

Válasz Dr. Lengyel Szabolcs Opponensi véleményére

Köszönöm szépen a Bíráló alapos munkáját, valamint az értekezésemhez fűzött értékes észrevételeit és javaslatait.

Köszönöm a témaválasztás és a tudományos teljesítmény méltatását, és a pozitív tartalmi megjegyzéseket is, továbbá a kritikai megjegyzéseket az egységes koncepcionális keretről, a hipotézisekről, az alkalmazott módszerekről és a tézisekről. Egyet értek velük, és két megjegyzésre reagálnék külön.

Valóban, egy egységes koncepcionális keret tovább növelhette volna a résztémák koherenciáját. Próbáltam az öt nagy fejezet tartalmi összefűzését a fajdiverzitás, kriptikus fajok feltárása, és a genetikai változatosság különböző szintjeinek vizsgálata köré építeni, de minden bizonnyal lehetett volna ennél koherensebben is összefűzni a résztémákat.

Azzal kapcsolatban, hogy az elérhető elemzési módszerek közül miért pont az adott módszert választottam a lehetséges alternatív megközelítésekkel szemben, nehéz konkrét választ adni. A 12 tanulmány közül 11-ben alkalmaztunk valamilyen szintű genetikai vizsgálatot, amelyek mindegyikében számos elemzésen vittük keresztül az adatainkat, hogy aztán válaszolni tudjunk a feltett kérdésekre. Mindig olyan eljárásokat alkalmaztunk, amelyek legjobban illeszkedtek az adott genetikai markerhez, vagy amelyek széles körben alkalmazott és validált eljárások voltak arra az adattípusra. Mindegyik tanulmánynál mérlegeltük az alternatív módszerek alkalmazását is, de úgy ítéltük meg, hogy annak használata nem eredményezett volna érdemben eltérő vagy megbízhatóbb következtetéseket.

Válaszaim a feltett kérdésekre:

1. Az értekezés több fajnál talált hasonló posztglaciális refúgiumokra és visszatelepülési útvonalakra utaló filogeográfiai mintázatokat. Mennyire általánosíthatóak ezek a mintázatok a Kárpát-medence kétéltű-faunájára? Ha van olyan filogeográfiai mintázat, ami ellentmond ezeknek, milyen életmeneti vagy ökológiai változók magyarázhatják ezeket az eltéréseket?

A hazai kétéltűak filogeográfia mintázatait több féleképpen lehet párhuzamba állítani. Két fő szempontot lehet figyelembe venni:

- (1) ökológiai igények, vagyis a glaciális időszakokban az elterjedési területe kiterjedtebb volt a fajnak és az interglaciálisokban szűkebb (hidegkedvelő/tűrő, vagy hegyvidéki fajok), vagy fordítva (melegkedvelő/tűrő, vagy síkvidéki fajok)?
- (2) földrajzi struktúrák milyen hatással voltak a visszaterjedésükre; pl. a nagy folyók akadályok vagy éppen terjedési folyosók voltak-e?

Ezeket a szempontokat figyelembe véve tekintettem át a farkos kétéltűek elterjedéstörténetét a dolgozatomban. Ha a többi hazánkban élő kétéltűfaj elterjedési mintázatát nézzük, akkor a következő összefüggéseket vehetjük észre:

A vöröshasú unka (*Bombina bombina*) a dunai tarajosgőtéhez hasonlóan egy síkvidéki faj, amelynek az utolsó eljegesedés alatti refúgium területe a Fekete-tenger régiójában lehetett. Onnan, a Duna-mentén terjedt vissza az LGM után a Kárpát-medencébe hogy benépesítse Közép-Európai síkságait (Vörös et al 2006, Dufresnes et al 2025). Ehhez hasonló mintázatot mutat a barna varangy (*Bufo bufo*) és az erdei béka (*Rana dalmatina*), a zöld varangy (*Bufo viridis*) és a zöld levelibéka (*Hyla arborea*), amelyek balkáni refúgiumokból gyors radiációval

jutottak el Közép- és észak-Európába (Recuero et al 2012, Vences et al 2013, Stöck et al 2006, Dufresnes et al 2015), és amelyek jelentős genetikai homogenitást mutat közép-Európában vagy egész Európában.

