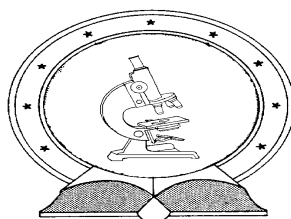


DE TTK



1949

Baktériumközösségek diverzitása és foszforforgalmi
szerepe a Balaton és kiskunsági szikes vízterek üledékében
Egyetemi doktori (PhD) értekezés

SZABÓ GITTA

Témavezetők:

Dr. Borsodi Andrea, egyetemi docens

Prof. Dr. Dévai György, professor emeritus

Debreceni Egyetem

Természettudományi Doktori Tanács

Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

Debrecen, 2011

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi Doktori Tanács *Juhász-Nagy Pál* Doktori Iskola *Hidrobiológia* programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

.....
Debrecen,Szabó Gitta

Tanúsítom, hogy Szabó Gitta doktorjelölt 2003 – 2011 között a fent megnevezett Doktori Iskola *Hidrobiológia* programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javasolom.

.....
Debrecen,Prof. Dr. Dévai György

Tanúsítom, hogy Szabó Gitta doktorjelölt 2003 – 2011 között a fent megnevezett Doktori Iskola *Hidrobiológia* programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javasolom.

.....
Debrecen,.....Dr. Borsodi Andrea

Baktériumközösségek diverzitása és foszforforgalmi szerepe a Balaton és kiskunsági szikes vízterek üledékében

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében, *Hidrobiológia* tudományágban

Írta: Szabó Gitta okleveles biológus

Készült a Debreceni Egyetem Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola *Hidrobiológia* programjának keretében.

Témavezetők: Dr. Borsodi Andrea és Prof. Dr. Dévai György

A doktori szigorlati bizottság:

elnök:
tagok:
.....

A doktori szigorlat időpontja:

Az értekezés bírálói:

Dr.
Dr.
Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.
Dr.
tagok: Dr.
Dr.
Dr.
Dr.
Dr.

Az értekezés védésének időpontja:

Tartalomjegyzék

1 Bevezetés és célkitűzés	1
2 Irodalmi áttekintés	3
2.1 Szikes vizek és mikrobaközösségeik	3
2.2 A Balaton és mikrobaközösségei	9
2.3 A bakteriális polifoszfat-felhalmozás szerepe és ökológiai jelentősége	13
3 Vizsgálati anyagok és módszerek	17
3.1 Mintavétel	17
3.2 A különböző foszforformák koncentrációjának mérése a víz- és az üledékmintákban	19
3.3 Közösségi szénforrás értékesítési vizsgálat	20
3.4 A baktériumközösségek diverzitásának tenyésztéstől független vizsgálata ..	22
3.5 Csíraszámbeclés és baktériumtörzsek izolálása	26
3.6 A baktériumtörzsek genotípusos jellemzése	28
3.7 A baktériumtörzsek fenotípusos jellemzése	33
3.8 Alkalmazott statisztikai módszerek	34
4 Eredmények és értékelésük	36
4.1 A kiskunsági szikes kistavakból származó üledékminták vizsgálatának eredményei	36
4.1.1 Vízkémiai tulajdonságok és az üledékminták foszfortartalma	36
4.1.2 A baktériumközösségek csíraszama az üledék felső rétegében	36
4.1.3 Az üledék mikrobaközösségeinek szénforrás értékesítési vizsgálata	37
4.1.4 Az üledékben élő baktériumközösségek tenyésztéstől független diverzitás vizsgálata	39
4.1.5 A baktériumtörzsek 16S rDNS alapú filogenetikai rokonsága	40
4.1.6 Az üledékből származó baktériumtörzsek fenotípusos tulajdonságai	44
4.1.7 A baktériumtörzsek foszforforgalommal kapcsolatos vizsgálatának eredményei	47
4.2 A kiskunsági szikes kistavakból származó üledékminták vizsgálati eredményeinek értékelése	51
4.2.1 Vízkémiai tulajdonságok, és az üledékminták foszfortartalma	51
4.2.2 A baktériumközösségek csíraszama az üledék felső rétegében	51
4.2.3 Az üledék mikrobaközösségeinek metabolikus ujjlenyomata	52
4.2.4 Az üledékben élő baktériumközösségek molekuláris ujjlenyomata	52
4.2.5 A tenyésztésen alapuló vizsgálatok eredményeinek értékelése	53
4.2.6 A baktériumtörzsek foszforforgalmi szerepe	56
4.3 A Balatonból származó üledékminták vizsgálatának eredményei	58
4.3.1 Vízkémiai tulajdonságok, a tóvíz és az üledék intersticiális vizének foszfor tartalma	58
4.3.2 A baktériumközösségek csíraszama az üledék felső rétegében	58
4.3.3 Az üledék mikrobaközösségeinek szénforrás értékesítési vizsgálata	59

