2007			
<i>G. s.l. balatonica</i>	820	<i>Leuciscus idus</i>	gut	Danube	28. 03. 2007			
<i>Goussia vargai</i>	801	<i>Acipenser ruthenus</i>	gut	Danube	30. 05. 2007			
<i>Goussia vargai</i>	802	<i>Acipenser ruthenus</i>	gut	Danube	30. 05. 2007			
<i>Goussia vargai</i>	803	<i>Acipenser ruthenus</i>	gut	Danube	30. 05. 2007			
<i>Goussia zarnovskii</i>	804	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	gut	804	22. 05. 2007			
<i>G. siliculiformis</i>	147	<i>Abramis brama</i>	serosa	Balaton	12.08.05	866		544

2/3 Táblázat. Molekuláris biológiai vizsgálatok magyarországi halak belében epicellárisan fejlődő *Goussia* fajokon

epicellular spp.								
<i>Goussia pannonica</i>	2	<i>Blicca bjoerkna</i>	„	Lake Balaton	16.04.04			
<i>Goussia s.l. pannonica</i>	A3	<i>Abramis brama</i>	gut	Lake Balaton	23.04.2003			

<i>Goussia s.l. pannonica</i>	111	<i>Abramis brama</i>	gut	Balaton	28.04.05			
						573		
<i>Goussia s.l. pannonica</i>	609	<i>Rutilus rutilus</i>	gut	B. szemes	13.04.06			
<i>G. s.l. pannonica</i>	822	<i>Rutilus rutilus</i>	gut	Balaton	05. 05. 2008			
<i>G. s.l. pannonica</i>	821	<i>Vimba vimba</i>	gut	Danube	13. 04. 2007			
<i>Goussia pigra</i>	635	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	gut	B.szem	13.04.06.			
<i>Goussia janae</i>	101	<i>Leuciscus cephalus</i>	gut	Danube	22.04.05			
						551		552
<i>G. koertingi</i>	816	<i>Barbus barbus</i>	gut	Danube	13. 04. 2007			
<i>G. koertingi</i>	817	<i>Barbus barbus</i>	gut	Danube	29. 03. 2007			
<i>G. szekelyi</i>	129	<i>Gobius melanostomus</i>	Gut	Duna	2019.04.05	587		

2/4 Táblázat. Molekuláris biológiai vizsgálatok magyarországi halakból gyűjtött, bélben elszórtan fejlődő *Goussia* fajokon

dispersed								
<i>Goussia</i> spp								
<i>G. carpelli</i>	20	<i>Cyprinus carpio</i>	„	fishfarm	24.06.04			
						1179	635	
<i>G. carpelli</i>	139	<i>Cyprinus carpio</i>	gut	T.imre	17.08.05			
						1235		557
<i>G. carassiorum</i>	B2	<i>Carassius gibelio</i>	gut		02.08.2005	1300		
<i>G. carassiorum</i>	1	<i>Carassius gibelio</i>	gut	Lake Balaton	03.05.04.	1226		
<i>G. carassiorum</i>	620	<i>Carassius</i>	gut	D. szte.	19.05.06			

		<i>gibelio</i>						
<i>G. carassiorum</i> sp. n.	811	<i>Carassius</i> <i>auratus</i>	gut	Fish farm	29.08. 2008			
<i>G. carassiorum</i> sp. n.	812	<i>Carassius</i> <i>auratus</i>	gut	Fish farm	29.08.2008			
<i>Goussia</i> <i>chalubskii</i>	25	<i>Leuciscus</i> <i>cephalus</i>	„	Duna	03.07.04	804	1055	
<i>G. bohémica</i>	813	<i>Gobio gobio</i>	„	Danube	06. 06. 2007			
<i>G. bohémica</i>	814	<i>Gobio gobio</i>	„	Tapolca creek	06. 06. 2007			

