

## Válasz Dr. Herczeg Gábor opponensi véleményére

Nagyon köszönöm a bírálónak a munkámat méltató szavait és a sok időt, melyet arra áldozott, hogy az MTA Doktora cím elnyerésére benyújtott disszertációm alaposan, részletekbe menően értékelje. Kérdéseire és megjegyzéseire az alábbiakban válaszolok.

*1. „Nagy öröömre és megkönnyebbülésemre találtam egy hibát, a 90. oldalon kétszer is hivatkozott Table IV.2.2 nem szerepel a dolgozatban, vélhetőleg a Table IV 2.1 helyett szerepel, vagy egy táblázat kimaradt.”*

Valóban, a IV.2.2-es táblázat eredetileg a fejezet alapjául szolgáló folyóiratcikk 2. táblázata lett volna, amit végül rövidítés végett kihagytam az értekezésből (mivel részben redundáns a IV.2.3-as ábrával), de a szövegközi hivatkozásait elfelejtettem törölni. Sic transit gloria mundi!

*2. „A kutatócsoportja szintén vizsgálja a magas környezeti hőmérséklet bizonyos patogének/paraziták elleni hatásosságát kétéltűeknél. A magas hőmérséklet ivarváltást indukáló hatásának fényében mi a véleménye az esetleges természetvédelmi indíttatású magas hőmérséklet alapú kezelésekről?”*

Kiváló és fontos kérdés. A „hidegkedvelő” patogének (mint pl. a kitridiomikózis kórokozója) elleni, mesterséges „hőhullám kezelés” biztonságosságát erősen befolyásolja az, hogy milyen életkorban alkalmazzuk, és az adott faj vagy populáció mennyire érzékeny a magas hőmérséklet által indukált ivarváltásra. Az értekezésem alapját képező egyik cikk (Ujszegi et al. 2022), amelyben az erdei béka és a barna varangy között hasonlítottuk össze az ebihalfejlődés három szakaszában alkalmazott „hőhullám kezelés” különféle hatásait, részletesen tárgyalja ezt a kérdéskört és a konklúziót, hogy nagy körültekintéssel szabad csak használni ezt a „fertőtlenítő” módszert. A disszertáciomból e járványkezeléssel kapcsolatos vonatkozásokat csak azért hagytam ki, hogy ne legyen túl hosszú és szerteágazó. Azonban a kétéltűek betegségeivel foglalkozó kollégáimmal továbbra is vizsgáljuk az összefüggéseket a fertőzések és az ivar(váltás) között, mert előzetes eredményeinkből úgy tűnik, nemcsak a fertőzésmentesítést célzó hőkezelés okozhat ivarváltást, hanem akár maga a fertőzés is.

*3. „Természetes populációkat vizsgálva van megfelelő módszertan a klímaváltozás és a környezetszennyezés hatásainak elkülönítésére? Felteszem kevés eset van, ahol több évtizedes adatbázis áll rendelkezésre klimatikus hatásokról, genetikai ivarról és vízkémiáról.”*

Hatalmas kihívásnak látom természetes populációkban elválasztani a klímaváltozás és a kémiai környezetszennyezés hatásait az ivarváltásra (feltételezem, hogy ez utóbbira vonatkozik a kérdés). A genetikai ivarról egyáltalán nem állnak rendelkezésre hosszú távú adatsorok, mivel a Földön élő sokezer ektoterm gerinces állatfaj közül csak néhányra vannak kidolgozva a genetikai ivar detektálását lehetővé tevő módszerek (tehát az adott fajban vagy populációban genetikai ivarhoz kötött markerek és azok gyakorlati diagnosztizálására használható konkrét metodikai lépések). Tetemes források rendelkezésre állása esetén el tudnék képzelni egy olyan retrospektív vizsgálatot, amelyben múzeumi példányok fenotípusos és genetikai ivarát vetnénk össze az élőhelyük hőmérsékleti és szennyezettségi viszonyaival, ehhez azonban az utóbbiakról térben és időben pontos adatbázisra van szükség, és még ezek mellett is sok technikai akadályt kellhet leküzdeni (pl. a múzeumi példányokat, főleg a régebbieket, jellemzően formalinban tárolják, ami roncsolja a DNS-t; a fenotípusos ivar a másodlagos nemi jellegek alapján nem minden esetben határozható meg egyértelműen; a gyűjtött minta gyakran nem jól reprezentálja

