

Opponensi vélemény Dr. Vasas Gábor

**„Algavirágzások környezetterhelése és toxinjainak variabilitása”-című MTA Doktori
Értekezéséről**

Készítette: Prof. Dr. G.-Tóth László, az MTA Doktora, egyetemi tanár

A Magyar Tudományos Akadémia Doktori Tanácsa szabályzata szerint lehetőség van doktori címre pályázni a tudósi pályafutás kiteljesedését bizonyító publikációk különlenyomatainak egybekötött gyűjteményével és egy rövid szintetizáló értekezés csatolásával is. Ezért nagyra értékelődik az a pályázó, aki mégis komplett, kerek disszertációval pályázik az MTA Doktora cím megszerzésére. Dr. Vasas Gábor ilyen tudós kolléga. Közel 200 oldalas doktori értekezéséből az alkotás öröme sugárzik, a megírás kínja a legkevésbé. Értekezése terjedelmes, szerkesztői szempontból bírálható, ugyanakkor originális eredmények gyűjteménye, amely olvasmányos, és akár könyvkiadásra is érdemes.

Formai megállapítások:

A terjedelmes értekezés egyes sorközzel nyomtatva 153 érdemi oldalt tartalmaz mindössze 30 egyszerű, kisméretű szövegek közötti ábrával és 11 szövegek közötti táblázattal. A hivatkozott idegen publikációk száma a további 36 oldalas irodalomjegyzékben 548. Ez a szám nagyjából megfelel annak, amennyi egy MTA Doktora- értekezés végén általában „marad” abból a 4-5 ezerből, amelyet ismerni illik egy színvonalas szintézishez. Az értekezés alapjául szolgáló saját, illetve társszerzős közlemények jegyzéke 43 tételt tartalmaz. Ezen közlemények összesített impakt faktora 71,146. Az értekezésében részletesen kifejtett közlemények összesített impakt faktora azonban 25,781. Ez az arány azt is mutathatja, hogy például a szerző a tudomány roppant széles horizontján tevékenykedik. De megismerve az értekezés átfogó, szinte enciklopédikus jellegét, kiderül, hogy Dr. Vasas Gábor ugyanazon diszciplinán belül kutatva egyértelműen a Ph.D. fokozata megszerzése óta elért újabb tudományterületi eredményeit szintetizálja.

A tartalom és a forma összhangjának kérdését érinti, hogy az értekezésben kevés az ábra és a táblázat. A bemutatott kromatogramok főleg kiválasztott példák a high-tech műszerek regisztrátumainak százaiból. A tudományos eredményeket, illetve a lényegét az olvasó elsősorban a szövegből ismeri meg. Ez egyáltalán nem baj. Sőt, tekintettel arra a helyzetre, hogy a fiatal

tudományterületen az okozatok tömkelege jelenleg tereli a kutatómunkát a mögöttes mélyebb okok feltáratlan területére, kifejezetten előnyös. A toxintermelő pro- és eukariota algák létrejöttének oka ma még evolúciós értelmezésben is tisztázatlan. Az, hogy egy prekambriumi eredetű fotoszintetizáló baktérium miért termel neuro-, vagy heptotoxint, rejtély. Vagy, az algatoxinoknak nevezett vegyületek csupán semmire sem való másodlagos anyagcseretermékek lehettek? Hiszen, az első fotoszintetizálónak mutált prokarioták által termelt oxigén szintén toxikus volt az akkor elterjedt kemautilitotróf és kemoautoorganotróf prokariota világ számára.

Kézbe véve a terjedelmes disszertációt, először szorongtam a feladatom mértékétől. De már az első oldalakat is „belefeledkezve” olvastam. Kiderül, hogy egy érdekes, olvasmányos, ugyanakkor a szakterület mai állásáról szinte teljes képet nyújtó könyvet olvasok, amelyet külön színesít a szerző kilenc témában bemutatott saját munkája, és originális felfedezései. Kiadói szerkesztőként és lektorként persze nyomdába küldés előtt még számos észrevételt és javaslatot tennék. Az alábbiakban ugyanezt teszem értekezés bírálójaként is.

