

**Válasz** Borbély György, az MTA doktora  
Farkas Edit MTA doktori értekezéséről készített  
opponensi véleményére

Köszönöm opponensemnek értekezésemet és munkásságomat áttekintő alapos munkáját, méltató sorait és pozitív kritikai észrevételeit.

Megjegyzéseivel egyetértek és opponensem sorszámozására zárójelben utalva röviden reagálok.

*Saját kutatási eredmények (2.3)*

Egyetértek azzal, hogy a tárgyalt eredmények alfejezeteit más szerkesztésben is lehetett volna tárgyalni. A szerkesztéssel azt jeleztem, hogy a molekuláris genetikai vizsgálatok munkásságomban alárendelt szerepet játszottak. Az én szerepem elsősorban az volt, hogy bevezessem ezeket a módszereket a hazai lichenológiába.

Valóban, az alkalmazott markerek a gombapartnerre jellemzőek.

Az opponensi véleményben említett publikációk számos érdekességre világítanak rá a zuzmó-együttélésekkel kapcsolatban. Ennek a területnek az utóbbi években visszatérően nagy figyelmet szentelnek a kutatásban, legújabban az IAL Nemzetközi Lichenológiai Szövetség 2016. augusztus 1–5. között Helsinkiben megrendezett „Lichens in Deep Time” című 8. nemzetközi szimpóziumának is központi témája volt. Azt a gondolatot, hogy a zuzmót miniatűr ökoszisztémaként kezeljük (Farrar 1976), az egyre nagyobb számban megismert partnereik visszavonhatatlanná teszik.

A diatómák előfordulása a trópusi *Coenogonium* telepek belsejében (Lakatos *et al.* 2004, a publikáció címében: „inside the thallus”) kissé félreérthető. Mindenképpen további vizsgálatokat is igényel annak kimutatására, hogy milyen kapcsolatban állhatnak egymással. A jelzett publikáció a *Coenogonium* nemzetség fajainak azon csoportjához tartozó fajt tárgyal, ahol a *Trentepohlia* fotobionta partner telepére csavarodva helyezkednek el a gombafonalak, a zuzmótelep alakját a fonalas algának köszönheti. (Ezzel szemben a *Coenogonium* nemzetségbe tartozó több levéllakó és kéreglakó faj, valamint a zuzmók többségére a gombahifák által kialakított telepforma a jellemző.) Megfontolandó, hogy a telep belsejében a fonalak felületén található diatómák valójában a telep felszínén helyezkednek el (és mindenképpen ugyanúgy a gomba sejtjein kívüli térben, mint a fotobionta algasejtek). A diatómák a gomba által termelt poliszacharid nyálkába ágyazottan fordultak elő, hausztórium nem figyelhető meg, amiből a speciális morfológiai struktúrára keresztüli anyagtranszferre lehetne következtetni, de a passzív módon történő anyagátadás nem zárható ki a poikilohidrikus élőlények között. Sőt, a N-izotóp mérések a zuzmógomba számára előnyös kapcsolatra utalnak. Az is elgondolkodtató, hogy a diatómák a *Coenogonium* közelében található 3 további zuzmófajról nem voltak kimutathatók. A nedvesség könnyebben elérhető, a fény pedig éppen megfelelő mértékű a fonalas zuzmótelepben élő diatómák számára. Ehhez adódik a telep által biztosított, fakéregnél hűvösebb mikroklíma. Sok érv szól a mutualisztikus kapcsolat mellett.

A zuzmókon élő baktériumokat is egyre intenzívebben vizsgálják (Berg *et al.* 2016). Az utóbbi évek kutatásai megerősítették, hogy a zuzmókkal együtt élő baktériumközösségek taxonspecifikusak és számos olyan funkcióval bírnak, ami a zuzmók számára evolúciós előnyként szolgált hosszú időn keresztül az extrém környezeti feltételek között.

