

Válasz Dr. Végvári Zsolt Opponensi véleményére

Szeretném megköszönni az alapos bírálatot és a pozitív értékelést. Az észrevételekkel és fejlesztési javaslatokkal egyet értek, azokra szeretnék reagálni, amelyek a kérdésekben nem hangzottak el.

Valóban jót tett volna a dolgozatnak egy szinoptikus módszertani összefoglaló, bizonyára segített volna jobban megérteni az összehasonlításokat. Másik bírálatban is felmerült a foltos szalamandra perempopulációi kapcsán az, hogy a kis méretük és izoláltságuk miatt érzékenyek lehetnek a genetikai sodródásra, ami hozzájárulhatott a genetikai differenciálódáshoz. Ez támasztja alá az is, hogy az Isolation by Distance (IBD)-elemzés nem mutatott szignifikáns eltérést az északi-középhegységi populációk esetében, tehát nem a földrajzi távolság okozza a genetikai távolságot, hanem más faktorok hatnak ezekre a populációkra. A jövőben érdemes lenne tovább vizsgálni ezeket az állományokat genomikai szinten, megnézve, hogy a genetikai struktúra mennyire korrelál a környezeti változókkal.

A fals pozitív és fals negatív tesztek kizárása a környezeti DNS-vizsgálatok legnagyobb kihívása. Fals pozitív minták kiszűrésére minden lépésben (mintavétel, izolálás, PCR) negatív kontrollok beépítését javasolják. A fals negatív tesztek áthidalására vagy minimalizálására pedig a nagyobb szűrt vízmennyiséget, ugyan azon víztest több helyen történő mintázását és a laboratóriumi folyamatok során magas ismétlésszámot lehet alkalmazni. Mi tanulmányunkban hierarchikus foglaltsági adatmodellt alkalmaztunk a detektálási hiba figyelembevételére. A modell eredményei számszerűsítették a fals negatív arányokat (azaz a rendelkezésre állás és a felderítés valószínűségét) és statisztikailag megerősítették, hogy barlangi környezetben a *Proteus*-eDNS elérhetősége és kimutathatósági valószínűsége egyaránt a szűrés módszerrel volt magasabb, mint a kicsapósos módszerrel. Eredményeink arra is utaltak, hogy a detektálási hiba nagyjából ugyanolyan valószínűséggel fordult elő a vízmintázási fázisban, mint a PCR-reakció fázisban. Ezek a hibarányok alacsonyabbak voltak a szűrési módszer esetén, és javasoltuk mindkét fázisban a megfelelő számú ismétlés beiktatását.

Kételtűeknél jól és kíméletesen mérhető kísérletes körülmények között a stresszreakció a glükokortikoid hormonszint vizsgálatával, amelyet a vízből lehet kimutatni. A mintavételezés hatásait vizsgáló tanulmányok azt mutatják, hogy kételtűek esetében már önmagában az egyed kézbevétele okoz stresszreakciót (Thornabene et al 2023, *Conservation Physiology* 11: 10.1093/conphys/coad078; Narayan et al 2013, *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 164: 21-28.), a többszöri kézbevétele pedig még magasabb CORT szintet eredményez. Azt is kimutatták, hogy pl. az észak amerikai *Desmognathus ocoee* szalamandra kutatása során a kézbevétele és mintavételezés viselkedésbeli változásokat okoz, és a nőstények táplálkozási aktivitása, és mindkét ivar általános aktivitása csökken (Bliley & Woodley, 2012, *Physiology & Behaviour* 2012: 1132-1139.). Érdekes és hasznos lenne ilyen jellegű vizsgálat a *Proteus* esetében is, viszont az életmódja miatt egy laboratóriumi hormonkísérlet nehezen lenne kivitelezhető.

A feltett kérdésekre a válaszaim a következők:

1. Az *Ichthyosaura alpestris bakonyiensis* és a *Litoria raniformis* leszármazási vonalainak esetén milyen integratív küszöbök (genomikai divergencia, bioakusztika, morfológiai diagnózis, szaporodási izoláció) tekinthetőek mérvadónak?