a populáció összetételét, stb.) A kémiai szennyező anyagok hatásainak detektálásában további nehézség az, hogy rengeteg féle ilyen anyag létezik, kimutatásuk és kvantifikálásuk különböző módszereket és drága standardokat igényel, ezért szinte lehetetlen vállalkozásnak tűnik az összes potenciálisan ivarváltást okozó vegyületet több területen és hosszabb időtávon vizsgálni. Mindazonáltal számítok rá, hogy a természetbeni ivarváltással leghosszabb ideje foglalkozó kutatócsoportok (*Pogona vitticeps*, *Acritoscincus duperreyi*, *Carinascincus ocellatus* gyíkfajok, *Oreochromis niloticus* halfaj esetében) a közeljövőben előrukkolnak majd néhány évnél hosszabb adatsorok elemzésével, ami előbbre viheti ennek a fogós kérdéskörnek a megértését.

4. *„A környezeti változások jelenlegi sebességéből kiindulva, mit gondolsz, mennyi idő múlva lesz a környezet-indukált ivarváltás komoly probléma a természetes biodiverzitás megőrzése szempontjából? Mik lesznek az első detektálható káros hatások?”*

Bár még meglehetősen kevés elméleti modell áll rendelkezésre ennek a megjósolásához, az már most látható, hogy az ivarváltás populációdinamikai következménye sok jellemzőtől függ mind az adott populáció tulajdonságait, mind a környezeti körülményeket illetően. Az értekezésem IV.3-as fejezetében tárgyalt modell, melyet egy „átlagos kétéltűre” paramétereztünk a jelenlegi klímamelegedési ráta mellett, például azt jósolja, hogy a szaporodóképes ivararány már kb. 60 év (20 generáció) alatt 60% hím fölé emelkedhet, és a populáció kihalása már kb. 120 év (40 generáció) után bekövetkezhet. A gyakorlatban valószínűleg a fenotípusos ivararány eltolódását lehetne legkorábban detektálni, ami csökkenti az effektív populációméretet és az adaptáció alapanyagául szolgáló genetikai változatosságot, ezáltal további káros hatásokkal szemben is sebezhetővé teszi a populációt. Az „ivarváltásos” modellek az ilyen többszörös stresszhatásokat eddig nem vették figyelembe, ezért lehetséges, hogy túlbecsülték a populációk életképességét.

5. *„II.1 fejezet. A kortikoszteron szintek a vadbefogott egyedeknél lényegesen magasabbak voltak a laborban tartott egyedekénél. Miért? A common garden vizsgálat egyedekénél a kortikoszteron szint alig csökkent egy órával a stressz-kezelés után (recovery). Miért?”*

A vadon élő ebihalak számos olyan stresszhatással és metabolikus kihívással találkozhattak, amelyek a mezokozmoszokban nem vagy ritkábban fordultak elő (pl. ragadozók, kórokozók, szélsőséges hőmérsékleti vagy kémiai fluktuációk). Ezért az előbbieik számára érdemes lehet magasabb kortikoszteron szintet fenntartani, hasonló okok miatt, mint amelyekkel a városi egyedek magasabb kortikoszteron szintjét magyaráztuk (16. oldal alja – 17. oldal teteje). A magasabb alapszintről akut stressz hatására magasabbra emelkedő kortikoszteron koncentráció azonban hosszabb távon káros lehet, ezért a változatos és kiszámíthatatlan stresszhatásokban bővelkedő környezetben élő egyedek számára érdemes a negatív visszacsatolás folyamatát gyorsítani, hogy az akut stresszhatás elmúltával hamar visszatérhessenek az „alap” szintre. Ez az „on-off hipotézis” nemcsak az antropogén területeken élő ebihalak hatékonyabbnak tűnő negatív visszacsatolására adhat magyarázatot (a természetes területeken élőkhöz képest, 15-16. oldal), hanem arra is, hogy a vadon élő ebihalaknak miért csökkent vissza jóval erőteljesebben a kortikoszteron szintje az akut stresszhatás után egy órával, mint a mezokozmoszokban élőké.