Ráadásul a közelmúlt szenzációjaként mutatták ki a Cyphobasidiales bazidiumos élesztőgombákat a Parmeliaceae makrozuzmók (bokros és leveles telepűek) 6 kontinensről származó 56 nemzetségének vizsgálatával, amelyből 42-ben találtak gombát (Spribille *et al.* 2016). A téma oktatási vetületével kapcsolatos sajtóvisszhangjára több helyen reflektáltam (Farkas 2016a, b). Itt a nevezéktanra, fajkonceptióra vonatkozóan szeretném jelezni, hogy a különböző zuzmófajokkal együtt élő Cyphobasidiales taxonok még kevésbé ismertek és a nevezéktani szabályok szerint leíratlanok. Tömegüket tekintve pedig továbbra is a Parmeliaceae aszkuszos zuzmógombák vannak többségben a telepben és jelennek meg fajspecifikusan. Vagyis egyelőre megmaradhat az egy (Parmeliaceae) zuzmógomba egy zuzmófaj megfeleltetés, a bazidiumos élesztőgomba nevével nem kell számolni a zuzmó elnevezésével kapcsolatban. (Bár a zuzmó-fotobiontákat az algák és a cianobaktériumok rendszerén belül, a zuzmógombákat a gombák rendszerén belül kell elhelyezni, és ennek megfelelően elnevezni, továbbá emiatt a zuzmók kaphatnának a társulásokhoz hasonló elnevezést is, mégis, mert annyi zuzmó van, ahány lichenizált gomba, szükségtelen külön nevet adni a zuzmónak és a zuzmógombának. A zuzmó neve a nómenklatúrai szabályok szerint megegyezhet a zuzmógomba nevével – ICN 2011).

- Berg, G., Riedel, K., Grube, M. 2016: Flechten-Mikrobiom: eine alte Symbiose neu entdeckt. - *BIOspektrum, Wissenschaft Symbiotische Lebensgemeinschaften* 22(1): 12–15.
- Farrar, J. F. 1976: *The lichen as an ecosystem: observation and experiment.* – In: Brown, D. H., Hawksworth, D. L., Bailey, R. H. (eds): *Progress and problems.* Academic Press, London, pp. 385–406.
- Farkas, E. 2016a: Totális tévedés, amit a zuzmókról tanultunk? - <http://www.obi.okologia.mta.hu/node/8408>
- Farkas, E. 2016b: Hány gomba is alkotja a makrozuzmókat? -<http://okologiablog.hu/node/393>
- ICN 2011: International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code) 18th International Botanical Congress Melbourne, Australia, July 2011
- Lakatos, M. Lange-Bertalot, H. Büdel, B. 2004: Diatoms living inside the thallus of the green algal lichen *Coenogonium linkii* in neotropical lowland rain forests. – *Journal of Phycology* 40: 70–73.
- Spribille, T., Tuovinen, V., Resl, P., Vanderpool, D., Wolinski, H., Aime, M.C., Schneider, K., Stabenheimer, E., Toome-Heller, M., Thor, G., Mayrhofer, H., Johannesson, H., McCutcheon, J.P. 2016. Basidiomycete yeasts in the cortex of ascomycete macrolichens. – *Science* 353: 488–492.

### Általános megjegyzések (3)

#### Irodalomjegyzék (3.1)

Az értekezést és irodalomjegyzékét a követelményrendszer figyelembevételével oly módon készítettem el, hogy doktori művem önmagában véve is alkalmas legyen eredeti tudományos teljesítményem értékelésére, megítélésére, előző tudományos fokozatom megszerzését követő időszakom eredményei külön is értékelhetők legyenek, valamint kellő hangsúlyt fektessek arra, hogy kifejezzem, munkásságom mennyiben segítette elő a magyar tudományos kutatás külföldi megismertetését és mely területeken növelte hírnevét. Az irodalomjegyzéket más módon, pl. saját munkák vastagított szedéssel történő kiemelésével is lehetett volna szerkeszteni, viszont arra is törekedtem, hogy a tézisekben különösen fontos elkülönítések az érteke-

zésben is megegyező szerkesztésben szerepeljenek, továbbá a tudományometriai értékelést is megkönnyítsem.