Az értekezés címe:

Az értekezés címe - *„Algavirágzások környezetterhelése és toxinjainak variabilitása”* – korrekt, de tekintettel arra, hogy a jelenség nem csupán a vízi ökoszisztémák diverzitását és stabilitását, hanem sok millió ember ivóvizét, táplálékát, egészségét veszélyezteti, a cím nyomatékosabban utalhatna erre is.

Az értekezés tartalomjegyzéke és az értekezés szerkezete:

A tartalomjegyzék 12 fő fejezetet, azon belül 43 alfejezetet, és azokon belül, a tartalomjegyzék harmadik rétegében még további 84 al-alfejezetet tartalmaz. Ezek számozva vannak ugyan, de sajnos nincsenek vizuálisan, szintenként kiemelve a betűk nagyságával, vagy tabulálással, hogy az olvasó számára a tartalomjegyzéket „átfutva” megjelenjen egy világos szerkezet. Helyette egymás alá ömölve lát 139 monoton egysoros tömondatot. Ez nagyon megnehezíti a legelső tájékozódást, mert az ember könnyen elkezd ezek automatikusan elolvasni fentről lefelé. Ez kb. így fest: 1. Bevezetés és célkitűzés; 2. Irodalmi áttekintés; 2.1. Vízirágzás és algavirágzás, 2.2. Mérgező tengeri algák és mérgezések; 2.2.1. Bénulásos kagylómérgezés; 2.2.2. Neurotoxikus kagylómérgezés; 2.2.3. Ciguatera halmérgezés.... stb, Azután sokkal lejjebb van egy olyan alcím sorozat, hogy 4. Cianobakteriális toxiknok kapilláris elektroforézise; 4.1. Kihívások az algatoxin analitikában; 4.2. Mintaelőkészítés, 4.3. Biológiai módszerek, majd

sokminden következik a tartalomjegyzék következő oldalain. Végül az Összefoglalás (9. fejezet) után nagy meglepetésként jön a 10. fejezet: „Anyag és Módszer”.

Ha tehát az olvasó nem figyel a számozásra, akkor meglehetősen összefüggéstelen címszavakat és cím mondatokat olvas csak egymás alatt. Ha azonban az olvasó/ bíráló a 12 főfejezet címeit válogatja csak ki a homogén szövegtömbökből, máris kivilágosodik az a 9 fő tématerület, amelyet aztán Dr. Vasas Gábor az értekezésben tudományos igénnyel, és egyben élvezetesen, olvasmányosan kifejt. Saját kitűnő eredményei pedig olyan ügyesen vannak példaként, modern módszertani ismertetéseként, esettanulmányként, vagy magyarországi kuriózumként beépítve a fejezetekbe, hogy szinte fel sem tűnnek. Ezt úgy értem, hogy a szerző tökéletesen megoldotta azt a követelményt, hogy saját új eredményeit értelmezze és értékelje az irodalmi tudásháttér szempontjából is.

Az irodalomjegyzék tagolásával szembeni kritikám csupán formai, szerkesztési természetű, de fontos lehet, ha pl. egy könyvről lenne szó. Ebből a szempontból sokkal informatívabb az értekezéshez csatlakozó „Tézisfüzet” szerkezete.

Az értekezés témájának időszerűsége tudományos és gyakorlati szempontok szerint:

Áttérve az értekezés tartalmára, a kutatott téma világszerte nagyon időszerű és nagy gyakorlati jelentőségű. A szerzőt idézve: *„Az elmúlt évtizedekben széles körben elterjedt az a felismerés, hogy az eutrofizáció következményeként felszíni vizeinkben megjelenő algatoxinok komoly természetvédelmi, humán-egészségügyi problémaként is jelentkezhetnek...a tömegesen megjelenő fotoszintetizáló planktonikus szervezetek egy része nagy választékban termel szokatlan metabolitokat, amelyek természetes funkciója nem világos...az első megismert algatoxinok sokkal veszélyesebbnek mutatkoztak a szárazföldi gerincesekre, mint a vízi élőlényekre. Néhány toxin erős idegméreg, mások a májat károsítják, megint mások gastroenterális jellegű betegségeket idéznek elő.”*

„Értekezésünk fő célja az algavirágzások toxin variabilitásának tanulmányozása, azon belül is elsősorban a cianobakteriális toxintermelés sajátosságainak és következményeinek kutatása.”