Míg általános egyetértés van abban, hogy teljes vagy majdnem teljes reprodukzív izoláció esetén két populációt önálló fajként érdemes kezelni, a fajképződési lépcső szűrkezonájában lévő taxonok besorolásával kapcsolatban nem igazán van konszenzus. Ezért, az alfaji rang meghatározását sokféleképpen értelmezik. Az utóbbi években egyre többen kérdőjelezték meg az alfaji kategória létjogosultságát. Számos elmélet létezik, amelynek a két pólusa az, hogy egyáltalán ne is használjuk ezt a kategóriát a jövőben (pl. Burbrink et al 2022), vagy éppen

hogy fontosnak tartják és konkrét definíciót adnak rá (pl. Dufresnes et al 2023). Az új adattípusok és analitikai módszerek kétség kívül újabb aspektusokat hoztak a faji/alfaji meghatározás problematikájába és bizonyos szempontból megkönnyítik a döntést. deQueiroz 2020-as tanulmányában részletesen foglalkozott az alfaj mint kategória kérdésével a herpetológiában. Véleménye szerint a problémás esetek azok, ahol valós leszármazási vonalak vannak, de azok kialakulása nem befejezett, vagyis génáramlás van közöttük. Ez a befejezetlen szétválás következhet allopatriából (korábban földrajzilag elkülönült populációk amelyek másodlagos kapcsolatba kerültek), vagy in situ szétválásból egy környezeti grádiens mentén. de Queiroz úgy érvel, hogy a fajok elkülönülten fejlődő metapopulációs leszármazási vonalak (lineage-k), és az alfaj pedig nem egy alárendelt kategória, hanem azzal egyenrangú, csak azokat a leszármazási vonalakat foglalja magába, amelyek szétválása még nem fejeződött be, vagyis, az alfajok valójában nem elkülönült fajok.

Más szerzők, pl. Kindler et al 2019, az alfajokat inkább az evolúciósan szignifikáns egységekhez (Evolutionary Significant Units) hasonlítják abban az értelemben, hogy ideális esetben az alfajok egymástól mind mtDNS mind pedig nukleáris DNS alapján elkülönülnek. Ettől függetlenül az alfajok között génáramlás lehet, és előfordulhat, hogy másodlagos kontakt következményeként előbb-utóbb eltűnnek az evolúciós folyamatok során.

Legfontosabb szempont, amit én is szem előtt tartok az az, hogy az alfaji kategória sok esetben megkönnyíti a kommunikációt a tudományon belül és kifelé is a természetvédelem vagy a döntéshozók felé, ami viszont nagy előnye a nehezen magyarázható ESU-hoz képest.

Kételtűek esetében azért fontos az integratív megközelítés, mert igen gyakori a kriptikus változatosság. A genetikai divergencia tekintetében kételtűeknél Fouquet és társai 2013-mas tanulmánya óta ~3% mitokondriális DNS-eltérés (pl. 16S rRNS gén) számít fajszintű különbségnek, de ez önmagában nem elegendő alfaji vagy faji státusz megállapításához. A morfológiai elkülönítésnél pedig fontos a közelrokon fajok morfológiai ismerete és azok összehasonlítása az általunk besorolni kívánt csoporttal. A morfológiai és genetikai jellegzetességek mellett farkatlan kételtűeknél a bioakusztikai paraméterek is döntőek lehetnek, mivel a hímek hívóhangjának paraméterei közvetlenül befolyásolhatják a párválasztást és már kisebb eltérések is prezigotikus szaporodási izolációhoz vezethetnek. Nehéz tehát küszöbértékeket felállítani, a döntések mindig kontextusfüggőek.

A *Litoria raniformis* esetében genetikai alapon az északi és déli populációk jelentősen különböztek. Mitokondriális DNS tekintetében 7%, a 65,898 SNP vizsgálatkor pedig 11% különbség volt a két vonal között, ami önmagában faji rangot adhatna a két vonalnak. Ugyanakkor morfológiai és bioakusztikai paraméterekben nem találtunk jelentős különbséget, és a reprodukív izoláció sem volt teljes, mivel hibrid egyedeket észleltünk Dél-Ausztrália keleti részén és Tasmániában is. Ez arra is utal, hogy a hímek hívóhangja nem egy erős prezigotikus izolációs mechanizmus. Mindezt együtt figyelembe véve döntöttünk az alfaji kategóriába sorolás mellett. Ezen csoport esetében deQueiroz (2020) definícióját alkalmaztuk, miszerint az alfaj nem a fajtól eltérő kategória, hanem a fajok evolúciójának egy olyan szakaszát jelenti, amelyben a genetikai izoláció még nem teljes.

