

Válasz Prof. Dr. G.-Tóth László, az MTA Doktora bírálatára

Mindenekelőtt szeretném megköszönni Dr. G. Tóth László professzor úrnak disszertációm bírálatát, bírálatának pozitív hangnemét, elismerő szavait.

Az alábbiakban a félkövér szedéssel idézett megjegyzésekhez fűzött kiegészítések, majd a kérdésekre adott válaszok következnek.

Az értekezés címével kapcsolatos felvetés, miszerint a jelenség nem csupán a vízi ökoszisztémák diverzitását és stabilitását, hanem sok millió ember ivóvizet, táplálékát, egészségét veszélyezteti, a cím nyomatékosabban utalhatna erre is.

A bíráló címmel kapcsolatos felvetésével egyetértek, az algatoxinok nem csupán élőlényközösségekkel kapcsolatos, hanem humán problémákat is felvetnek és az eredmények kétségtelenül érintik ezeket a kérdéseket, ugyanakkor a dolgozat, illetve az abban bemutatott saját eredmények elsősorban a környezet-terheléssel és a toxinok változatosságával foglalkozik.

Az eukarióta *Prymnesium parvum* alga toxintermelésének ismertetését egy részletes módszertani fejezet követi a szerző által alkalmazott kapilláris elektroforézis módszerről a kékalga toxinok szétválasztásában és további meghatározásában, amely a szerző munkásságának egy kiemelkedő vállalkozása.

A magyarázatom tulajdonképpen a bevezetésben felvetett gondolatokban rejlik. Fontosnak tartom hangsúlyozni a különbségeket az elsősorban tengerekben, óceánokban előforduló eukarióta fajok által előidézett tömeges megjelenések az édesvizekben előforduló cianobakteriális algavirágzások között. A *Prymnesium parvum* egy brakkvizekre jellemző algafaj, amelynek toxintermelése, és ahogyan arra saját eredményekkel rávilágítunk, annak kapcsolata a mixotrófiával elsősorban a tengeri fajok toxintermelésével együtt tárgyalandó. A többi fejezet a cianobakteriális toxinokkal kapcsolatos eredményekre és azok háttérismereteire fókuszál. Kétségtelen, hogy a környezetanalitikai módszerfejlesztés fejezet az eredmények tárgyalása során annak elejére vagy a végére kívánczik, de tematikusan a cianobakteiális toxinokhoz szerettem volna mindenképpen rendelni.

Mi az elméleti alapja, vagy intellektuális magyarázata annak a merészségnek, hogy mustár csíranövényen, vagy haszonnövényeken teszteljék szerte a világban a neurotoxikus, vagy hepatotoxikus molekulákkal terhelt öntözővizek hatását, hiszen a növényeknek nincs sem idegrendszere, sem mája?

A mustár csíranövényteszt az ökotoxikológiában már régóta alkalmazott közkedvelt bioteszt, ami elsősorban a növény gyors csírázásának, magméretéből adódó jó kezelhetőségének és egyes mikroszennyezőkkel szembeni érzékenységének köszönhető. Összevetve a hagyományos biotesztekkel (pl. guppi, egér, patkány, tengerimalac stb.) illetve a modern sejt

és szövetkultúrákon alapuló *in vivo* illetve *in vitro* rendszerekkel, kifejezetten olcsónak is mondható. Ebből adódóan rutin tesztként környezet-analitikai, környezet-egészségügyi laboratóriumokban, valamint egyes fejlődő országokban, ahol az algatoxin-analitika kritikus humán-egészségügyi probléma, egyaránt hatékonyan használható.

