

Jelentés:

Az OTKA T042464 témáról.

Halélősködő nyálkaspórások fejlődésének, kórtanának és fajlagosságának vizsgálata kísérletes és molekuláris biológiai módszerekkel.

2003-2006.

Mint azt részjelentéseinkben már ismertettük, a nyálkaspórások kutatásában a vállalt munkafeladatoknak megfelelően haladtunk előre, jóllehet az egyes részfeladatok teljesítésére az adottságoknak megfelelően más-más hangsúlyt helyeztünk.

1/ Új eredményeket értünk el a Magyarországon halakban élősködő nyálkaspórák fajok kimutatásában, előfordulásuk és szezonális megjelenésük meghatározásában és az egyes fajok által okozott kóros elváltozások lokalizációjában és jellemzésében. A megjelent közlemények mellett több megírandó, félig kész kéziratunk van, melyet a molekuláris vizsgálatok elkészülése után véglegesítünk. Ebben a résztémában típus-feladatként a domolykó *Myxobolus* fertőzöttségét dolgoztuk fel komplex módon. A munkában átfogó képet adtunk a dunai domolykó *Myxobolus*-fajainak előfordulásáról, hangsúlyozva az egyes élősködőfajok prevalenciáját, a fertőzöttség intenzitását, szezonálisitását, szerv-, szövet- és gazdaspecificitását. Az adott fajok DNS szerkezetét megállapítva lehetőséget teremtettünk arra, hogy az általunk tanulmányozott élősködők molekuláris mintázatát az egyéb halakról származó, morfológiailag hasonló spórákkal összevethessük. Domolykón (*Leuciscus cephalus*) végzett vizsgálatunkat a hal könnyű begyűjthetősége és erős fertőzöttsége indokolta. Az adott halfajon 5 ismert *Myxobolus* fajt azonosítottunk, 1 fajt újként írtunk le, két fajt *Myxobolus* sp.-ként jelöltünk, azonban az újabb spóragyűjtések nyomán pontosított morfológiai adatok, és azok további mintákon végzett molekuláris vizsgálata lehetővé tette, hogy közlésre már benyújtott kéziratunkban ezeket is új fajkként (*Myxobolus gayerae* és *M. alvarezae*) írjuk le. Munkánkban hangsúlyozzuk, hogy a morfológiailag rendkívül hasonló, de lokációjukban kis mértékben eltérő (kopoltyúlemezeken, ill. kopoltyúredőkön talált) spórák DNS szerkezetüket illetően jól elkülönülnek egymástól. Ugyancsak hangsúlyozzuk, hogy csak az eredetileg is domolykóból leírt fajokat tekintjük biztosan azonosított fajnak, s az egyéb (közel rokon) halakról leírt fajokkal azonosított fajaink rendszertani státusa az eredeti gazdáról legyűjtendő spórák molekuláris vizsgálata után változhat. Szerkesztési stádiumban van egy munkánk, melyben a halak uszonyán élősködő *Myxobolus* fajok közül 6 fajt hasonlítottunk össze morfológiai és molekuláris módszerrel. Ugyancsak szerkesztésre kész egy munkánk a dévér szívében élő *Myxobolus dogieli* faj kórtanáról, egy másik pedig a vörösszárnyú keszeg veséjében élő *Myxobolus* fajról.

2/ Külföldi, pl. Malaysiában és Dél-Afrikában tett tanulmányútjaink során a témához szorosan kapcsolódó kutatást végeztünk, és elsősorban az ott endémikus halfajok nyálkaspórások ill. coccidiumok által okozott fertőzöttségét tanulmányoztuk. Az ilyen gyűjtő-utak keretében amellet, hogy bőséges összehasonlítási anyagra tettünk szert, részben ismeretlen fajokat jellemeztünk, morfológiai és kórtani módszerekkel, részben pedig az ugyancsak spórák coccidium fajok vizsgálatával, egy később sikeresen elnyert OTKA-pályázat alapjait raktuk le. Malaysiából az ismert *Myxobolus* és *Henneguya* genusok új fajai mellett három, csupán Dél-Ázsiára jellemző, szövetspecifikus *Hennegoides* fajt is leírtunk. A munka jelentőségét erősíti, hogy az adott élősködőket ketrecekben intenzíven nevelt, újonnan tenyésztésbe fogott halfajokról mutattuk ki egy TÉT megállapodás keretében.