### *Rövidítésjegyzék (3.2)*

Valóban nem adtam meg néhány rövidítést, amit itt lejjebb pótolok. Mentségemre szolgáljon, hogy terjedelmi korlátok miatt gyakran sok rövidítés az eredeti publikációkban is hiányzik (néha még a véleményezőik kérésére is), több taxonómiai cikket közlő folyóiratokban pl. a herbáriumi rövidítések, inkább molekuláris genetikával foglalkozókban néha a gyakrabban előforduló markerek rövidítései maradnak el, vagyis különböző szakterületek folyóirataiban eltérőek a közismertnek tekintett betűszavak, illetve alapvető irodalmi források jelzésével kerülhet el sok rövidítés feloldása. A herbáriumrövidítések a „Thiers [2015, continuously updated]”-ként hivatkozott helyen található az interneten. A markereket többek között az AFToL, Assembling the Fungal Tree of Life programmal kapcsolatban Francois Lutzoni (Duke University, Durham, USA) Laboratóriumának honlapján a bevezetőben említik, majd részletesen ismertetik (<http://lutzonilab.org/aftol-research/>)

Thiers, B. [2015, continuously updated]. *Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff*. – New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. – <http://sweetgum.nybg.org/ih/>

szerint

B - Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem, Zentraleinrichtung der Freien Universität Berlin - Germany. BERLIN

BRA Slovak National Museum Slovakia. BRATISLAVA

GZU Karl-Franzens-Universität Graz - Austria. GRAZ

KRAM - Institute of Botany, Polish Academy of Sciences - Poland. KRAKÓW

KRAM-L- – KRAM Lichen Herbarium

M - Botanische Staatssammlung München - Germany. MÜNCHEN

PRA - Institute of Botany, Academy of Sciences - Czech Republic. PRUHONICE

PRA-V – PRA Vězda Herbarium

S - Swedish Museum of Natural History - Sweden. STOCKHOLM.

UPS - Uppsala University, Museum of Evolution - Sweden. UPPSALA

US - Smithsonian Institution - U.S.A. District of Columbia. WASHINGTON

W - Naturhistorisches Museum Wien - Austria. WIEN

### A markerek rövidítései

rDNS – riboszómát kódoló DNS szakasz

ITS (pontosabban ITS rDNS) – internal transcribed spacer – egy olyan DNS régió, amely a riboszóma kis és nagy alegységét kódoló génszakasz között található. [Ezt a szakaszt vizsgálták legelterjedtebben növények és gombák körében, mint feltételezetten taxonspecifikus szekvenciát.]

nuc – arra vonatkozó rövidítés, hogy a sejtmagban található

mit – arra vonatkozó rövidítés, hogy a mitokondriumban található

nucLSU rDNS – a sejtmagban található olyan DNS szakasz, amely a riboszóma nagy alegységét kódolja

nucSSU rDNS - a sejtmagban található olyan DNS szakasz, amely a riboszóma kis alegységét kódolja

mitSSU rDNS – mitokondriumban található olyan DNS szakasz, amely a riboszóma kis alegységét kódolja

IGS – Intergenic Spacer, nem átíródó DNS régió

IGS rDNS Intergenic Spacer (más néven NTS = non-transcribed spacer) nem átíródó riboszómális DNS régió

RPB1 – RNS polimeráz II legnagyobb alegysége

RPB1-gén – RNS polimeráz II legnagyobb alegységét kódoló DNS szakasz

RPB2 – RNS polimeráz II második legnagyobb alegysége

RPB2-gén – RNS polimeráz II legnagyobb alegységét kódoló DNS szakasz

EF1 $\alpha$  – (Translation) Elongation factor 1-alpha, vagyis az aminoacyl t RNS riboszómához történő szállításáért felelős első elongációs faktor alfa alegysége

Kérdéseire az alábbiakban válaszolok:

*A DNS „barcoding” technika alkalmas-e a zuzmó fajok taxonómiai jellemzésére? (5.1)*