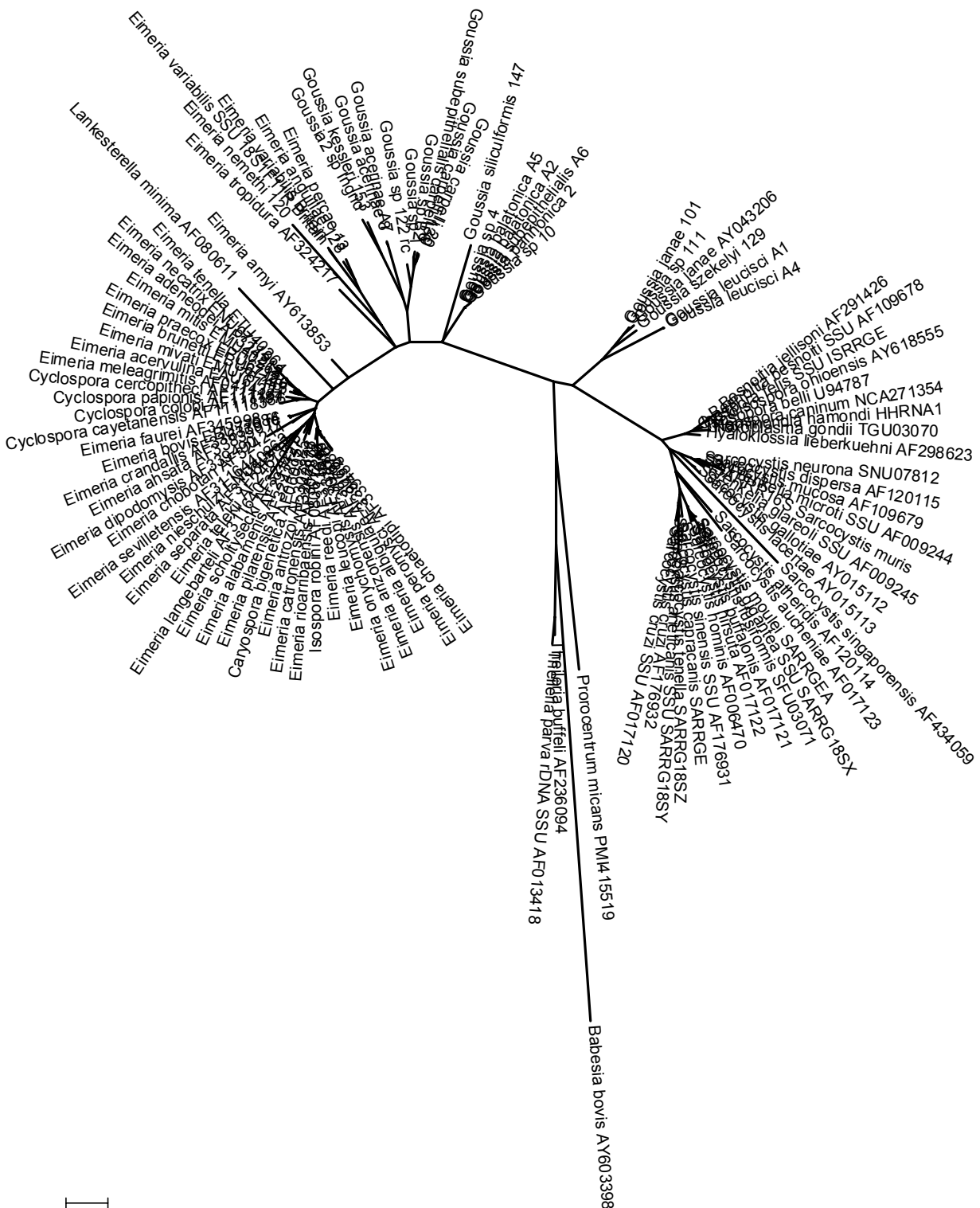
<i>Goussia</i> <i>chalubskii</i>	25	<i>Leuciscus</i> <i>cephalus</i>	„	Duna	03.07.04	804	1055	
<i>G. bohémica</i>	813	<i>Gobio gobio</i>	„	Danube	06. 06. 2007			
<i>G. bohémica</i>	814	<i>Gobio gobio</i>	„	Tapolca creek	06. 06. 2007			