3/ Hasonló képen haladtunk előre az alternatív gazda oligochaetákban élő nyálkaspórák stádiumok kimutatása területén is. Egy vizsgálatban, melyben a különböző biotópokról (tógazdaságok, Duna, Tisza, Balaton, Kis-Balaton) begyűjtött oligochaetákból kirajzó actinospóra stádiumokat hasonlítottuk össze morfológiai és molekuláris biológiai

módszerekkel, számos eddig ismeretlen actinospóra alakot jellemeztünk, és vetettünk össze a halakban élő myxospóra stádiumokkal, illetve, külföldön ismert fajokkal. Meglepően kevés myxospóra-actinospóra azonosságot találtunk, ami arra utal, hogy a létező fajok száma jóval nagyobb, mint azt feltételeztük. Ugyanezen vizsgálatok keretében egy új típusú actinospóra szerkezetet figyeltünk meg, melyet hungactinomyxon típusként írtunk le.

4/ Az OTKA kutatás nyújtotta segítséggel megvalósított kongresszusi részvételünket (Dél-Afrika, Ichthyoparasitological Symposium) felhasználva Dél-Afrikából is actinospóra-mintákat gyűjtöttünk, és azokat közleményként ismertettük. Dél-Afrikában valamint Portugáliában, elsőként mutattunk ki actinospórákat oligochaetákból. Ezek a minták morfológiailag sokban emlékeztettek a magyarországi mintákra, de folyamatban lévő molekuláris vizsgálataink az esetleges azonosságot kizárni látszanak.

5/ Actinospórákkal végzett kísérleteink felhívták figyelmünket arra, hogy egyes kísérletekben rendkívül kevés az egyébként erősen fertőzött oligochaetákból kirajzott actinospórák száma. Vizsgálataink arra mutattak rá, hogy az iszapminták feletti vízben esetenként elszaporodnak a cyclopsok, melyek az actinospórákat bekebelezik. A megfigyelést *M. pseudodispar* fajjal kísérletesen is tanulmányoztuk, és megállapítottuk, hogy a cyclopid copepodák az actinospórákat a vízből kiszűrik. Azt is megállapítottuk, hogy a cyclops belében a spórák károsodnak, s ezáltal a tavakban a nyálkaspórák fertőzöttsége kialakulását a tóban lévő copepoda fauna jelentősen befolyásolhatja

6/ Munkatervünknek megfelelően több alkalommal is megkíséreltük egy-egy nyálkaspórák fajjal a teljes fejlődési ciklus nyomon-követését. Ezt következetesen a korábban már tanulmányozott *Myxobolus pseudodispar*on kívül csak a *M. intimus* fajjal tudtuk többször megismételhető módon végrehajtani, de keresztfertőzési kísérleteket ezzel a fajjal nem tudtunk végezni. A rendkívül hosszú, bizonytalan kimenetelű és munkaigényes kísérletek láttán jutottunk arra következtetésre, hogy a nehézkes kísérletek helyett az egyes actinospóra-myxospóra párokat molekuláris összevetéssel próbáljuk megtalálni, s ennek a jövőben kiterjedten végzendő módszernek volt próbája a 3. pontban említett vizsgálat.

7/ A nyálkaspórással végzett munkánk jelentősen hozzájárult ahhoz, hogy tapasztalatainkat egy nemzetközi kooperáció keretében *Myxobolus* fajokról készített synopsis formájában hasznosíthassuk. Az adott munkában a világon eddig leírt fajokat, s az azokra található adatokat felsoroltuk, de egyelőre kritikai észrevételekkel nem láttuk el.

8/ Ugyancsak a nyálkaspórák gyűjtése, a rendelkezésre álló gazdag fajgyűjtemény készítette külföldi partnereinket arra, hogy az általunk gyűjtött anyagot monoclonális technikával vizsgálják, s azok nyálkaburkát illetően következtetéseket vonjanak le. A munkához a témavezető biztosította a vizsgálati anyag zömét.

9/ Az OTKA-kutatás során több esetben jutottunk olyan adatokhoz, melyek a nyálkaspórással oki összefüggésben nem voltak, de az adott kutatás tette lehetővé az adott parazitózis felismerését.