Az *Ichthyosaura alpestris bakonyiensis* és a törzsalak elkülönülése két mitokondriális génszakasz tekintetében 1% alatt marad, a bioakusztikai paraméterek nem értelmezhetőek (hímek nem adnak hangot), és morfológiai (csonttani) különbségek vannak a két vonal között. Jóllehet ez a „küszöb” nem annyira egyértelmű, mint a *Litoria raniformis* esetében, egy új, idén megjelent tanulmányunk (Koster et al 2026), amely genomikai adatokon alapul, más aspektust vet fel. Az új tanulmány alapján a dunántúli alpesi gőteállományok egy Magyarország nyugati részétől Szlovénián át Olaszországig tartó sávban előforduló kevert állomány részei, amely a törzsalak, *I.a.alpestris*, az észak-balkáni *I.a.reiseri* és a spanyol *I.a.cyreni* alfajok találkozásánál alakult ki az elmúlt egymillió év klimatikus fluktuációi és a populációk különböző kolonizációs vonalai mentén. Tehát, bár nem egy monofiletikus egység, mégis egy különleges és változatos genetikai egységet képvisel, amely szintén a fajképződési folyamat átmeneti zónájában van.

Nevezhetjük ezt az állományt különálló OTU-nak, ESU-nak vagy alfajnak, természetvédelmi szempontból mindenképpen értéket képvisel.

Említett irodalmak:

Burbrink, F. T., Crother, B. I., Murray, C. M., Smith, B. T., Ruane, S., Myers, E. A., & Pyron, R. A. (2022). Empirical and philosophical problems with the subspecies rank. *Ecology and Evolution*, 12, e9069. <https://doi.org/10.1002/ece3.9069>

DeQueiroz, K. (2020). An updated concept of subspecies resolves a dispute about the taxonomy of incompletely separated lineages. *Herpetological Review*, 51(3), 459–461.

Dufresnes, C., Poyarkov, N., & Jablonski, D. (2023). Acknowledging more biodiversity without more species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(40), e2302424120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2302424120>

Koster, S., Theodoropoulos, A., Beukema, W., Ambu, J., Babik, W., Canestrelli, D., Chiochio, 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>

2. Hogyan lett definiálva az accessible area (M) a folyóvízi fajoknál és a felszín alatti terület a *Proteus* esetén?

Folyóvízi fajok esetében (pl. dunai tarajosgöte) az M-t (accessible area) vagy inkább AOI-t (Area of Interest) az előfordulási adatok teljes földrajzi lefedettsége alapján definiáltuk, ezen belül a jelenlétpontokat mintavételeztük. A dunai tarajosgöte egy síkvidéki faj, ami a Duna-Tisza-Száva-Dráva vízgyűjtőkhöz kötődik, és jól körbehatárolható az elterjedése a környező hegyek által, ahol a parapatikus testvérfajok veszik át a helyét. Ezekben a folyóvízgyökben a faj előfordulása ideális esetben összefüggő, de legalábbis egy részben összekapcsolt élőhely-hálózat, ahol a természetes diszperzió lehetséges.

A *Proteus* esetében nehezebb a meghatározás, mivel előfordulásának csupán töredékét ismerjük vagy azokból a barlangokból, amelyek ember számára hozzáférhetőek, vagy olyan élőhelyekről, ahol nagyobb esőzések után a barlangrendszerből a felszínre mossa az eső a példányok kis számát. Mai tudásunk szerint a faj a Dinári-karszt azon felszín alatti (szubterrán) vízrendszerekben fordul elő, amelyek hidrogeológiailag egymással kapcsolatban állnak vagy álltak. Ezek a hidrogeológiai rendszerek erősen fragmentáltak, ezért is van jelentős genetikai különbség a fajon belül, és ezért dolgoznak most szlovén kollégák a faj taxonómiai feldarabolásán genomszintű vizsgálatokra alapozva. Az eDNS egy rendkívül hasznos módszer a *Proteus* előfordulásának felderítésére, és hasonlóképpen lehet alkalmazni, mint a „festéses módszert” (dye tracing), amellyel ki lehet deríteni a felszín alatti vízfolyások irányát és kapcsolatát.