Teljesen jogos volt a felvetés, hogy az említett teszt érzékeny-e egyes algatoxinokra. Kós és mtsai (*Anal. Biochem.* 1995, 225.49-53.) bizonyították a ciklikus peptid típusú mikrocisztinekre való érzékenységét, Vasas és mtsai (*Anal. Biochem.* 2002, 302. 95-103.) az alkaloid típusú cilindrospermopszinekre bizonyította ugyanezt (a jelölt saját eredménye, ugyanakkor PhD dolgozatában szerepeltette ezeket az eredményeket, ezért MTA doktori értekezésében értelemszerűen nem hangsúlyozta). Ezen toxinok ismereteink szerint interferálnak a növényi anyagcserével. Fontos megjegyezni, hogy hagyományosan ugyan hepatotoxinokról beszélünk, de részletes hatásmechanizmusuk alapján érdemes (és a tudományos szakirodalomban elterjedtebb is) inkább proteinfoszfátáz-gátlóknak (mikrocisztinek) illetve fehérjeszintézis gátlóknak (cilindrospermoszin) nevezni őket. Az említett alapanyagcsere-folyamatok növényi rendszerekben is jelen vannak, értelemszerűen ezért fejtenek ki gátló hatást (növekedés szinten is!) a növényekben. A kezelt növények növekedését 72 h elteltével a kontroll (toxinmentes kivonat illetve vízminta) növények növekedéséhez (hosszúság mm-ben) viszonyítva, viszonylag egyszerűen tudunk IC_{50} értéket számolni, amely az adott toxinról, toxin tartalmú kivonatról, vízmintáról illetve azok toxicitásáról érdemi információt szolgáltat. Nem mellesleg, ezek az eredmények egybevetethetők a jóval drágább egérteszt szolgáltatása LD_{50} értékekkel.

Érdekes jelenség a neurotoxinok kérdése. Az anatoxin-a, acetilkolin-receptor blokkolóként növekedésgátlást ugyan nem okoz a növényekben, de határozottan kimérhető oxidatív stresszt indukál. Ugyanakkor fontos hangsúlyozni, hogy a neurotoxikus anatoxin és szaxitoxin származékokat rutin növénytesztel nem lehet detektálni.

A mustár csíranövényteszt tehát egyes toxinok detektálására (toxinok egyes környezeti mintákban való jelenlétének igazolására) alkalmas, de önmagában ennek az egyetlen tesztnek a segítségével a toxin élőlényekre, élőlényközösségekre való hatására következtetni nem szabad.

Mennyi ideig aktívak az algatoxinok, miután a környezetbe kerültek?

A toxinok stabilitásáról általánosságban beszélni nem lehet, szélsőséges értékeket mutatnak csoportokként. Jelenlegi ismereteink szerint a legstabilabb algatoxinok az éppen édesvizekben (hazánkban is) leggyakrabban előforduló mikrocisztin származékok. A ciklikus heptapeptidek felépítésében L és D aminosavak egyaránt részt vesznek és részben emiatt nagyfokú stabilitást mutatnak. Hőstabilak (100 °C os forralásnak ellenállnak) és a természetes vizekben előforduló fizikai, kémiai, biológiai kondíciók között is 1-2 évig stabilak maradhatnak. Több alkaloid típusú algatoxin, mint pl. a cilindrospermopszinek vagy az anatoxinok kevésbé ellenállóak, már a napfény hatására is könnyen bomlanak, néhány hét után eliminálódhatnak felszíni vizeinkből. De, hogy másik szélsőséges példát hozzak, a dolgozatomban is tárgyalt primnezinek (a *P. parvum* poliéter policiklikus toxinja) például a vizekbe kerülve néhány órán belül a víztérből teljes egészében eliminálódik csupán a napfény hatására. Ugyanakkor

fontos megjegyezni, hogy ez az időszak elegendő, hogy a primnezinek az adott víztér halfaunáját szinte teljesen megmérgezzék, és fatális halpusztulásokat idézzenek elő.

Lát-e a szerző esélyt olyan technológiai szabadalomra, amellyel élővízi, vagy halastavi eredetű öntözővíz alga-toxicitása közömbösíthető?

A toxintermelő algák esetében gyakran hangoztatott igény és néhány esetben követelmény a mérgező metabolit eliminálása, esetlegesen a toxintermelő szervezet tömeges elszaporodásának megakadályozása.

Ez utóbbira gyakran emlegetett, sajnos idejét múlt megállapítás, hogy szerves tápanyagokkal ne terheljük környezetünket, így az algák elszaporodása megszűnik. Fontos felhívni arra a figyelmet, hogy felszíni vizeink (illetve azok vízgyűjtőinek) jelentős hányadában a kellő mennyiségű foszfor illetve nitrogénformák már jelen vannak, biztosítva a fotoautolitotróf anyagcserét folytató szervezetek elszaporodását. Értelemszerűen, gondolva a jövőre, ezek felhasználásának szabályozásával hosszabb távon jelentős eredményeket lehet elérni e téren, de ezek rövid távon nem jelentenek megoldást. Ráadásul a mezőgazdasági termelés csúcsra járatásával a műtrágyák felhasználása nincs visszaszorulóban, amivel az algavirágzások kiterjedése, gyakorisága leginkább összefüggésbe hozható.