4.3.4 Az üledékben élő baktériumközösségek tenyésztéstől független diverzitás vizsgálata	61
4.3.5 A baktériumtörzsek 16S rDNS alapú filogenetikai rokonsága.....	62
4.3.6 Az üledékből származó baktériumtörzsek fenotípusos tulajdonságai	66
4.3.7 A baktériumtörzsek foszforforgalommal kapcsolatos vizsgálatának eredményei.....	70
4.4 A Balatonból származó üledékminták vizsgálati eredményeinek értékelése. 74	
4.4.1 A víz- és az üledékminták foszfortartalma	74
4.4.2 A baktériumközösségek csíraszám az üledék felső rétegében.....	74
4.4.3 Az üledék mikrobaközösségeinek metabolikus ujjlenyomata.....	75
4.4.4 Az üledékben élő baktériumközösségek molekuláris ujjlenyomata.....	75
4.4.5 A tenyésztésen alapuló vizsgálatok eredményeinek értékelése.....	76
4.4.6 A baktériumtörzsek foszforforgalmi szerepe	80
5 Összefoglalás	83
6 English summary	86
6.1 Introduction and main objectives.....	87
6.2 Results and discussion	89
7 Köszönetnyilvánítás.....	92
8 Felhasznált irodalom	93
9 Tudományos tevékenység jegyzéke.....	113
9.1 Az értekezés témakörében, impakt faktorral rendelkező folyóiratban megjelent publikációk jegyzéke.....	113
9.2 Az értekezés témakörében referált folyóiratban megjelent publikációk jegyzéke	113
9.3 Egyéb megjelent publikációk jegyzéke	113
9.4 Az értekezés témakörében elhangzott előadások jegyzéke.....	114
9.5 Az értekezés témakörében készült poszterelőadások jegyzéke	114
10 Függelék.....	116

1 Bevezetés és célkitűzés

A szikes vizek a világ legproduktívabb vizes élőhelyei közé tartoznak (Duckworth et al., 1996; Jones et al., 1998; Doronina et al., 2003). Ezeket a különleges, alkalikus és magas sótartalommal jellemezhető élőhelyeket, túlnyomórészt alkalofil és halofil prokarióta szervezetek népesítik be (Grant, 1992; Sorokin et al., 2003; Ma et al., 2004). A Kárpát-medence szikes vizeit kiemelkedő jelentőségű természeti értéket képviselnek egyedülálló geológiai, hidrológiai, botanikai és zoológiai tulajdonságaiknak köszönhetően. A nagy nyíltvízi felülettel és állandó vízborítottsággal jellemezhető Fertő és Velencei-tó mellett különleges szikes vizek a kiskunsági „székek”, melyek igen sekély, nyár végén gyakran teljesen kiszáradó, hipertróf, enyhén sós vizek (Dévai et al., 2001; Boros és Vörös, 2010; Váradi és Fehér, 2010).