Ha maradunk a síkvidéki fajoknál, akkor a mocsári béka (*Rana arvalis*), amely egy széles elterjedésű eurázsiai faj, jelentős genetikai változatosságot képvisel Közép-Európában. Babik és mtsai (2004) kimutatták, hogy a mocsári béka nagy valószínűséggel több glaciális ciklust is a Kárpát-medencében élhetett át, ahonnan aztán nyugati irányba kiterjesztette állományait.

Ha a tipikusan hidegkedvelő, hegyvidéki fajokat vesszük számba, akkor a sárgahasú unka (*Bombina variegata*) hasonló evolúciós történettel rendelkezik, mint a dolgozatban bemutatott alpesi göte és foltos szalamandra, vagyis éppen a glaciális ciklusokban terjesztette ki az áréáját, és az interglaciálisokban húzódtott vissza a hegyvédekre az Alpok, Kárpátok és a Balkán-hegység vonulataiba. Az összefüggő kárpát-medencei állományok izolációjához azután a klíma változása mellett a vöröshasú unka terjedése is hozzájárult. Ennek a másodlagos találkozásnak (secondary contact) bizonyítéka a két faj közötti intenzív hibridizáció (Vörös et al 2006, Dufresnes et al 2025, Zacho et al 2025).

A gyepi béka az egyik legnagyobb elterjedésű kétéltűfaj, amely a mediterrán félszigeteken kívül mindenhol megtalálható Európában, állományai még a sarkkört is eléri. Multilokus vizsgálatok és paleoklimatikus elemzések bizonyítják, hogy a faj a Pleisztocén alatt jelen volt Európa azon részein amelyeket az eljegesedés nem érintett (Vences et al 2013). Ezalatt a hosszú időszak alatt pedig jelentős genetikai változatosságra tett szert Nyugat- és Dél-Európában. Ez a többi fajhoz képest szokatlan mintázat talán azért alakulhatott ki, mert ez a faj – főképpen a közelrokon *Rana dalmatina*-hoz képest – jobb adaptív képességekkel rendelkezik ökológiai, morfológiai, élettani és viselkedési tulajdonságok tekintetében, ami hozzájárulhatott populációinak fennmaradásához a klimatikus változások során.

2. Tekintve a teljes genom elemzésén alapuló módszerek elterjedtségét, felmerül a kérdés, hogy a genomikai módszerek alkalmazása megváltoztatja-e és hogyan változtatja meg a jelenlegi filogeográfiai modelleket?

Valóban, az utóbbi években elérhetővé váltak a teljes genomelemzésen alapuló módszerek, amelyek jóval teljesebb képet adhatnak a fajok és populációk evolúciós történetéről. Ezzel kapcsolatban azonban felmerül néhány szempont, amit figyelembe kell venni.

A kétéltűek, főképpen a farkos kétéltűek genomja a legnagyobb méretű, így a legnehezebben vizsgálható genomok közé tartozik. Míg például a rákosi vipera genomja 1.6 gigabázis (Gb) vagy az emberi genom 3.2 Gb, addig a pettyes göte genomja nagyjából 25 Gb, az alpesi göte genomja nagyjából 30 Gb, a foltos szalamandra genomja nagyjából 35 Gb, a barlangi vakgöte genomja pedig nagyjából 50 Gb méretű. De nem csak a genom mérete, hanem a nagy mennyiségű repetitív szekvencia, a gyakori leszármazási vonal-specifikus transzpozon-expanziók, valamint a kromoszóma-átrendeződések megnehezítik a genom összeállítását és annotálását. Jóllehet az utóbbi 1-2 évben sokat fejlődött a hosszú leolvasású szekvenálás módszertana, a kétéltűek jelentősen elmaradnak a többi gerinces állat mögött a teljes genomszekvenálás terén. Emiatt nem áll elég referenciagenom rendelkezésre, így a genom összeállítása még nehezebbé válik. Szerencsére több olyan kezdeményezés is létezik, pl. Vertebrates Genome Project (VGP), European Reference Genome Atlas, vagy Amphibian Genomics Consortium, amelyek célja, hogy legalább családonként, vagy ahol lehetséges genusonként generáljanak referenciagenomot. A VGP projekt első fázisának összefoglaló tanulmánya éppen most van összeállítás alatt, ebben szerepel többek között a barna ásóbéka

(*Pelobates fuscus*) referenciagenomja, amelyet egy magyarországi példányból sikerült szekvenálni.