10/ Legnagyobb előrehaladást a DNS technika alkalmazása területén értük el. A munka rutinszerűen folyik laboratóriumunkban, s törekszünk arra, hogy valamennyi vizsgált *Myxosporea* fajt molekuláris adatokkal is jellemezzünk. A technika bővebb használatának csak költséges volta szab határt, ezért a vizsgálatokat esetenként kooperációban végezzük.

11/ Eredményeink bővebb kifejtésétől jelen jelentésben eltekintünk, mivel azok többsége jeles nemzetközi halkórtani és parazitológiai jellegű szaklapokban publikálásra került, s azokra már eddig is több hivatkozás történt. Úgy véljük, hogy tudományos értelemben teljesítettük kitűzött céljainkat, még akkor is, ha azokat menet közben módosítottuk. A módosításokra elsősorban a DNS technika növekvő szerepének felismerése miatt került sor. Ennek a viszonylag drága technikának saját, hazai és külföldi partnereink által való alkalmazásával a kutatás során gyűjtött anyagból további ismeretek merítése lehetséges.

- 1/ Rácz, O. Z., Székely, Cs., Molnár, K. (2004): Intraoligochaete development of *Myxobolus intimus* (Myxosporea: Myxobolidae), a gill myxosporean of the roach (*Rutilus rutilus*). *Folia Parasitologica* 51: 199-207.
- 2/ Molnár, K., Avenant-Oldewage, Székely, Cs. (2004): A survey of coccidian infection of freshwater fishes in South Africa, with the description of *Goussia anopli* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae). *Systematic Parasitology*. 59: 75-80.
- 3/ Székely, Cs., Avenant-Oldewage, A., Molnár, K. (2004): Description of a new actinosporean type from South African freshwaters. *Dis. Aquat. Org.* 61: 95-102.
- 4/ Eiras, J. C., Molnár, K., Lu, Y. S. (2005): Synopsis of the genus *Myxobolus* Bütschli, 1882 (Myxozoa: Myxosporea: Myxobolidae). *Systematic Parasitology*. 61: 1-46.
- 5/ Rácz, O.Z., Eszterbauer, E., Molnár, K. (2005): Hungactinomyxon a new actinosporean type and collective group (Myxozoa) from *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta). *Syst. Parasitology*, 61: 107-113.
- 6/ Rácz, O.Z., Székely, Cs., Molnár, K. (2006): The role of copepodes (*Cyclops* spp.) in eliminating the actinospore stages of fish-parasitic myxozoans. *Acta Vet. Hung.* 54: 61-70.
- 7/ Molnár, K., Székely, Cs., Mohamed, K., Shaharom-Harrison, F. (2006). Myxozoan pathogens in cultured Malaysian fishes. I. Myxozoan infection of the sutchi catfish. *Dis. Aquat. Org.* 68: 209-218.
- 8/ Molnár, K., Székely, C., Mohamed, K., Shaharom-Harrison, F. (2006): Myxozoan pathogens in cultured Malaysian fishes. II. Myxozoan infections of redtail catfish *Hemibagrus nemurus* in freshwater cage cultures. *Dis. Aquat. Org.* 68: 219-226.
- 9/ Morris, D. J., Molnár, K., Longshaw, M., Adams, A. (2006): Immunostaining of spores and plasmodia of disparate myxozoan genera with comments on the properties of the sporular mucus envelope. *Parasitology*, 132: 781-790.
- 10/ Eszterbauer, E., Marton, S., Racz, OZ, Letenyei, M., Molnár, K. (2006): Morphological and genetic differences among actinosporean stages of fish-parasitic myxosporeans (Myxozoa): difficulties in species identification. *Systematic Parasitology* 65: 97-114.
- 11/ Molnár, K., Marton, S., Eszterbauer, E., Székely Cs. (2006) Comparative morphological and molecular studies on *Myxobolus* spp. infecting chub from the River Danube, Hungary, and description of *M. muellericus* sp. n. *Dis. Aquat. Org.* 73: 49-61.
- 12/ Molnár, K. (2005): Histopathological changes caused by the metacestodes of *Neogryporhynchus cheilancristrotus* (Wedl, 1855) in the gut of the gibel carp, *Carassius gibelio*. *Acta Vet. Hung.* 53: 45-52.
- 13/ 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.