A már elszaporodott sejttömeg fizikai módszerekkel történő eltávolítása gyakran látványos eredményekhez vezethet, de csupán néhány kolóniában élő, aggregálódásra hajlamos cianobaktérium fajnál jöhet szóba a módszer. Ennek lényege, hogy a víz felszínén gázvakuólumaik segítségével lebegő sejtek tömegét „szerencsés esetben” az uralkodó szélirány part-menti területeken összegyűjti és a biomassa szűréssel, letermeléssel eltávolítható. Ilyen esetekben több mázsányi sejttömegtől is megszabadulhatunk. Sajnos a módszer csak néhány faj esetében és kivételes időjárási körülmények között kivitelezhető.

A felhalmozódott sejtek tömegének „vegyszerezése” általában rézsulfáttal illetve egyéb kemikáliákkal még mindig használatos módszer, pedig gyakran az elpusztult sejtek tömege nagyobb kárt okoz, mint ha nem vetettünk volna be semmilyen eljárást.

Ígéretes eljárásnak, technológiai alkalmazásnak tűnik az a megközelítés, amely azon az elven alapszik, hogy a cianobaktériumoknak oxid gyökökkel szemben nagyobb az érzékenysége, mint számos eukarióta algának. (pl. Barroin és Feuillade 1986. Water Research 20 (5), 619-623). Az ismert víztér esetében a cianobakteriális tömeg elszaporodásának kezdetén megfelelő (előzetesen tesztelt!) H_2O_2 koncentráció alkalmazásával az algaközösségben zöldalga, kovaalga fajok jutnak előnyhöz és a cianobakteriális algavirágzás megelőzhető. A módszer tesztelésére 2014 szeptemberében az Amszterdami Egyetemen (University of Amsterdam, Department of Aquatic Ecology and Ecotoxicology) egy nemzetközi csoport szerveződött, ahol európai vízterek algavirágzás-mintáit, vízmintáit teszteltük laboratóriumi és terepi körülmények között (résztvételemmel hazai mintákat is vizsgáltunk) az említett módszerrel.

A vízben már megtalálható toxin eliminálására agresszív oxidáló módszerek ismertek, de ezek ivóvíz-tisztítás során alkalmazhatóak. Felszíni vízterekben, élőlényközösségek jelenlétében ezek a módszerek értelemszerűen nem használhatóak.

Szintén tesztelés alatt van algavirágzások során kimutatható heterotróf szervezetekből (*Sphingomonas*, *Flavobacterium* törzsek) izolált enzimek alkalmazása a toxinok lebontására,

de ezek egyelőre laboratóriumi körülmények illetve mikro- és mezokozmosz feltételek között tűnnek bízthatónak.

Mi várható a toxintermelő algák környezetterhelése területén a klímaváltozás különféle scenáriói alapján Magyarországon?

Bírálómnak a klímaváltozással kapcsolatos kérdésre csak nagyon óvatosan szeretnék reagálni, hiszen hazánkban a klímaváltozás kockázatainak megítélésakor fontos figyelembe venni, hogy a Kárpát-medence a nedves óceáni, a száraz kontinentális és a nyáron száraz, télen nedves, mediterrán éghajlati régiók határán helyezkedik el. E határzónában az éghajlati övek kisebb eltolódása is oda vezethet, hogy országunk átcsúszhat a három hatás valamelyikének uralma alá.

Önmagában is érdekes jelenség, hogy az algavirágzásokat előidéző fajokat tanulmányozva a következő megállapításra juthatunk: Ellentétben néhány országgal, ahol jellemzően 1-2 fajt tudunk megemlíteni algavirágzást okozóként (pl. Hollandia: *Planktothrix agardii*, Skandináv területek: *Anabaena*, *Microcystis* fajok, alpesi országok: *Planktothrix rubescens*), addig hazánkban sokkal magasabb ezen fajok száma és közöttük megtaláljuk az északi területek jellemző algavirágzás okozó fajait, de a trópusi, szubtrópusi területekről származó *Cylindrospermopsis raciborskii* és *Aphanizomenon ovalisporum* fajokat is. (Szeretném hangsúlyozni pl. a *C. raciborskii* az elmúlt évtizedben több európai ország vízterének jellemző fitoplankton alkotójává vált, de algavirágzást leggyakrabban nálunk idéz elő Európában.)