A Balaton Közép-Európa legnagyobb vízfelületű sekély tava, és hazánk egyedülálló természeti kincse (Istvánovics et al., 2007). A tó vízminőségi állapotában az elmúlt évtizedekben jelentős változások következtek be. A megnövekedett külső tápanyag-terhelés következtében eutrofizációja felgyorsult, és a Keszthelyi-medence a 1970-es évekre hipertrof állapotúvá vált (Herodek, 1984). A tó életét és idegenforgalmi hasznosítását egyaránt veszélyeztető folyamatok megállítása és megfordítása érdekében 1983-ban átfogó programot indítottak a Balatonba jutó tápanyagok mennyiségének csökkentésére (Papp, 2004; Somlyódy és Honti, 2005; Tátrai et al., 2008). Ennek köszönhetően mára ismét eutróf és mezotróf állapotok jellemzik a Balatont, de az intézkedések után csak mintegy tíz év elteltével javult vízminőség, az üledékből a víztestbe kerülő foszfát mennyisége ugyanis még évekig fenntartotta a kedvezőtlen trofikus állapotot (Padisák és Reynolds, 1998; Istvánovics et al., 2007).

A sekély vizi ökoszisztémákban az üledék mikrobaközösségei összetételüktől és aktivitásuktól függően nagymértékben befolyásolják az elsődleges termelők számára hozzáférhető tápanyagok mennyiségét (Nealson, 1997; Spring et al., 2000). A Balaton példája is jól szemlélteti, hogy a külső terhelés csökkentése után az oligotrofizálásra irányuló törekvések sikerét illetően is kiemelten fontos a belső foszforterhelés eredetének és nagyságának ismerete (Jeppessen et al., 2005, Maassen et al., 2005, Tátrai et al., 2008). A foszforforgalomban központi jelentősége van a szerves foszforvegyületek mikrobiális lebontásának, amelynek során ortofoszfát szabadul fel (Jansson et al., 1988; Barik et al., 2001). Ugyanakkor az üledék baktériumközösségei a belső terhelés nagyságát annak jelentős mértékű visszatartásán keresztül is befolyásolhatják, mert egyes szervezetek

nagy mennyiségben képesek a tápelemet polifoszfát formájában felhalmozni (Uhlmann és Bauer 1988; Gächter és Meyer 1993; Khoshmanesh et al., 2002).

Világszerte számos mikrobiális vizsgálat irányult a bentikus baktériumközösségek egyes funkcionális csoportjainak megismerésére, de az üledékfelszín aerob kemoorganotróf baktériumközösségeinek összetételéről és szezonális dinamikájáról még ma is kevés információval rendelkezünk (Spring et al., 2000; Tamaki et al., 2005). Keveset tudunk továbbá arról is, hogy a víztest trofikus állapota hatással van-e a bakteriális biomassza nagyságára és a baktériumközösségek aktivitására és szerkezetére az üledékben (Maasen et al., 2003; Wobus et al., 2003). Természetes vízi ökoszisztémákban az üledéklakó polifoszfátot felhalmozó szervezetek diverzitásának vizsgálatát tudomásunk szerint eddig összesen két kutatás célozta meg (Gloess et al., 2007, 2008), és a polifoszfátraktárak fiziológiai és ökológiai jelentőségével kapcsolatosan is hiányosak még az ismereteink (Gächter és Meyer 1993; Waara et al., 1993; Hupfer et al., 2007).