6. *„II.1 fejezet. A vadbefogott egyedek esetében az alap (baseline) és a stressz kezelés utáni (recovery) kortikoszteron szintek nem különböznek. A városi egyedeknél miért az erőteljesebb csökkenésre és nem a stresszválásra van kihegyezve az interpretáció?”*

Sajnos itt nem sikerült rekonstruálnom, hogy melyik interpretációra gondolt a bíráló. A stresszválást az értekezés 16. oldala tárgyalja, azzal a konklúzióval, hogy mind a városi, mind a mezőgazdasági területen élő ebihalak erősebb stresszválást adtak, mint a természetes

környezetben élők. A magasra emelkedett (akut) kortikoszteron szintről aztán mindkét antropogén csoport meredekebb csökkenést mutatott, ami gyorsabb negatív visszacsatolásra utal, így végül mindhárom csoport hormonszintje visszatért egy óra alatt a stresszhatás előtti „alap” szintre. Tehát mind a stresszválasz, mind a „recovery” fokozott hatékonyságúnak tűnik az antropogén élőhelyeken, alátámasztva az „on-off hipotézist”.

*7. „II.3 fejezet. A petecsomók és egyedek tulajdonságai laborban, tiszta (RSW) vízben lettek mérve, noha a populációk természetes élőhelyein jelentős vízminőségbeli eltérések voltak, illetve értelemszerűen mind eltért a laborbeli tiszta víztől. A labor tiszta vizében való „teljesítmény” mennyire lehet jó indikátora a természetes helyzetnek lokális adaptációkat feltételezve?”*

A kísérlet logikája az volt, hogy amennyiben az antropogén területeken felnőtt egyedek ivari funkciói tartósan károsodtak, akkor azonos körülmények között alacsonyabb lesz a szaporodási sikerük, mint a természetes területeken élőké. A laboratóriumban használt víz fizikai-kémiai tulajdonságait úgy állítottuk be, hogy hasonlítson azokhoz a természetes kisvizekhez, ahol a varangyok petéznek – emellett a fő szempont az volt, hogy ne tartalmazzon olyan vegyületet, amelyek közvetlenül az állatokra hatva befolyásolhatnák az utódok túlélését és fejlődését, vagy esetleg a szülők szaporodási viselkedését. Kétségtelen, hogy a természetes vizek között is lehet nagy változatosság a fizikai-kémiai paraméterekben, és ez a változatosság szelektálhat lokális adaptációkra, pl. a magasabb pH-jú vizekben savasságtűrésre. Azonban az általunk vizsgált tavak között nem voltak jelentős különbségek ezekben a paraméterekben a természetes élőhelytípuson belül, tehát elsősorban az antropogén környezet hatására várhatóak lokális adaptációk. Ez utóbbiaknak valóban lehetett szerepe a kísérletben megfigyelt különbségek kialakulásában, ahogyan azt a disszertáció 34-35. oldala részletesen tárgyalja. Arra nem számíthatunk, hogy a szennyezett vizekben adaptív volna a lassabb lárvafejlődés, mivel az ilyen vizet inkább minél hamarabb érdemes elhagyni (amennyiben a szennyező anyagok káros hatással vannak az ebihalakra), de az lehetséges, hogy a lassabb lárvafejlődés ill. kisebb testméret valamilyen más, adaptív változás „melléktermékeként” jelent meg az antropogén területekről származó populációkban (pl. EDC rezisztencia költségeként, lásd 34. oldal alja). Az is lehetséges, hogy a természetes területeken nagyobb fejlődési rátára vannak szelektálva a populációk (lásd 35. oldal), de ezt a képességüket *in situ* nem feltétlenül tudják érvényesíteni, hanem csak kompenzálják vele az adott környezeti feltételek miatti hátrányukat. Azt, hogy az utódok testmérete és fejlődési sebessége a származási helyükön is a laboratóriumban tapasztaltakhoz hasonlóan különbözik-e az élőhelytípusok között, és optimális-e az ottani környezeti körülmények között, reciprok transzplantációs kísérletekkel lehetne vizsgálni. Ez egy igen nehéz, de izgalmas projekt lenne.

*8. „III.1 fejezet. A leginkább természetesnek tekinthető élőhelyen is aránylag magas volt az ivarváltás aránya. Persze Magyarországon a „természetes” jelző elég relatív. Vannak adatok ivarváltásról ténylegesen háborítatlan (ha még van ilyen egyáltalán) populációkból kétélűeknél vagy halaknál?”*

Osztom azt a kételyt, hogy léteznek-e még egyáltalán teljesen háborítatlan élőhelyek a Földön. Az általunk vizsgált és az egyszerűség kedvéért „természetesnek” kategorizált területeken is számos endokrin diszruptor vegyületet találtunk (I.4-es ábra), és a klímaváltozás miatt ezeken a területeken is egyre inkább számolni kell a hőhullámok gyakoribbá válásával – ezek a tényezők mind elősegíthetik az ivarváltást. Egyelőre nagyon kevés vadon élő populációban vizsgálták az ivarváltott egyedek előfordulási gyakoriságát, de a szakirodalmi leírásokból nehéz megállapítani, hogy ezeknek az élőhelyei mennyire lehettek érintetlenek (a cikkek szövege erre