<i>Goussia cernuae</i>	642	<i>Gymnoceph</i> <i>alus</i> <i>cernuus</i>	gut	B.szem	13.04.06	811		
<i>Goussia cernuae</i>	643	<i>Gymnoceph</i> <i>alus</i> <i>cernuus</i>	gut	B.szem	18.04.06	798		
<i>Goussia cernuae</i>	8	<i>Gymnoceph</i> <i>alus</i> <i>cernuus</i>	„	Lake Balaton	09.04.04	1296		
<i>Goussia cernuae</i>	A7	<i>Gymnoceph</i> <i>alus</i> <i>cernuus</i>	gut	Lake Kis- Balaton	01.05.2003	983	1139	449
<i>G. laurelea</i>	644	<i>Perca</i> <i>fluviatilis</i>	gut	B.szem	20.04.06	832		
<i>G. laurelea</i>	15	<i>Perca</i> <i>fluviatilis</i>	„	R. Lesence	21.06.04	812		516

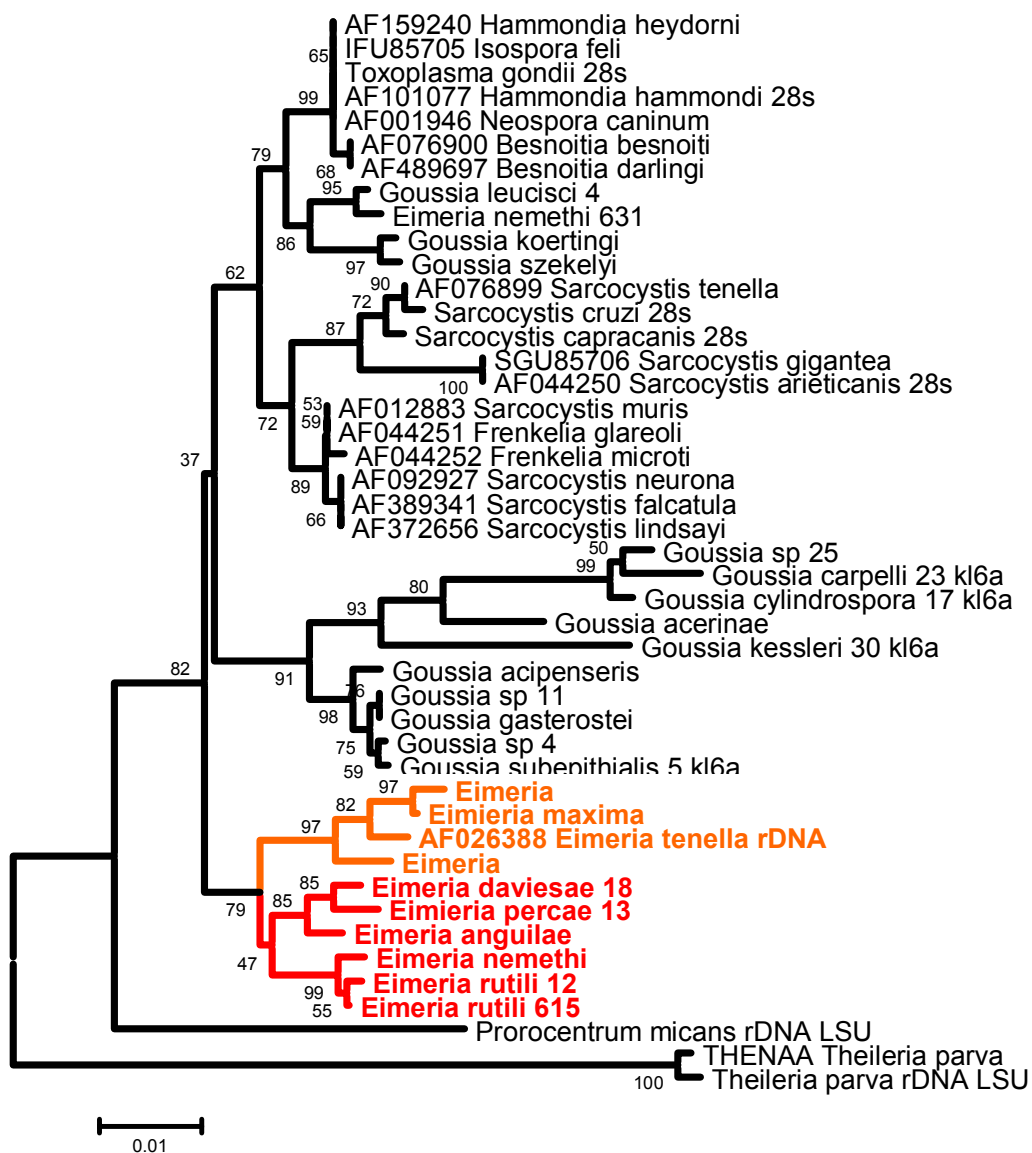
<i>Goussia kessleri</i>	153	<i>Gobius fluviatilis</i>	gut	Balaton	30.06.05	920		459
<i>Goussia kessleri?</i>	28	<i>Gobius fluviatilis</i>	Gut	Duna	23.07.04	742	1078	
<i>Goussia kessleri?</i>	29	<i>Gobius fluviatilis</i>	Gut	Duna	01.07.04	491		
<i>Goussia kessleri?</i>	30	<i>Gobius fluviatilis</i>	Gut	Duna	26.07.04	535	1067	
<i>Goussia sp. 2.</i>	815	<i>Pseudorasbora parva</i>	gut	Érd creek	22.05.2007			