A motiváció és a cél világos. Az ilyen indíttatású hazai kutatások vonulatában azonban az időzítés annyiban megkésett, hogy az eutrofizáció az 1970-1990-es évtizedekben jelentkezett a legdrámaibban. Hazánkban Szegeden, Tihanyban, Debrecenben fel-fellángolt ugyan a kutatói lelkesedés ez irányban, de az irányzat nem maradhatott tartós. Ezért is jelentős, hogy most előttünk

van egy, az algavirágzások toxikus vonatkozásaival kapcsolatban készült átfogó „MTA Doktori Értekezés”.

A téma kutatásának hazai fluktuálását talán a korábbi kétértelmű eredmények okozták: drámai kékalga algavirágzások nagy tavainkban és halastavainkban, toxicitás nélkül. Utána hirtelen roppant toxikus algavirágzás észlelése egy bányatóban. Pozitív teszteredmények természetes tavakból izolált törzsekkel egéren, borjúvér-tesztben, *Daphnia*-n, halakon, haszonnövényeken, de olyan magas dózisban, és olyan kísérleti körülmények között, amelyek a természetben ritkán alakulnak ki.

A mortalitási tesztek negatív eredményei, ugyanakkor toxikus hatás kimutatása csigák agyi neuronjai ingerületvezetésében jóval a szubletális koncentrációk alatt.

A tudományos bizonytalanságok dacára két körülmény világosan mutatja, hogy téma társadalmi szempontok miatt Magyarországon roppant releváns: egyrészt a városlakó humán populáció érzékenységeinek drámai növekedése az allergén ágensekkel szemben, másrészt a globális felmelegedés, amely a szubtrópusi, valóban toxintermelő algák megjelenési valószínűségét növelik a Kárpát-medence felszíni vizeiben is.

Az értekezés 3. fejezete („Aranyalga-fejezet”) lokális magyarországi terepi megfigyelésekre alapozva bizonyítja, hogy egyes algatoxinok a kagylókban, halakban akkumulálódnak. Tehát, halastavi előfordulás esetén a piacra termelt halakban is akkumulálódik a mérge. Ha ezt összekötjük az Európai Unió azon törekvéseivel, hogy az Északi-tengeri hering és tőkehal túlhalászás mérséklése céljából a 2014-2020 közötti periódusban kiemelten támogatja az édesvízi tógazdasági haltenyésztést, akkor egyértelmű, a kékalga virágzások toxikusságának kutatásában megkezdett hazai út aktualitása az tógazdasági haltermelés oldaláról.

Az értekezés tartalmi véleményezése olvasatának folyamatában:

A 2. fejezet („Irodalmi áttekintés”) látszólag összefüggéstelen című alfejezeteit összeolvasva mégis a fő célkitűzéseinek alapos tartalmi indoklását kapjuk. E fejezetből megismerjük a tengeri és édesvízi algavirágzások sajátosságait, számos irodalmi példa alapján a különféle toxikus kékalga mérgezések eseteit, a 12 leggyakoribb algatoxin kémiai szerkezetét, hatásait a legkülönbözőbb filogenetikai eredetű szervezetekre a baktériumoktól az békés algákon át edényes növényekig (mustármag csíra, fűfélék), a mikroszkópikus méretű állati plankton szervezetektől az emlősökig. A magam részéről ehhez a fejezethez kapcsoltam volna 2. és 3. fejezetként a prokariota és az eukariota algák toxintermelésének sajátosságainak jellemzését. A szerző nem ezt a logikát követte. A

2. fejezet után belevágott az eukarióta *Prymnesium parvum* alga toxintermelésének ismertetésébe, és az ezzel kapcsolatos magyarországi kutatásainak és originális felfedezésének (extracellulárisan ható proteáz-termelésének bizonyítása) részletezésébe (3. fő fejezet). Ha már így adta a felfedezői motiváltság, csak nekem szokatlan, természetes, hogy ezt egy részletes módszertani fejezet követi szerző által alkalmazott kapilláris elektroforézis módszerről a kékalga toxinok szétválasztásában és további meghatározásában, amely a szerző munkásságának egy kiemelkedő vállalkozása (4. fejezet). Ezt követi a cianobakteriális toxintermelés sajátosságainak, a toxin bioszintézis molekuláris (genetikai) szabályozásának, a toxintermelés lehetséges funkcióinak (kompetíciós előny szerzése a tápanyagokért, fogyasztók elleni védelem, fiziológiai segédanyag a membránokon keresztüli anyagtranszportban, kémiai jelátvivő feladatok), avagy értelmetlenségének (a toxinok valójában értelmetlen másodlagos anyagcseretermékek) általános diszkutálása az 5. fejezetben. Ez az a fejezet tehát, amelyet én előbbre tettem volna. Ugyanakkor ebbe, az 5. fejezetbe épülnek be virtuóz módon a toxintermelést kiváltó okokra, és a toxintermelés vas, kén, nitrogén és foszfor limitáltságára vonatkozó saját originális kutatási eredmények. Végeredményben tehát helyén van így a toxicitással kapcsolatos általános ismertető.