Az említett nehézségek miatt a kétélűeket inkább úgynevezett genomszintű, csökkentett genomreprezentációs szekvenálással szokták vizsgálni, amelyek a teljes genom feldarabolásán alapulnak, de csak egy részhalmazát szekvenálják. Ilyen például a ddRAD szekvenálás, amelyet pl. a *Litoria raniformis* levelibékafaj molekuláris szisztematikai vizsgálatánál, vagy a Molecular Inversion Probes (MIPs) amelyet a pettyes göte populációgenomikai vizsgálata során alkalmaztunk. Sajnos a dunai tarajosgöte, az alpesi göte, a foltos szalamandra és a barlangi vakgöte tanulmányok idejében ezek a módszerek még nem voltak elérhetőek, így a multilokus és a mikroszatellita fragmenthossz elemzések tűntek a legjobb megoldásnak. Jóllehet a mikroszatellita vizsgálatok sok esetben meghaladottak és a genom csak egy rendkívül limitált részét veszik figyelembe, mégis egy körültekintően kifejlesztett mikroszatellita markerszett hasznos lehet pl. egyedí azonosításban (lásd humán szülői tesztek).

A fent említett négy farkos kétélűfaj esetében három olyan genomikai tanulmány született, amelyben a doktori munkámban szereplő, vagy más kárpát-medencei állományok is elemezve lettek és így összehasonlítható a két módszer hatékonysága.

1. A barlangi vakgöte

Egy 2024-es tanulmányban (Recknagel et al 2024, *Molecular Ecology* 33(8): e16868) 4 mitokondriális DNS-szakaszt (12S, 16S, D-loop és COI) és ddRAD szekvenálást alkalmazva 42,263 SNP-t vizsgáltak a *Proteus anguinus* teljes elterjedésén. Kilenc divergens genetikai leszármazási vonalat azonosítottak, amelyek 4-17 millió évvel ezelőtt váltak szét egymástól, és amely mintázatot a ddRAD elemzés is alátámasztott, és ami megegyezik a mi korábbi tanulmányunkban mikroszatellita-markerekkel felvázolt genetikai mintázattal. Az általunk vizsgált négy populáció, amely három hidrogeográfiai régióhoz sorolható (Pincinova-barlang az Istra-karsztvidékhez tartozik, a Rupečica- és a Markarova-barlang a Lika-karsztvidékhez, míg a Vedrine a Dalmácija és Hercegovina-karsztvidéken található), a genomikai vizsgálatok alapján is három különálló kládba tartozik. A fajok/csoportok szétválásának molekuláris kalibrálása is megegyezik a mikroszatellita és a ddRAD adatok alapján, bár a ddRAD SNP markerekkel kisebb szórással, pontosabban meg tudták határozni az időintervallumot (pl. Istra leválása 17-15 millió évvel ezelőtt (ddRAD) vs. 18-7 millió évvel ezelőtt (mikroszatellita)).