Mindezek alapján két kiskunsági szikes kistóban (a Kelemen-szék és a Böddi-szék), valamint a Balaton Siófoki- és Keszthelyi-medencéjben az üledék felső rétegének mikrobaközösségeire irányuló munkám céljával tűztem ki:

1. az üledék felső rétegében élő aerob, kemoorganotróf baktériumok csíraszámának vizsgálatát;
2. az üledékfelszíni mikrobiális közösségek anyagcsere mintázatainak tér- és időbeli összehasonlítását BIOLOG szénforrás értékesítési vizsgálatokkal;
3. a baktériumközösségek szerkezetében bekövetkező tér-, időbeli változások vizsgálatát tenyésztéstől független molekuláris módszer (denaturáló gradiens gélelektroforézis) alkalmazásával;
4. az üledékben található aerob, kemoorganotróf baktériumok faji hovatartozásának és metabolikus tulajdonságainak feltérképezését tenyésztésen alapuló módszerekkel;
5. a tenyészthető üledéklakó baktériumok polifoszfátot felhalmozó képességének, és a polifoszfátraktárak fiziológiai szerepének vizsgálatát.

2 Irodalmi áttekintés

2.1 Szikes vizek és mikrobaközösségeik

A világszerte elszórtan található kontinentális sós vizek becsült víztérfogata ($104\,000\text{ km}^3$) megközelíti az édesvizekét ($125\,000\text{ km}^3$) (Boros és Vörös, 2010). A sós vizek közé tartozó szikes vizeket a nátrium-, hidrogén-karbonát- és karbonát-ionok túlsúlya jellemzi, és a karbonát sók nagy koncentrációjának köszönhetően vizük erősen lúgos kémhatású, akár pH 12 is lehet (Jones et al., 1998; Boros és Vörös, 2010). Az uralkodó a nátrium-, hidrogén-karbonát- és karbonát-ionok mellett előforduló egyéb ionok aránya a tavak kialakulásától, a medencét alkotó kőzetek összetételétől, a vízutánpótlás minőségétől és az éghajlati adottságoktól függően változatos, és a tavak egyedi jellegét okozza. A hazai szikes vizekben a kationok közül a domináns nátrium- mellett a kalcium-ion van jelen legnagyobb mennyiségben, az anionok között hidrogén-karbonát- és karbonát-ionok mellett a szulfát- (pl. tiszántúli szikesek, Velencei-tó) esetenként a klorid-ionok koncentrációja lehet jelentős (pl. Szelidi-tó) (Boros, 1999; Tamásné, 1999; Schmidt, 2003; Váradi és Fehér, 2010).

Az atalasszohalin szikes vizek a mérsékelt vagy trópusi éghajlati övezetben száraz, illetve mérsékelt száraz éghajlat mellett alakulnak ki (ilyenek pl. a törökországi Van-tó, a Kelet-afrikai-árokrendszer nagy tavai, az egyiptomi Wadi Nátron, a kínai Baer-tó). A többnyire sekély tómedrek közös jellemzője a felszíni lefolyás hiánya, ahol az erőteljes párolgás nagyfokú sófelhalmozódást eredményez (Grant, 1992; Jones et al., 1998; Doronina et al., 2003; Sorokin et al., 2003; Ma et al., 2004).

A Kárpát-medence szikes vizeit kiemelkedő jelentőségű természeti értéket képviselnek egyedülálló geológiai, hidrológiai, botanikai, zoológiai tulajdonságaiknak köszönhetően. Megőrzésük érdekében 1996-ban minden hazai, természetközeli állapotban fennmaradt, szikes vizet országos jelentőségű védett területnek nyilvánítottak (Boros, 1999).

A magyarországi szikes vizek többsége a nagytavak és szárazföldek közötti átmeneti jellegű vizes élőhelyek (wetland) csoportjába sorolható. Víztér tipológiai szempontból jól elkülöníthető a két állandó vízborítottságú, viszonylag nagy kiterjedésű, fertő és sekély tó típusú szikes vizünk, a Fertő és a Velencei-tó, valamint a kopolya típusú holtmedernek minősülő Szelidi-tó. A hazánkban előforduló többi szikes víz a kistavak – ezeket szokták a köznapiban szóhasználatban „szikes tavakként” említeni, pl. a kiskunsági Kelemen-szék és Böddi-szék, valamint a tiszántúli Nagy-Vadas – a szikes mocsarak és a kisvizek kategóriákba sorolható (Dévai et al., 2001; Boros,

1999; Boros és Vörös, 2010). Hazánk szikes víztereit a világ más szikes vizes élőhelyeihez képest a viszonylag alacsonyabb sótartalom, és a nagyfokú lúgosság (pH 9-10) jellemzi. A nemzetközi terminológia szerint szikes vizeink zöme a sótartalom alapján a szubszalin-mezoszalin tartományba sorolható (Boros és Vörös, 2010).