Az értekezés 3.-5. fejezetében bemutatott új tudományos eredményeket a szerző a 6. fejezetben 4 saját esettanulmánnyal szemlélteti: (i) Mikrocisztinek, mikrocisztin-termelők előfordulása, (ii) Toxintermelő *Microcystis* kolóniák azonosítása jégből, egy alternatív áttelelési stratégia, (iii) *M. aeruginosa* tömeges megjelenése egy kerti tóban, (iv) *Plantotrix* fajok toxintermelése. A 7. fejezetet a szerző a *Cylindrospermopsis raciborskii* kékalga magyarországi térhódítása történetének szenteli.

Az értekezésben teljesen indokolt, sőt, szükséges is az önálló *Cylindrospermopsis*-fejezet, hiszen a szubtrópusi eredetű *C. raciborskii* megjelenése és látványos inváziója okozta a legnagyobb ökológiai gondot a magyarországi tavakban, többek között a Balatonban is az 1980-as évek elején. Gorzó György, Vörös Lajos, Padisák Judit, G.-Tóth László, Kovács Attila kutatásai részletesen feltárták a *C. raciborskii* ökológiáját, szaporodását, az akinéták túlélési idejét az üledékben stb. Ehhez járulnak hozzá a szerző kutatásai 14, a világ különböző tájáról begyűjtött *C. raciborskii* és *Aphanizomenon ovalisporum* izolátumon, ill. kultúrán.

A szerző beszerezte, begyűjtötte, izolálta, és kultúrákban fenntartotta e törzseket, amelyek *cylindrospermopsin* termelését és a termelt anyag toxicitását kísérletesen tanulmányozta. A sok

éven át tartó munka meglepő eredménye az volt, hogy az izraeli és az ausztráliai törzsek termeltek toxint, míg a magyarországiak nem. 2012-ben azonban a Debrecen melletti Fancsika tározó- és horgásztóban egy masszív *C. raciborskii* vízvirágzás alatt tonnányi mennyiségű hal pusztult el, és haltetemekből lakmározó kóbor macskák is elhaláloztak. A szerző az algavirágzásból gyűjtött mintákban standard módszerekkel szintén nem mutatott ki sem mikrocisztint, sem cylindrospermopsint, sem anatoxin-a-t. Ugyanakkor, a Magyar Tudományos Akadémia Ökológiai Kutatóközpont Limnológiai Intézetében (Tihany) a Dr. Vehovszky Ágnes, és mások vízcisigák azonosított központi idegrendszeri sejtjeinek ingerület átvitelében kimutattak egy olyan hatást, amely mégiscsak anatoxin-a típusú neurotoxikus molekula jelenlétét bizonyította a Fancsika-tározóban. A tanulság egyértelmű, a letális hatások megértéséhez az infinitezimális anyagmennyiségek szubletális hatásának finom érzékelése vezet.

E nagyszerű fejezetet a szerző a világhódító *Cylindrospermopsis* (korábban *Anabaenopsis*) *raciborskii* leíróinak, származási helyének, és magyarországi megjelenése első hiteles dokumentálóinak szenteli. A bíráló kötelessége megjegyezni, hogy az értekezésben *C. raciborskii*, korábban *Anabaenopsis raciborskii*) néven nevezett kékalga faj eredeti leírásában, elnevezésében és magyarországi megjelenésének első kimutatásában bizonytalanság uralkodik, melyet a faj jelenlegi tudományos neve is tükröz: *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju.