Hivatkozás:

**Rácz, O. Z., Székely, Cs., Molnár, K. (2004):  
Intraoligochaete development of *Myxobolus intimus* (Myxosporea: Myxobolidae), a gill  
myxosporean of the roach (*Rutilus rutilus*). *Folia Parasitologica* 51: 199-207.**

Cone DK, Yang J, Sun GL, Song Y, Gao O

Taxonomy and molecular phylogeny of *Myxobolus bilobus* n. sp. (Myxozoa) parasitizing  
*Notemigonus crysoleucas* (Cyprinidae) in Algouguin Park, Ontario, Canada.

DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS 66 (3): 227-232 SEP 23 2005

Hallett SL, Atkinson SD, Erseus C, El-Matbouli M.  
Myxozoan parasites disseminated via oligochaete worms as live food for aquarium fishes:  
descriptions of aurantiactinomyxon and raabeia actinospore types  
DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS 69 (2-3): 213-225 APR 6 2006

Morris DJ, Adams A  
Transmission of freshwater myxozoans during the asexual propagation of invertebrate hosts  
INTERNATIONAL JOURNAL FOR PARASITOLOGY 36 (3): 371-377 MAR 2006

**Eiras, J. C., Molnár, K., Lu, Y. S. (2005): Synopsis of the genus *Myxobolus* Bütschli, 1882 (Myxozoa: Myxosporea: Myxobolidae). Systematic Parasitology. 61: 1-46.**

Tajdari J, Matos E, Mendonca I, Azevedo C  
Ultrastructural morphology of *Myxobolus testicularis* sp. n., parasite of the testis of  
*Hemiodopsis microlepis* (Teleostei: Hemiodontidae) from the NE of Brazil  
ACTA PROTOZOologica 44 (4): 377-384 NOV 2005

Casal G, Matos E, Azevedo C  
A new myxozoan parasite from the amazonian fish *Metynnis argenteus* (Teleostei,  
Characidae): Light and electron microscope observations  
JOURNAL OF PARASITOLOGY 92 (4): 817-821 AUG 2006

Zhang JY, Wang JG, Li AH, et al.  
Redescription of *Myxobolus pyramidis* Chen, 1958 (Myxosporea: Bivalvulida)  
PARASITOLOGY RESEARCH 99 (1): 65-69 JUN 2006

Lom J, Dykova I  
Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic  
species  
FOLIA PARASITologica 53 (1): 1-36 MAR 2006

**Rác, O.Z., Eszterbauer, E., Molnár, K. (2005):  
Hungactinomyxon a new actinosporean type and collective group (Myxozoa) from  
*Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta). Syst. Parasitology, 61: 107-113.**

Lom J, Dykova I  
Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic  
species  
FOLIA PARASITologica 53 (1): 1-36 MAR 2006

## Önhivatkozás:

**Molnár, K., Székely, C., Mohamed, K., Shaharom-Harrison, F. (2006):  
Myxozoan pathogens in cultured Malaysian fishes. II. Myxozoan infections of redtail  
catfish *Hemibagrus nemurus* in freshwater cage cultures. Dis. Aquat. Org. 68:  
219-226.**

Molnar K, Szekely C, Mohamed K, Shaharon-Harrison F  
Myxozoan pathogens in cultured Malaysian fishes. I. Myxozoan infection of the sutchi  
catfish.  
Dis. Aquat. Org. 68: 209-218.

**Rác, O. Z., Székely, Cs., Molnár, K. (2004):  
Intraoligochaete development of *Myxobolus intimus* (Myxosporea: Myxobolidae), a gill  
myxosporean of the roach (*Rutilus rutilus*). Folia Parasitologica 51: 199-207.**

Racz O, Szekely C, Molnar K  
The role of copepods (*Cyclops* spp.) in eliminating the actinospore stages of fish-parasitic  
myxozoans

ACTA VETERINARIA HUNGARICA 54 (1): 61-70 2006

**Eiras, J. C., Molnár, K., Lu, Y. S. (2005):**

**Synopsis of the genus *Myxobolus* Bütschli, 1882 (Myxozoa: Myxosporea: Myxobolidae).  
Systematic Parasitology. 61: 1-46.**

Eiras JC

Synopsis of the species *Ceratomyxa* Thelohan, 1892 (Myxozoa: Myxosporea: Ceratomyxidae)  
SYSTEMATIC PARASITOLOGY 65 (1): 49-71 SEP 2006