A víz színe alapján az alföldi sekély szikes kistavaknak két típusát különböztethetjük meg. Az élőhelyek szukcessziós folyamatában a „fehérvízű tavak” fiatalabb képződmények, tejfehér vizük a kolloid mészsóktól állandóan zavaros. Fény csak a felső pár centiméteres rétegbe tud behatolni, és ez nagymértékben korlátozza a fotoszintetizáló szervezetek elterjedését. A „feketevízű tavak” lebegő anyagban szegények, vizük átlátszó, és az oldott szerves anyagoktól sötét, sárgásbarna színű. Ezekben a víztestekben már gazdag vízi és mocsári növényzet jelenik meg. A két forma egyazon mederben is megjelenhet az egyenlőtlen feltöltődés következtében (Boros, 1999; V-Balogh et al., 2010).

A Duna-Tisza közti Kelemen-szék (1. fotó) és Böddi-szék (2. fotó) 0,3 méter átlagos vízmélységű, 460 illetve 134 hektár felületű tipikus fehérvízű szikesek, amelyek nyáron gyakran teljesen kiszáradnak. Aljzatukat szürkésfehér karbonát-mésziszap borítja, szezonális kiszáradáskor medrükön „kivirágzik” a sziksó.



1. fotó A Kelemen-szék nyáron, száradáskor. A kiszáradt meder felületén jól látható a szürkésfehér karbonát-mésziszap bevonat (2005. augusztus, saját felvétel)



2. fotó A Böddi-szék 2005 augusztusában, nyár végére a Böddi-szék víztérfogata is jelentősen lecsökkent (2005. augusztus, saját felvétel). Itt is megjelent a szürkésfehér karbonát-mésziszap bevonat, amely a képen kevésbé látható.

A Kelemen-szék és a Böddi-szék medrét az ősi Duna-völgyben a folyó és a szél együttes munkája alakította ki. Miután a Duna elhagyta Szeged felé tartó folyásirányát, a Duna-Tisza közén a folyóvízi feltöltődés megszűnt, és futóhomok, helyenként lösz rakódott le. A medencéket az ősi folyóágak pangó vize töltötte meg, vízutánpótlásuk jelenleg egyrészt csapadék eredetű, másrészt a jó vízáteresztő homokbuckák felől a mederbe áramló talajvízből származik. A szikesedési folyamatok 8-10 ezer évvel ezelőtt indultak meg, a tavak meszes-szódás jellege a homokból kioldott kalcitnak köszönhető (Boros, 1999; Megyeri, 1999; Tamásné, 1999).

A Kelemen-szék és a Böddi-szék vizében a nátrium-karbonát (Na_2CO_3), a nátrium-hidrokarbonát (NaHCO_3), a kalcium-hidrokarbonát [$\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$] disszociált állapotban és a kalcium-karbonát (CaCO_3) oldatlan állapotban tart egyensúlyt (Boros, 1999; Schmidt, 2003). A vizek kémhatása viszonylag állandó (pH 9-9,5), sótartalma azonban a vízborítottság függvényében erőteljesen ingadozik (a vezetőképesség $500\text{-}16500\ \mu\text{S cm}^{-1}$ között változhat) (Somogyi et al., 2010; V-Balogh et al., 2010), és az erőteljes párolgás következtében rendszerint téltől őszig „töményedik” (Váradi és Fehér, 2010). A párolgás és a csapadékviszonyok a szerves anyagok koncentrációját is jelentősen befolyásolják (V-Balogh et al., 2010). A területen évente fészkelő és átvonuló több ezer vízimadár miatt a kistavakban rendkívül magas a foszformák koncentrációja (Boros, 2000; Váradi és Fehér, 2010).