A DNS barcode fajra jellemző DNS-szakasz. A DNS barcoding technika tesztelésére számos szakirodalmi példát hozhatunk a lichenológia területéről is (Leavitt *et al.* 2013b, 2014, Pino-Bodas 2013a, b). Leggyakrabban az ITS szekvenciát tekintik általános érvényűnek ebből a szempontból nemcsak a zuzmógombák esetében, de általában a gombavilágra jellemzően is. Például a *Rhizoplaca melanophthalma* fajcsoport 5 faját (*R. occulta*, *R. parilis*, *R. polymorpha*, *R. porterii*, and *R. shushanii*) ITS szekvenciáik alapján különítették el és írták le. (Leavitt *et al.* 2013b)

[A 2011-ben megtartott 18. Nemzetközi Botanikai Kongresszus (Melbourne) nomenklatúrai szekciójának ajánlása szerint az újonnan leírt taxonok kötelező regisztrációja (MycoBank v. Index Fungorum adatbázisban) során célszerű az ITS szekvenciát is rögzíteni leíráskor. Ez azért rendkívül hasznos, mert mai tudásunk szerint a DNS néhány évnél korábban gyűjtött mintából történő kinyerésének sikere bizonytalan. Ez azonban súlyos anyagi terhekkel jár.]

Az újabb kutatásokban gyakran az AFToL projektet követően 7–8 (ritkábban akár 15–20)-féle szekvenciát is teszteltek azonos taxonokkal összefüggésben (Kauff *et al.* 2007, Leavitt *et al.* 2013a, Miadlikowska *et al.* 2014). Ezek alapján elmondható, hogy a zuzmók esetében is használhatók a DNS barcoding technikák, azonban taxononként eltérő mértékben. Vannak olyan csoportok (pl. a több mint 500 fajból álló Cladoniaceae családon belül), ahol nem az általánosan használt ITS a legkedvezőbb szekvencia és még további kutatásokat igényel a megfelelő génszakasz kiválasztása (Pino-Bodas *et al.* 2013a, b). Ezidáig 5 marker közül a *cox1* (citokrom c oxidáz) bizonyult a legalkalmasabbnak, mert bár az *rpb2* PCI (Percentage of correct identification – helyes fajmeghatározási arány) értéke magasabb, az amplifikálás viszont bonyolult volt.

Kauff, F., Cox, C. J., Lutzoni, F. 2007. WASABI: An automated sequence processing system for multigene phylogenies. – *Systematic Biology* 56(3): 523–531.

Leavitt, S. D., Esslinger, T. L., Spribille, T., Divakar, P. K., Lumbsch, H. T. 2013a: Multilocus phylogeny of the lichen-forming fungal genus *Melanohalea* (Parmeliaceae, Ascomycota): Insights on diversity, distributions, and a comparison of species tree and concatenated topologies. – *Molecular Phylogenetics and Evolution* 66(1): 138–152.

Leavitt, S. D., Fernández-Mendoza, F., Pérez-Ortega, S., Sohrabi, M., Divakar, P. K., Lumbsch, H. T., St. Clair, L. L. 2013b: DNA barcode identification of lichen-forming fungal species in the *Rhizoplaca melanophthalma* species-complex (Lecanorales, Lecanoraceae), including five new species. – *MycKeys* 7: 1–22

Leavitt, S. D., Esslinger, T. L., Hansen, E. S., Divakar, P. K., Crespo, A., Loomis, B. F., Lumbsch, H. T. 2014: DNA barcoding of brown *Parmeliae* (Parmeliaceae) species: A molecular approach for accurate specimen identification, emphasizing species in Greenland. – *Organisms Diversity and Evolution* 14(1): 11–20.

Miadlikowska, J., Kauff, F., Högnabba, F., Oliver, J.C., Molnár, K., Fraker, E., Gaya, E., Hafellner, J., Hofstetter, V., Gueidan, C., Otálora, M.A.G., Hodkinson, B., Kukwa, M., Lücking, R., Björk, C., Sipman, H.J.M., Burgaz, A.R., Thell, A., Passo, A., Myllys, L., Goward, T., Fernández-Brimem, S., Hestmark, G., Lendemer, J., Lumbsch, H.T., Schull, M., Schoch, C.L., Sérusiaux, E., Maddison, D.R., Arnold, A.E., Lutzoni, F., Stenroos, S. 2014: A multigene phylogenetic synthesis for the class Lecanoromycetes

(Ascomycota): 1307 fungi representing 1139 infrageneric taxa, 317 genera and 66 families. – *Molecular Phylogenetics and Evolution* 79: 132–168.