2/5. Táblázat. Molekuláris biológiai vizsgálatok magyarországi halakból gyűjtött *Eimeria* fajokon

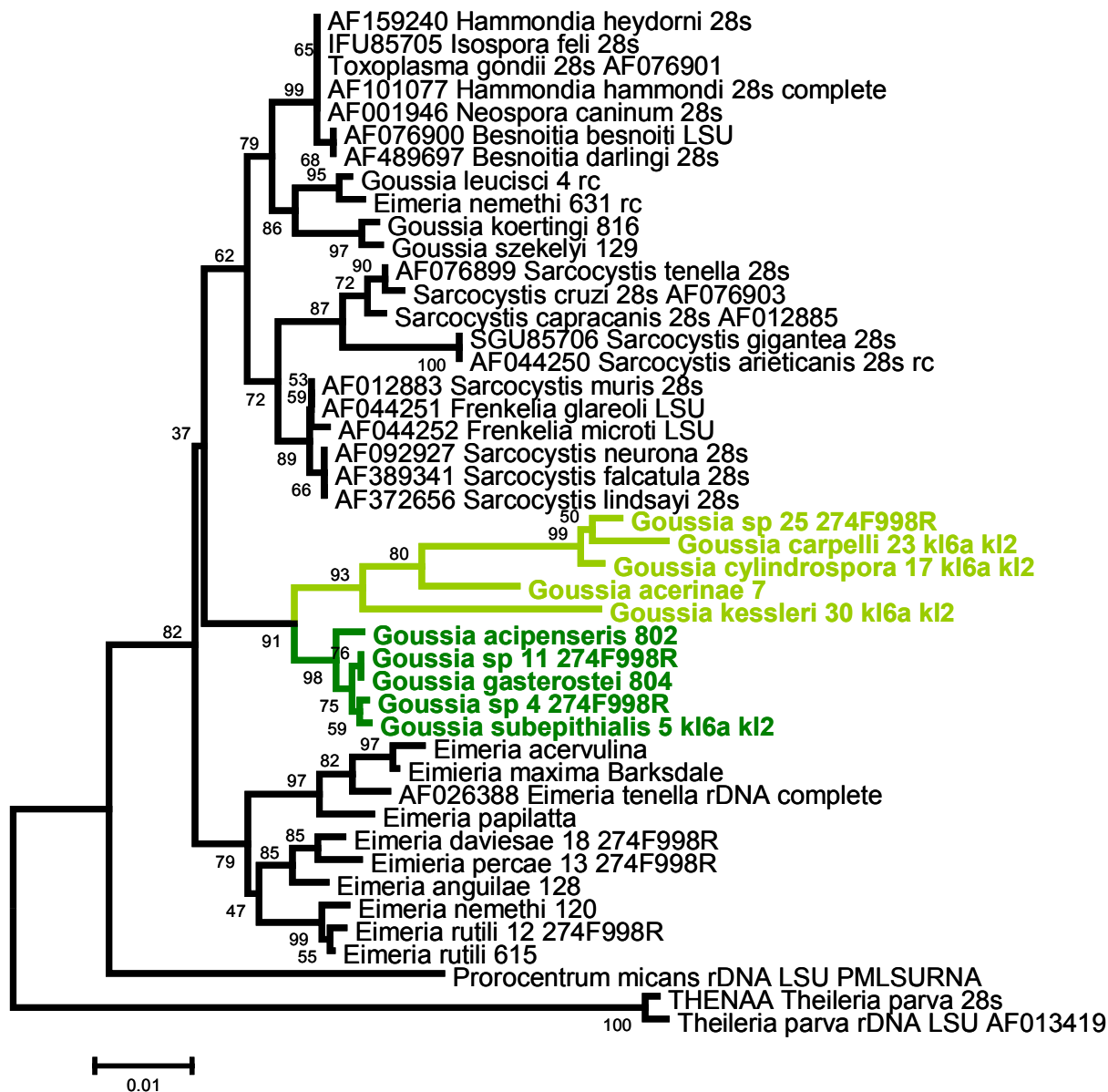
<i>Eimeria</i> spp.								
<i>Eimeria percae</i>	13	<i>Perca fluviatilis</i>	gut	R. Lesence	21.06.04	1157	1100	
<i>Eimeria daviesae</i>	18	<i>Gobius kessleri</i>	„	Duna	24.06.04	614	1100	488
<i>Eimeria nemethi</i>	120	<i>Alburnus alburnus</i>	gut	Balaton	29.04.05	1111		555
<i>Eimeria rutili</i>	824	<i>Rutilus rutilus</i>	liver	Danube	14. 04. 2007			
<i>Eimeria anguillae</i>	128	<i>Anguilla anguilla</i>	gut	Balaton	05.05.05.	943		474
<i>Eimeria variabilis</i>		<i>Taurulus bubalis</i>	digestive caeca	?		910		