2. Alpesi göte

Ez év februárjában jelent meg egy tanulmányunk nemzetközi együttműködésben az alpesi göte genomszintű vizsgálatán alapuló filogeográfiájáról (Koster et al. 2026 *Molecular Ecology* 35(5): e70300). Ebben a tanulmányban egy mitokondriális gént (ND4) és 29,268 SNP-t elemeztünk (NewtCap target sequence capture protocol-t alkalmazva), mivel az alpesi göte számtalan mitokondriális vonalat foglal magába, így az alfajok-fajok taxonómiai helyzete ezidáig tisztázatlan maradt Európában. Az általam leírt *Ichthyosaura alpestris bakonyiensis* az egyik ilyen mitokondriális vonalat képviselte. A nukleáris markerek nem támogatták a dunántúli állományok (Bakony és Őrség) monofíliáját, viszont azt megállapították, hogy az Alpok délkeleti részén kelet-nyugat irányú sávban, belefoglalva a hazai őrségi és bakonyi állományokat, az észak-balkáni *I.a.reiseri*, a közép- és nyugat európai törzsalak és az ibériai *I.a.cyreni* alfaj genetikai állományai keverednek. Ennek elterjedéstörténeti okai vannak, miszerint az alpesi götefajok/alfajok elterjedése dinamikusan változott az elmúlt 2.5 millió év glaciális-interglaciális ciklusai alatt, és a jelenlegi, interglaciális kiterjedése kisebb területet fed le, mint a legutóbbi glaciális időszak alatt. A genetikai változatosság a Balkán-félszigeten mutatott a legmagasabb értékeket, ezt a régiót valószínűsítve az alpesi göte kialakulására. A

filogenetikai fán a törzsalak és az ibériai alfaj (*I.a.cyreni*) monofiletikus csoportot alkot. Eszerint a Balkánról első körben a mai ibériai genetikai állomány terjedt szét, majd egy későbbi glaciális ciklusban a ma Közép- és Nyugat-Európát benépesítő állomány terjedt szét. Mindezeket figyelembe véve, a genomikai vizsgálat megerősítette a mtDNS-alapú vizsgálatokat, miszerint a Kárpát-medence nyugati régiója glaciális refúgiumterület lehetett az alpesi gőte számára, és azt is aláírta, hogy a dunántúli állományok eltérnek az északi-középhegységi állományoktól. Fontos kiegészítés viszont, hogy ez az eltérés a genetikai kevertségből adódik, amit a mtDNS-alapú teszt nem tudott kimutatni.

3. Dunai tarajosgőte

Szintén egy 2026 év elején megjelent tanulmányunkban (van Eden et al. 2026) a dunai tarajosgőte és az alpesi tarajosgőte genetikai változatosságát és hibridizációját kutattuk genom szintű szekvenálást használva. Itt is egy mtDNS markert (ND2) és 8976 SNP-t (szintén NewtCap target sequence capture protocol-t alkalmazva) néztünk, és megállapítottuk, hogy a két faj által alkotott stabil hibridzóna közepe délről északra húzódik Horvátországtól, Szlovénián, Ausztrián, Magyarországon és Szlovákián át Csehország déli részéig. A hibridzóna környékén számtalan új mtDNA-haplotípus is előkerült, ezzel erősítve azt a feltételezést, hogy a hibridzóna környékén helyezkedtek el a jégkorszaki refúgiumterületek. Ez a mintázat pedig megerősíti korábbi tanulmányunkban leírtakat, és a Dunántúl szerepét a dunai tarajosgőte glaciális refúgiumterületeiről.

A foltos szalamandra ddRAD alapú elemzése megtörtént ugyan (Gippner et al 2024, Salamandra 60(2): 105–128), de sajnos kárpát-medencei populációkat nem elemeztek, így nem tudom kijelenteni, hogy vajon a genom-szintű elemzés mennyire támogatja vagy mond ellent a mi mikroszatellita-alapú elemzéseinknek.

Összefoglalva, három faj esetén a genomikai vizsgálatok alapvetően alátámasztották a multilokus vizsgálatok eredményeit, de fontos kiegészítéseket adtak a fajok evolúciós történetének megértéséhez.

Említett irodalmak:

Babik, W., Branicki, W., Sandera, M., Litvinchuk, S., Borkin, L. J., Irwin, J. T., & Rafiński, J. (2004). Mitochondrial phylogeography of the moor frog, *Rana arvalis*. *Molecular Ecology*, 13(6), 1469–1480. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02157.x>

Dufresnes, C., Brelsford, A., Crnobrnja-Isailović, J., et al. (2015). Timeframe of speciation inferred from secondary contact zones in the European tree frog radiation (*Hyla arborea* group). *BMC Evolutionary Biology*, 15, 155. <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0385-2>