Pino-Bodas, R., Martin, M. P., Burgaz, A. R., Lumbsch, H. T. (2013a): Species delimitation in *Cladonia* (Ascomycota): a challenge to the DNA barcoding philosophy. – *Molecular Ecology Resources* 13(6): 1058–1068.

Pino-Bodas, R., Ahti, T., Stenroos, S., Martin, M. P., Burgaz, A. R. (2013b): Multilocus approach to species recognition in the *Cladonia humilis* complex (Cladoniaceae, Ascomycota). – *American Journal of Botany* 100(4): 664–678.

*Megoldható-e a zuzmó fajok asszociációs partnereinek szétválasztása és axenikus tenyésztése, a photobionta és a mycobionta partner(ek) újraegyesítése, a zuzmó rekonstrukciója? (5.2)*

Bár a legkorábbi, axenikus kultúrából való újraegyesítést Thomasnak tulajdonítják, aki 1939-ben hozott létre *Cladonia pyxidata* f. *chlorophaea* zuzmót (szorédiumokat, néhány pikkelyt és podéciumot) mesterségesen Erlenneyer lombikban (Thomas 1939), hosszú idő telt el a következő sikeres kísérletig. Thomas sem tudta reprodukálni eredményeit 800 (!) további próbálkozása ellenére. Az amerikai Vernon Ahmadjian foglalkozott a zuzmók szimbionta partnereinek szétválasztásával és újraegyesítésével tulajdonképpen Thomas módszerével – táptalajba ágyazott fakéreg és -bél felhasználásával (Ahmadjian 1966). Ennek megvalósítása még akkor is igen nehézkes volt. A külön tenyészetekből egyesített *Cladonia cristatella* telepen csak kezdetleges podécium volt felismerhető, piknidiumok és telepi pikkelyek fejlődtek, más esetekben termőtestképzés nem valósult meg. Az *Endocarpon pusillum* újraegyesítése sikeres volt aszkospóra-eredetű gombából és termőrétegben élő, ún. hymeniális algából (Ahmadjian & Heikkilä 1970), viszont a *Staurothele clopima* zuzmógomba és az *E. pusillum* eredetű fotobionta kapcsolata még 8 hónap inkubáció idő után sem jött létre.

Pályám kezdete óta követtem az osztrák Elfie Stocker-Wörgötter, svéd Leif Tibell, svájci Rosmarie Honegger és Christoph Scheidegger kollégák kísérleteit, ahol egyrészt a komponenseket tenyésztették pl. mazédiumból, másrészt természetes ivartalan szaporítóképletekből (izídium, szorédium) próbálták meg kifejlett telepet létrehozni kísérleteik során, amelyek különböző elméleti biológiai, zuzmókémiai, élettani vagy ökológiai kérdésekkel voltak kapcsolatosak.

Stocker-Wörgötter & Hager (2008) összefoglalóját és áttekintő ábráját (1. ábra) követve elmondhatjuk, hogy egy héten belül gyűjtött friss zuzmótelepből mind a gomba egyetlen sejt eredetű v. többsejt-eredetű (magányos spóra, vagy általában egy aszkuszából származó spóra-együttes), mind az alga vagy cianobaktérium tiszta tenyésztete előállítható. 250 axenikus gombakultúra és 50 tiszta fotobionta kultúra érhető el, s ez a készlet az újabb kutatások során egyre bővül. Pl. McDonald *et al.* (2013) 25 új kultúrát állítottak elő további kísérletek céljaira. Yoshimura *et al.* (1993) több faj (*Cladonia humilis*, *Peltigera pruinosa* és *P. aphthosa*) partnereinek izolációs, tenyésztési majd újraegyesítési körülményeinek leírását adják meg. A sikeres tenyésztéshez és újraegyesítéshez nagyon fontos a zuzmó természetes életkörülményeinek ismerete (vö. trópusi, sivatagi v. magashegységi környezeti viszonyok), amit a tenyésztéskor figyelembe vesznek (pl. hőmérséklet, hosszabb időszak kiszáradt állapotban, stb.).