Az értekezés tartalmi véleményezése a mű szintézisében:

Az értekezés első célja az algavirágzások toxin-variabilitásának, a toxintermelés sajátosságainak, és az algatoxinok hatásának sokoldalú bemutatása volt. Véleményem szerint a fő cél teljesült;

A második cél a hazai szikes vizekben gyakori *Prymnesium parvum* eukarióta alga által okozott mérgezéses esetek kivizsgálása volt. A szerző originális eredményt ért el a faj által termelt toxikus proteolitikus hatóanyagcsalád felfedezésében, és jelentőségének bizonyításában laboratóriumi analízisek és terepi esettanulmányok alapján;

A harmadik cél rutin analitikai módszerek kidolgozása volt a gyakorlat számára az algatoxinok közvetlen kimutatására folyókban, tavakban, víztározóinkban, halastavakban, akvakultúrákban és öntözővizekben, és a cél teljesült;

A negyedik cél a kéalgák toxintermelése kén, foszfor, nitrogén és vas limitáltságának meghatározása volt az *Aphanizomenon ovalisporum* tesztalga példáján, amely originális eredménnyel járt a kénellátottság és a toxintermelés között;

Az ötödik cél annak eldöntése volt, hogy a *Planktothrix rubescens* kéalga toxintermelése genetikailag determinált-e, és folyamatosan termel, vagy a termelést az élőhely mindenkor fizikai körülményeinek egy meghatározott variációja váltja-e ki? Az eredmények azt bizonyították, hogy a faj konzekvensen toxintermelő, és a környezeti háttérnek nem a toxintermelés indukálásában, hanem egyszerűen a toxintermelő alga populációjának dinamikájában van szerepe.

A hatodik cél egy roppant izgalmas kérdés gyanánt fogalmazódott meg: mi történik a toxintermelő *Microcystis* kéalga kolóniákkal, ha jön a tél, és a tófelszínen vastag rétegben összegyülemelő alga tömeg befagy a jégbe? Originális az eredmény: a kéalga túléli a befagyást, majd olvadás után iniciális inokulumként beoltja a vízteret saját magával, ezáltal biztosítva a populáció további fennmaradását;

A hetedik cél a mikrocisztin tartalmú öntözővízzel locsolt fűfélék pusztulásának vizsgálata volt, amely pozitív eredményre vezetett;

A nyolcadik cél a virulens, és invazív *Cylindrospermopsis raciborskii* kéalga európai megjelenési kemotípusainak jellemzésére, és toxintermelésére irányult, amely sikeres volt;

A kilencedik cél, a cianobakteriális toxinok változatosságának, lehetséges hatásainak és funkcióinak részletes diszkutálása is megtörtént.

Végső opponensi vélemény:

1., A mű célkitűzései a felfedező kutatások és a gyakorlati igények szempontjából egyaránt relevánsak;

2., A mű hiteles adatokat tartalmaz;

3., Az elbírált munka és annak összefoglalója alapján megállapítom, hogy a tudományos eredmények *elegendőek az MTA doktori cím megszerzéséhez, és javaslom a nyilvános vita kitűzését.*

Az opponens kérései a szerzőhöz:

1., Mi az elméleti alapja, vagy intellektuális magyarázata annak a merészségnek, hogy mustár csíranövényen, vagy haszonnövényeken teszteljük szerte a világban a neurotoxikus, vagy

hepatotoxikus molekulákkal terhelt öntözővizek hatását, hiszen a növényeknek nincs sem idegrendszere, sem mája?

2., Mennyi ideig aktívak az algatoxinok, miután a környezetbe kerültek?

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

4., Mi várható a toxintermelő algák környezetterhelése területén a klímaváltozás különféle szcenáriói alapján Magyarországon?

5., 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 (http://www.ahkungarn.hu/fileadmin/ahk_ungarn/Dokumente/Wirtschaftsinfos/HU/Verschiedenes/MAHOP_Magyar_Halgazdalkodasi_Operativ_Program.pdf), amely szerint 2014-2020 közötti nemzeti gazdasági programunk egyik prioritása, és célja a nyílt- és zártrendszerű édesvízi halkultúrák létrehozása népelelmezési célból Magyarországon?

Tihany, 2015.01.28.

D. G.-Tóth László

Prof. G.-Tóth László DSc

MTA ÖK BLI igazgató