3. Mennyire lehetnek érzékenyek a refúgium- és folyosókövetkeztetések a használt cirkulációs modell (GCM) megválasztására?

Dolgozatomban nem használtam paleoklimatikus rekonstrukciót, így konkrét General Circulation Model-ek sem szerepeltek az elemzésben. A dunai tarajosgöte és a vöröshasú unka elterjedési modellezését végeztük el. Itt függő változóként az előfordulási adatokat, magyarázó változóként pedig a tengerszint feletti magasságot és domborzati viszonyokat adtuk meg. A múltbeli elterjedési modellek rekonstruálásától eltekintettünk, mivel a fajok múltbeli parapatikus elterjedését nem tudtuk adatokkal alátámasztani.

Ugyanakkor ha paleoklíma-alapú modellezést alkalmaznánk, akkor ezek a következtetések valóban érzékenyek lennének a választott GCM-re, mivel a különböző modellek eltérő

klímarekonstrukciókat adnak, ami befolyásolja az alkalmas élőhelyek térbeli mintázatát. A különböző GCM modellek eltérhetnek

- felbontásban (grid méret): ez komoly különbséget adhat pl. a Kárpát-medence szintjén és így a lokális refúgiumok pozíciójában
- aeroszolok és felhők kezelésében: ezek hatása a klímára egy adott időszakban (pl. glaciális környezetben) más élőhelytípust feltételezhet
- óceán-légkör csatolás meghatározásában: pl. óceáni hőszállítás mértéke fontos tényező lehet pl. a balkáni refúgium stabilitásának/alkalmasságának megállapításában

Éppen ezért a gyakorlatban párhuzamosan többféle GCM-et szoktak alkalmazni az ökológiai niche modellezésekhez, és összehasonlítják az eredményeket.

4. Milyen konkrét kezelési döntéseket (területkijelölés, monitoring, folyosóvédelem) indokolnak az SDM és genetikai eredmények a Kárpát-medencei farkos kétéltűeknél és a *Proteus*-nál?

A Kárpát-medencei farkos kétéltűek esetében a legfontosabb tényezőnek a szaporodóhelyek védelmét és ha szükséges, létrehozását javaslom. Folyóvízi fajoknál a vízgyűjtő területén az állandó víztestek fontos élőhelyek a dunai tarajosgöte és a pettyes göte számára. Az izolált hegyvidéki populációknál az alpesi göte és a foltos szalamandra esetén pedig az időszakos vagy állandó kisvizek fenntartása lenne fontos (ilyen élő- és szaporodóhely kialakításokról a Duna-Ipoly és a Bükk Nemzeti Park területén van tudomásom). A foltos szalamandra patakokban kialakult medencékben is lerakja a lárváit, így a patakok mozaikos szerkezetének kialakítása/megtartása kritikus szakaszokon szintén beavatkozást igényel (ahogy az példa értékűen történt a budai szalamandra állomány esetében). A szaporodóhelyeket olyan távolságban kellene kialakítani/fenntartani, hogy az biztosítsa az ökológiai folyosót és egyben a génáramlást. Át kellene gondolni továbbá, hogy hogyan lehetne csökkenteni a populációk fragmentáltságát, pl. az utak hatásának mérséklésével átjárók vagy terelőrendszerek kialakításával.

A genetikai eredmények alapján ideális esetben bizonyos időszakonként genetikai kontrollvizsgálatok lennének szükségesek a genetikai változatosság tesztelésére, főként a kisméretű perempopulációk esetében (pl. foltos szalamandra északi középhegységi állományokban, de a genetikailag egyedi populációk (pl. dunántúli alpesi göteállományok vagy tiszántúli pettyes göteállományok) vagy a refugiumterületeken élő állományokban is (pl. a dunai tarajosgöte Kárpát-medence déli részén élő állományai).