A szikes tavak a világ legproduktívabb vizes élőhelyei közé tartoznak. Különleges (extrém) élőhelyek, amelyeket túlnyomórészt prokarióta szervezetek népesítenek be (Doronina et al., 2003). Karbonátokban rendkívül gazdag vizük gyorsan felmelegszik; az intenzív napsugárzás és a nagy napfénytartam ideális körülményeket biztosítanak a fotoszintetizáló baktériumok számára (Grant 1992; Duckworth et al., 1996; Jones et al., 1998).

Az erősen lúgos viszonyok között szaporodásra képes mikroorganizmusokat két fő csoportra oszthatjuk. Az alkalitoleráns szervezetek képesek növekedni lúgos kémhatású közegben is, de maximális növekedést semleges körüli pH értékeknél mutatnak. Az alkalofilek számára a pH 9,0 vagy e feletti értékek a legkedvezőbbek. Az obligát alkalofilek pH 8,5 alatti növekedésre már nem képesek, míg a fakultatív alkalofilek neutrális viszonyok között is szaporodnak (Hamamoto és Horikoshi, 1992). Az alkalofil baktériumok az erősen lúgos viszonyokkal szemben a sejt belüli pH-t neutrálishoz közeli értékeken képesek tartani. A folyamatban kulcsfontosságú tényező a nátrium-hidrogén (Na^+/H^+) antiport rendszer. A Na^+/H^+ antiport rendszeren keresztül a hidrogén-ionok felvételével egyidejűleg nátrium-ionok áramlanak ki a sejtől. Ezáltal a sejtmembrán két oldala között nátriummozgató erő jön létre, amely különféle szubsztátumok nátrium-ionnal való kotranszportját teszi lehetővé az intracelluláris térbe (Krulwich et al., 2001; Padan et al., 2005). A belső homeosztázis fenntartásában passzív mechanizmusok is szerepet játszanak. Az alkalofil baktériumok sejtfalában a neutrofilekhez képest nagy arányban fordulnak elő savas polimerek (pl. teikuronsav, galakturonsav, glutaminsav, foszforsav). A karboxil csoportok a sejtfal külső felszínén negatív töltés feleslegét kialakítva gátat szabnak a hidroxid-ionok bejutásának, és egyben segítik a kationok felvételét. A sejtfal belső oldala ugyanakkor feltehetőleg fémionok megkötése által pozitív többlettel rendelkezik, és megakadályozza a membrán felőli protonvesztést (Hamamoto és Horikoshi 1992; Horikoshi, 1999).

A kevésbé alkalikus vizek fő fototróf szervezetei a nitrogénkötő cianobaktériumok (pl. *Spirulina*, *Chroococcus*, *Cyanospira*), míg az erősen lúgos vagy sós vizekben a cianobaktériumok mellett az anoxikus fototróf baktériumok (pl. *Ectothiorhodospira*, *Halorhodospira*) is megjelennek. A hatalmas mértékű elsődleges termelésre ($> 10 \text{ g C m}^{-2} \text{ nap}^{-1}$) aerob és anaerob kemoorganotróf baktériumok változatos közössége épül, általában a 10^5 - 10^6 telepképző egység (TKE) ml^{-1} csíraszám értéket is elérve (Grant, 1992; Duckworth et al., 1996; Jones et al., 1998).