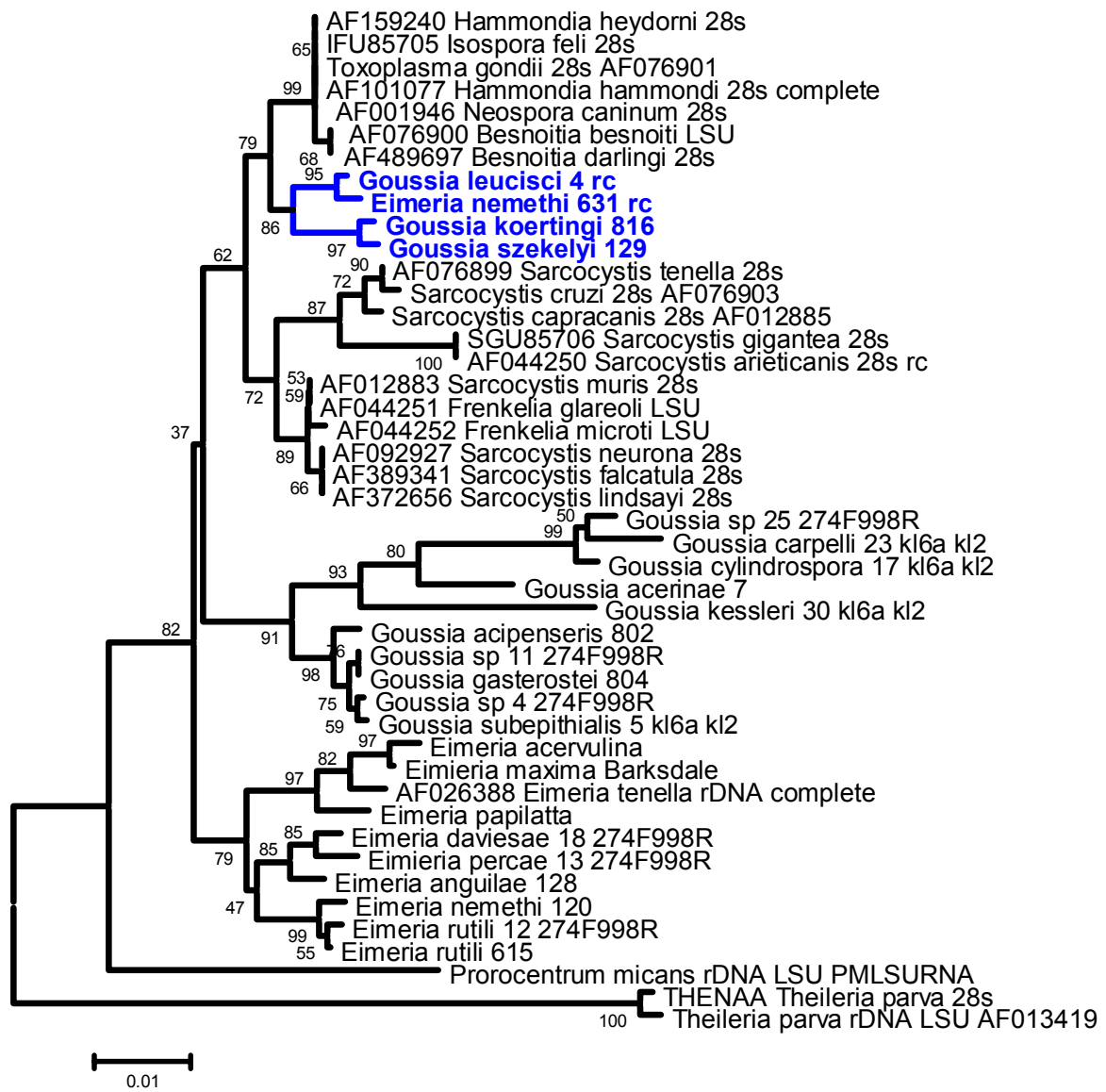
1. ábra: Halkokcidiumok elhelyezkedése a kokcidium törzsfán. A törzsfa bal oldalán az emlősök és madarak *Eimeria* típusú kokcidiumai, jobb oldalán cisztaképző fajai foglalnak helyet. A halkokcidiumok 18S rDNS szerkezetük alapján a két csoport között foglalnak helyet.



2. ábra. A halélősködő kokcidiumok 5 főbb csoportjának elhelyezkedése 18S rDNS szerkezetük alapján az emlősökből és madaraktól ismert kokcidiumokkal bővített törzsfán. A *Eimeria* csoport.