Dufresnes, C., Lukanov, S., Gippner, S., Ambu, J., Strachinis, I., Arsovski, D., Monod-Broca, B., Cayuela, H., Lymberakis, P., Canestrelli, D., Cogălniceanu, D., Poyarkov, N. A., Litvinchuk, S. N., Suchan, T., Denoël, M., & Jablonski, D. (2025). Historical biogeography and systematics of yellow-bellied toads (*Bombina variegata*), with the description of a new subspecies from the Balkans. *Vertebrate Zoology*, 75, 1–30. <https://doi.org/10.3897/vz.75.e138687>

Koster, S., Theodoropoulos, A., Beukema, W., Ambu, J., Babik, W., Canestrelli, D., Chiocchio, A., Cogălniceanu, D., Cvijanović, M., de Visser, M. C., Dufresnes, C., France, J., Jablonski, D., Kranželić, D., Lukanov, S., Martínez-Solano, I., Naumov, B., Pabijan, M., Salvi, D., Schmidt, B., Sotiropoulos, K., Stanescu, F., Stanković, D., Šunje, E., Szabolcs, M., Vacheva, E., Vörös, J., Zimić, A., & Wielstra, B. (2025). Five hidden species in a widespread European vertebrate: Disentangling the alpine newt cryptic species complex through genomic phylogeography. *Molecular Ecology*, 35(5), e70300. <https://doi.org/10.1111/mec.70300>

Recknagel, H., Zakšek, V., Delić, T., Gorički, Š., & Trontelj, P. (2024). Multiple transitions between realms shape relict lineages of *Proteus* cave salamanders. *Molecular Ecology*, 33, e16868. <https://doi.org/10.1111/mec.16868>

Recuero, E., Canestrelli, D., Vörös, J., Szabó, K., Poyarkov, N., Arntzen, J. W., Crnobrnja-Isailović, J., Kidov, A. A., Cogălniceanu, D., Caputo, F. P., Nascetti, G., & Martínez-Solano, I. (2012). Multilocus species tree analyses resolve the radiation of the widespread *Bufo bufo* species group (Anura: Bufonidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(1), 71–86. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.09.008>

Stöck, M., Moritz, C., Hickerson, M., Frynta, D., Dujsebayaeva, T., Eremchenko, V., Macey, J. R., Papenfuss, T. J., & Wake, D. B. (2006). Evolution of mitochondrial relationships and biogeography of Palearctic green toads (*Bufo viridis* subgroup) with insights in their genomic plasticity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41(3), 663–689. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.05.026>

Van Eden, A. J., Theodoropoulos, A., Arntzen, J. W., Czurda, J., Dankovics, R., Harnos, K., Kranželić, D., Mačát, Z., Mikulíček, P., Reiter, A., Schmidt, B., Stanković, D., Vek, M., Vörös, J., & Wielstra, B. (2026). The position, shape and dynamics of the hybrid zone between the Danube and Italian crested newt based on genome-wide data, with a cautionary tale on the discovery of a ‘distinct’ mtDNA lineage. *Amphibia-Reptilia*. <https://doi.org/10.1163/15685381-bja10249>

Vences, M., Hauswaldt, J. S., Steinfartz, S., Rupp, O., Goesmann, A., Künzel, S., Vieites, D. R., Nieto-Román, S., Haas, S., Laugsch, C., Gehara, M., & Bruchmann, S. (2013). Radically different phylogeographies and patterns of genetic variation in two European brown frogs, *Rana temporaria* and *Rana dalmatina*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 68(3), 657–670. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.04.014>

Vörös, J., Alcobendas, M., Martínez-Solano, I., & García-París, M. (2006). Evolution of *Bombina bombina* and *Bombina variegata* (Anura: Discoglossidae) in the Carpathian Basin: A history of repeated mtDNA introgression across species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38(3), 705–715. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.08.010>

Zacho, C. M., van Riemsdijk, I., de Cashan, B., Vörös, J., & Allentoft, M. E. (2025). The *Bombina* hybrid zone: A review of the legacy and future research directions. *Amphibia-Reptilia*, 46, 141–167. <https://doi.org/10.1163/15685381-bja10225>

Még egyszer köszönöm a bírálatot,

Tisztelettel,



Vörös Judit

Budapest, 2026. április 29.