Ahmadjian, V. 1966: Artificial Reestablishment of Lichen *Cladonia Cristatella*. – *Science* 151: 199–201.

Ahmadjian, V. & Heikkilä, H 1970: The culture and synthesis of *Endocarpon pusillum* and *Staurothele clopima*. – *Lichenologist* 4: 259-267.

- McDonald, T. R., Gaya, E., François Lutzoni, F. 2013: Twenty-five cultures of lichenizing fungi available for experimental studies on symbiotic systems. – *Symbiosis* 59: 165–171.
- Stocker-Wörgötter, E., Hager, A. 2008: Appendix: culture methods for lichens and lichen symbionts. – In: T. H. Nash, III: *Lichen Biology. Second Edition*. Cambridge University Press, Cambridge. viii+486 pages, pp. 353–363.
- Thomas, E. A. 1939: Über die Biologie von Flechtenbildnern. – *Beitr. Kryptogamenfl. Schweiz* 9: 1–208.
- Yoshimura, I., Kurokawa, T., Yamamoto, Y., Kinoshita, Y. 1993: Development of lichen thalli in vitro. – *The Bryologist* 96(3): 412–421.

356 E. Stocker-Wörgötter and A. Hager

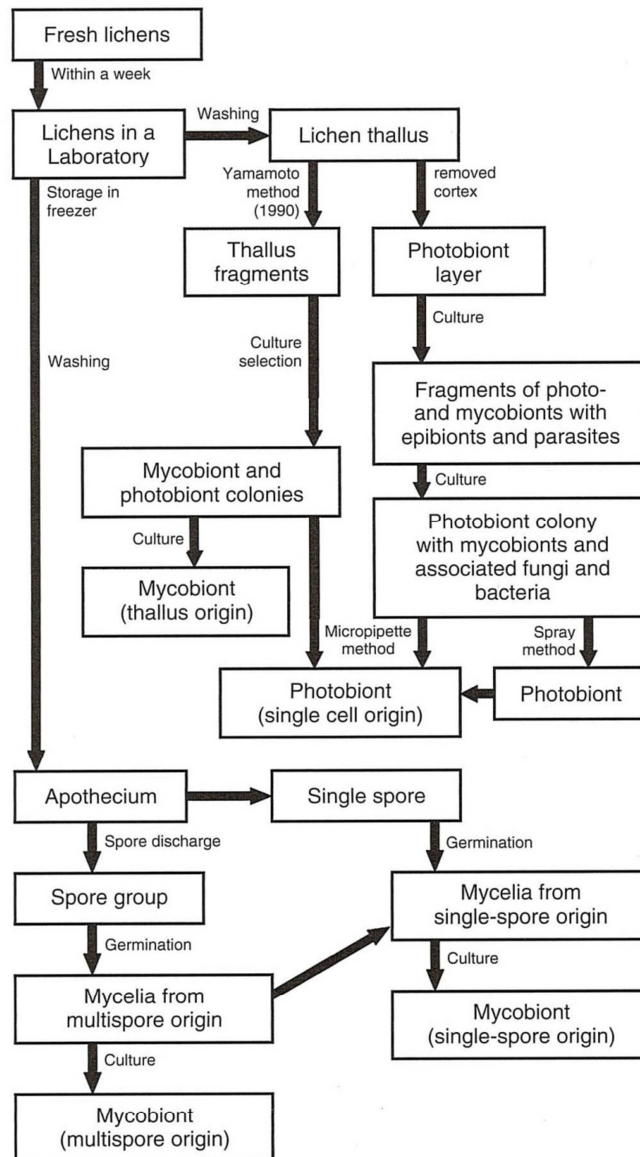


Fig. App.2 Spore isolation method.

1.ábra. Az izolációs módszerek áttekintő ábrája (Stocker-Wörgötter & Hager 2008: 356).

2016. október 17.

Dr. Farkas Edit