3. ábra. Bélben elszórtan fejlődő és bélben góccokat képző halkokcidiumok csoportja. A két csoport egymástól jól elkülönül, de DNS szerkezetüket illetően közelebb állnak a cisztaképző fajokhoz, mint az eimeriákhoz



4. ábra. Vesecsatornátkban és bélben epicellulárisan fejlődő halkokcidiumok csoportja

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1. GOUSSIA DESSERI 656																		
2. GOUSSIA DESSERI 654	0.0000																	
3. GOUSSIA DESSERI 653	0.0000	0.0000																
4. GOUSSIA DESSERI 652	0.0000	0.0000	0.0000															
5. GOUSSIA DESSERI 650	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014														
6. GOUSSIA SUBEPITHELIALIS 619	0.0056	0.0056	0.0056	0.0056	0.0042													
7. GOUSSIA SUBEPITHELIALIS A6	0.0056	0.0056	0.0056	0.0056	0.0042	0.0000												
8. GOUSSIA SUBEPITHELIALIS 107	0.0056	0.0056	0.0056	0.0056	0.0042	0.0000	0.0000											
9. GOUSSIA BALANTONICA 608	0.0084	0.0084	0.0084	0.0084	0.0070	0.0028	0.0028	0.0028										
10. GOUSSIA BALANTONICA 603	0.0084	0.0084	0.0084	0.0084	0.0070	0.0028	0.0028	0.0028	0.0000									
11. GOUSSIA BALANTONICA 605	0.0084	0.0084	0.0084	0.0084	0.0070	0.0028	0.0028	0.0028	0.0000	0.0000								
12. GOUSSIA BALANTONICA 602	0.0070	0.0070	0.0070	0.0070	0.0056	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014							
13. GOUSSIA BALANTONICA 638	0.0070	0.0070	0.0070	0.0070	0.0056	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014	0.0000						
14. GOUSSIA SP 4	0.0070	0.0070	0.0070	0.0070	0.0056	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014	0.0000	0.0000					
15. GOUSSIA SP 609	0.0127	0.0127	0.0127	0.0127	0.0112	0.0069	0.0069	0.0069	0.0069	0.0069	0.0069	0.0056	0.0056	0.0056				
16. GOUSSIA BALANTONICA A2	0.0112	0.0112	0.0112	0.0112	0.0098	0.0056	0.0056	0.0056	0.0056	0.0056	0.0056	0.0042	0.0042	0.0042	0.0070			
17. GOUSSIA SPP 635	0.0084	0.0084	0.0084	0.0084	0.0070	0.0028	0.0028	0.0028	0.0028	0.0028	0.0028	0.0014	0.0014	0.0014	0.0042	0.0028		
18. GOUSSIA KESSLERI 153	0.1451	0.1451	0.1451	0.1451	0.1451	0.1399	0.1399	0.1399	0.1441	0.1441	0.1441	0.1420	0.1420	0.1420	0.1446	0.1440	0.1420	
19. GOUSSIA SILICULIFORMIS 147	0.0589	0.0589	0.0589	0.0589	0.0605	0.0552	0.0552	0.0552	0.0584	0.0584	0.0584	0.0568	0.0568	0.0568	0.0570	0.0602	0.0584	0.1519

3. táblázat. A bélben gócos kokcidiózist okozó Goussia fajok 18S rDNS szekvenciáinak egymáshoz viszonyított aránya.

Megjegyzések: A témavezető a korábbi OTKA-kutatásai általában 6-15 közleményt eredményeztek. Ezek a jelen OTKA munka során elmaradtak, s a kutatás nem tűnik kellőképpen eredményesnek. A témavezető véleménye szerint a megírandó eredmények publikációjához napjainkban már feltétlenül szükség van a molekuláris háttér biztosítására. Ezen a területen csak témacsoportunknak és partnerünknek vannak adatai. Ezek hamarosan véglegesíthetők lesznek, magukba foglalják a vizsgált fajok 18S rDNS-ének a táblázatokban feltüntetetteknél hosszabb szakaszának vizsgálatát, és kiegészülnek a 28S rDNS szekvenciák valamint a plasztid RNS vizsgálatával. Ezek lehetővé teszik, hogy a talált, még meg nem határozott, morfológiailag azonosnak tűnő fajokat egymástól elkülönítsük, illetve, előre láthatólag, több faj önállóságát megkérdőjelezzük.

A közlemények megjelenése a következő két évben esedékes.