Fontos lépés lehetne az összes faj esetében az NBmR fajprotokoll kidolgozása (jelenleg hivatalosan farkos kétéltűek közül csak a tarajosgötekre készült ilyen javaslat), és hogy a jelenleginél az ország több régiójában fusson hosszútávú felmérés. Hasznos lenne egyes fajok esetében (pl. dunai tarajosgöte) a környezeti DNS-alapú monitorozás beépítése, amelyre a megfelelő mennyiségi-PCR (qPCR)-alapú protokoll kidolgozása folyamatban van. Kiegészítésnek pedig együttműködést javaslom egyes citizen science programokkal (pl. Herptérkép) amelyek kampányszerű akciókkal kiegészítve (pl. év kétéltűje) sok új és hasznos adatot szolgáltathatnak az egyes fajok előfordulásáról. Végül pedig a kétéltűfajok monitorozásába beépíteném a kórokozók monitorozását is, hogy pontosabb képet kapjunk a kétéltűállományok változásának lehetséges okairól. Lassan két évtizede végzünk felméréseket a világszerte kétéltűpusztulást okozó vírusos, bakteriális vagy gombafertőzésekkel kapcsolatban és tudjuk, hogy több ilyen fertőzés jelen van a hazai kétéltűállományokban.

A *Proteus* esetében alapvetően nem csak egyes barlangok, hanem teljes karsztrendszerek védelme lenne ideális. Itt is fontos lenne a különböző genetikai állományú populációk egyedi kezelése elterjedésük mérete és genetikai jellegzetességeik alapján. Egyes karsztrendszereken

belül a *Proteus* alacsony változatosságot mutat a jelentős génáramlás miatt, ezért fontos a felszín alatti vízkapcsolatok védelme, a vízszennyezés megakadályozása. Hangsúlyt helyeznék azokra a területekre is, ahol a faj egyedeit rendszeresen vagy alkalmanként felszínre mossa a víz.

5. Az új, kis elterjedésű trópusi fajoknál (pl. *Pristimantis*) milyen előzetes IUCN-kategória javasolható? Mely adathiányok a legégetőbbek a kategória pontosításához?

Az újonnan leírt, kis elterjedésű trópusi fajok esetében az IUCN-besorolás általában a B-kritériumokra épül, tehát az elterjedési terület (EOO) és az elfoglalt terület (AOO) nagyságára.

Ha ezek nagyon kicsik, és az elterjedés fragmentált, akkor gyakran Veszélyeztetett (Endangered) vagy akár Kritikusan veszélyeztetett (Critically Endangered) kategóriát javasolnak a szakemberek, még akkor is, ha lokálisan gyakoriak. Ha a veszélyeztető tényezők nem egyértelműek, akkor inkább Közel veszélyeztetett (Near Threatened) besorolás jellemző, míg nagyon kevés adat esetén Adathiányos (Data Deficient) kategóriába kerülnek a taxonok.

Való igaz, hogy a *Pristimantis*-fajok olyan régiókban élnek, ahová nehéz vagy lehetetlen eljutni, így nem lehet olyan részletességgel feltérképezni a potenciális elterjedési területet, mint pl. magyarországi viszonyok között lehetne. Emiatt az EOO és AOO valamilyen szinten alábecsült lehet. Meg kell azonban jegyezni, hogy ezek a kriptikus fajok ténylegesen kis elterjedésűek, mivel a kis távolságra lévő bejárható élőhelyeket ellenőriztük, ahonnan már hiányoztak. Így az EOO kevésbé alábecsült, mint az AOO, és további terepbejárásokkal inkább a fragmentációval kapcsolatos ismeretek lennének tovább növelhetőek.

A besoroláskor még azt is figyelembe vettük, hogy populációik védett területen élnek-e, és hogy lakott területek közelében élnek-e, vagy mennyire sűrűn lakott település közelében találhatóak. Hiányoznak azonban a populációméretre, populációs trendekre, ökológiai igényekre vonatkozó ismereteink, így további terepi, populációbiológiai és ökológiai vizsgálatok szükségesek a korrekt IUCN besorolás pontosításához.

Még egyszer szeretném megköszönni az alapos bírálatot,

Tisztelettel,



Vörös Judit

Budapest, 2026. április 29.