A zoológiában és a botanikában gyakran hangoztatott, a Kárpát-medencére jellemző északi, déli, illetve más (pl. flóra) elemek hatásai mintha ezen jelenségek, fajok mentén is éreztetnék hatásaikat. Mindezeket figyelembe véve, a klímaváltozás forgatókönyve alapján akár a melegebb, forróbb időszakokkal számolhatunk, akár a kevésbé valószínű hűvösebb éghajlat lesz a jellemző, az ezeket a kondíciókat kedvelő toxintermelő fajok képviselői már most is jelen vannak hazánkban.

A legjellemzőbb trendnek mégis az elmúlt évtizedekben megfigyelhető folyamatot valószínűsítem, miszerint további trópusi, szubtrópusi fajok jelenhetnek meg nálunk, és mutathatnak tömeges előfordulást.

Veszélyeztetik-e a toxintermelő algák az Európai Parlament által 2014. december 18.-án megszavazott európai belvízi haltenyésztési stratégiai programot, különösen a Magyarország kormánya által benyújtott, és a Parlament által elfogadott „MAHOP” programot, amely szerint 2014-2020 közötti nemzeti gazdasági programunk egyik prioritása, és célja a nyílt- és zártrendszerű édesvízi halkultúrák létrehozása népelelmezési célból Magyarországon?

A magyarországi viszonyok között megfigyelhető algavirágzások kapcsán érdemes áttekinteni, hogy milyen hasznosítású vízterek milyen mértékben veszélyeztetettek. A leggyakrabban emlegetett ivóvízkérdés mentén talán szerencsésnek mondhatjuk magunkat hazánkban, mivel elsősorban felszín alatti vízbázisokat hasznosítunk, bár a tartalék ivóvízbázisok mentén nyári időszakban aktuális lehet a kérdés, de össze sem vethető a

probléma pl. Ausztrália vagy Brazília nyílt ivóvíztározóiban tapasztalt algavirágzásokkal és azok dokumentált következményeivel.

A rekreációs céllal hasznosított vizeinknél a Balaton esetében kevésbé, a Velencei tónál időszakosan, néhány lokális jelentőségűnek mondható víztérnél a nyári időszakban rendszeresnek mondható a probléma. Szerencsére a kisebb bőrkiütéseken túli következmények ritkán jelentkeznek, köszönhetően annak, hogy bizonyos algaörmeg megjelenése nem csupán az organoleptikus problémák miatt, hanem egyszerűen a küllemi megjelenésnek köszönhetően taszítja a fürdőzők, látogatók többségét.

Személyes megkeresések és megrendelt vizsgálatok alapján egyértelműen kijelenthető, hogy hazánkban elsősorban a horgásztavak illetve halastavak, halnevelő kultúrák esetében leggyakoribb a probléma. Egyes algák okozta tömeges megjelenésekkor toxinokhoz rendelhető elhullás illetve fejlődésben való visszamaradás egyaránt kimutatható volt. Amit komoly kihívásnak tartok, az elsősorban azzal az eredménnyel látom összefüggésben, hogy hazánkban elsősorban peptid típusú mikrocisztinek és egyéb peptid típusú cianobakteriális toxinok a leggyakoribbak. Ezek a metabolitok, mint ahogyan az értekezésben részletesen is tárgyaltam, kevésbé akut, inkább időben elhúzódó problémákat okoznak, beleértve egyes szervezetekben való felhalmozódásukat is, veszélyeztetve a tápláléklánc felsőbb szintjeit is. Ilyen veszélyeztetett édesvízi kultúrák esetén egyre több országban elterjedt a termelt halhús mikrocisztinre való szűrése (rutin analízise), hiszen elsősorban *Microcystis* fajok tömeges megjelenésével mind a víztérben, mind az ott élő szervezetekben komoly kockázat a toxinok akkumulációja.

Végezetül köszönöm bírálóm építő jellegű észrevételeit, támogató véleményét és tisztelettel kérem válaszaim elfogadását.

Debrecen, 2015. február 22.



Dr. Vasas Gábor