általában nem tér ki). Egyetlen olyan vizsgálatról tudok, amelyben a miénkhez hasonlóan a tájhasználattal vetették össze az ivarváltás gyakoriságát, és ebben is azt találták, hogy a legtermészetesebb mintavételi helyeken is nem elenyésző arányban voltak jelen ivarváltott egyedek (*Rana clamitans*; Lambert et al. 2019 – a részletes hivatkozást lásd az értekezésben).

9. „III.2 fejezet. A magas hőmérsékleti kezelést alacsonyabb táplálékmennyiséggel kombinálták. Ez nem probléma poikiloterm állatok életmenet tulajdonságainak vizsgálatakor?”

A kezelési időszakon kívül az ebihalakat *ad libitum* etettük, ami azt jelenti, hogy a vízcsere idejére mindig maradt a dobozokban el nem fogyasztott táplálék. Ez melegebb vízben fokozta volna a mikroorganizmusok szaporodását és ezáltal a vízben oldott oxigén fogyását; ezt elkerülendő csökkentettük a kezelés 6 napjára a vízbe adagolt spenót mennyiségét úgy, hogy jellemzően mindet elfogyasztották az állatok a következő vízcsereig. A rossz hatásfokú emésztésük miatt azonban az ebihalak az ürített bélsarukból is tudnak még hasznosítható tápanyagokat felvenni, ezért összességében nem valószínű, hogy a kezelés alatt éheztek volna. Ennek ellenére nem zárható ki, hogy a táplálék mennyiségének 6 napig tartó csökkentése befolyásolta az ebihalak növekedési és/vagy fejlődési rátáját. Ez azonban nemcsak a magas hőmérsékleti kezelést kapott csoportban volt így, hanem a kontroll (nem melegített) ebihalaknak is ugyanígy kevesebbet adtunk enni ebben a 6 napos időszakban. Ezért nem tartom problémának a kísérlet eredményeinek értelmezésében az alacsonyabb táplálékmennyiséget.

10. „III.3 fejezet. III.3.1/A ábra. Az ivarváltott egyedeknél két pont kivételével azt találjuk, hogy ezek az egyedek mind gyors fejlődésűek és a testtömegük a normális tartományban van. Nem zavarja ez az interpretációt, miszerint az ivarváltott egyedeknél nincs tradeoff a metamorfóziskori méret és a metamorfózis ideje között?”

Az említett ábrán „kilógó pontnak” látszó adatok hatását a modelldiagnosztika és elemzés során természetesen ellenőriztem. Az eredmények minőségileg nem változnak meg, ha ezt a két pontot kihagyom az elemzésből (sőt, az ivarváltott egyedekre illesztett egyenes meredeksége még laposabbá válik). Tehát míg a nem ivarváltott egyedeknél a rövidebb fejlődési idő kisebb testtömeggel járt együtt átalakuláskor, az ivarváltott egyedek egy része viszonylag rövid fejlődési idő ellenére is viszonylag nagy testtömegű lett, más részük pedig hosszú fejlődési idő ellenére is csak alacsony tömeget ért el. Hogy ez a két életmenet változó közötti csereviszony tényleges (egyedeken belüli) felbomlásának tudható-e be, azt a vizsgálat megfigyeléses (nem manipulatív) jellege miatt nem lehet biztosan megállapítani. Lehetséges, hogy valójában egy heterogén csoportról van szó, amelyen belül az ivarváltás velejárói egyéb változóktól függően variálnak (pl. a vártnál kisebb tömegű egyedek szinte mindegyikében találtunk petesejteket a hereszövetben, míg a vártnál nagyobb tömegű egyedek zömmel olyan családokból származtak, amelyekben kizárólag genetikailag nőstény utódokat találtunk, ami ivarváltott apára utal; lásd 76. oldal teteje). Ez a heterogenitás párhuzamban áll azzal az elmélettel, hogy az ivarváltás az egyedek vagy populációk egy részében akár adaptív is lehet – ennek az izgalmas feltevésnek a terepi, empirikus tesztelése azonban még várat magára.

Tisztelettel:



Bókony Veronika

Budapest, 2023. 10. 01.