A szikes vizek aerob kemoorganotróf közösségeiben a Gram-pozitív és a Gram-negatív szervezetek egyaránt gyakoriak. Az Actinobacteria [nagy gunanin+citozin (G+C) tartalmú Gram-pozitívok]

törzset például a *Streptomyces*, *Dietzia* és *Nesterenkonia* nemzetségek képviselik (Ma et al., 2004), míg a Firmicutes törzsbe (kis G+C tartalmú Gram-pozitívok) tartozó szervezetek jelentős része általában a *Bacillus* fajok közé tartozik (Jones et al., 1998; Rees et al., 2004). Az alkalofil *Bacillus*ok 16S rRNS gén szekvencia-analízisek alapján a nemzetségen belül különálló genetikai csoportokba sorolhatók (6-os és 7-es rRNS csoport) (Nielsen, 1994; Jones et al., 1998). Az aerob Gram-negatív kemoorganotrófok többségében a gamma-proteobaktériumok (pl. *Halomonas*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* és *Alteromonas* nemzetségek) közül kerülnek ki (Duckworth et al., 1996, 2000; Jones et al., 1998).

A szikes tavak vizében és az üledékfelszínen is gyakori az oxigén limitáltság a lebontó folyamatok intenzitása miatt, így az anyagkörforgalmi folyamatokban az anaerob baktériumközösségek is jelentős szerepet tölthetnek be. Az anaerob kemoorganotróf közösségek domináns biopolimer bontó képviselői közül (az ún. elsődleges fermentálók) főként a *Clostridium* és a *Spirochaeta* nemzetségeket azonosították (Jones et al., 1998). Az általuk termelt hidrogént szulfátredukáló szervezetek (pl. *Desulfonatronovibrio hydrogenovorans*), valamint alkalofil metanogének (pl. *Methanohalophilus zhilinae*), és homoacetogén szervezetek (pl. *Natronella acetigena*) hasznosítják (Zhilina és Zavarzin, 1994; Kevbrin et al., 1998).

Kevésbé ismertek a szikeseket benépesítő kemolitotróf közösségek, melyek közül a Proteobacteria törzsbe tartozó obligát autotróf kén-oxidáló baktériumokat (*Thioalkalimicrobium*, *Thioalkalivibrio* és *Thioalkalispira* spp.) és nitrifikáló (*Nitrosomonas halophila*, *Nitrobacter alkalicus*) fajokat is kimutattak (Khmelenina et al., 1997; Sorokin et al., 2001, 2003).

A sóigény alapján megkülönböztetjük a nem halofil alkalofil és haloalkalofil baktériumokat. Utóbbiak számára a nagy sókoncentrációjú alkalikus viszonyok a legmegfelelőbbek, ahol a sótartalom akár a 33 vegyes % NaCl/Na₂CO₃ értéket is elérheti. A nagy oldott sókoncentrációjú vizekben a haloalkalofil ősbaktériumok (pl. *Natronobacterium*, *Natronococcus*, *Natronomonas*) csíraszámuk akár a 10⁷-10⁸ TKE ml⁻¹-es értékeket is elérheti. Ezek a szervezetek növekedésükhöz a szerves tápanyagok különösen nagy mennyiségét igénylik (Tindall 1988; Zhilina és Zavarzin, 1994; Kamekura, 1998). A halofil baktériumok jelenléte feltehetően a tavak sókoncentrációjának ingadozásával függ össze. Amikor az esőzések következtében a tavakban a sókoncentráció átmenetileg lecsökken, lehetővé válik a kevésbé halofil autotróf szervezetek elszaporodása. Azokban az időszakokban pedig, amikor a csapadékhiány és a nagyarányú párolgás miatt a sókoncentráció megnő, az erre érzékeny algák elpusztulnak, és elhalt anyagaik szénforrásként szolgálhatnak a haloalkalofil kemoorganotróf mikroorganizmusok számára (Kroll, 1990; Krulwich és Guffanti, 1989; Hamamoto és Horikoshi, 1992; Jones et al., 1998).

A Duna-Tisza közti szikes vizekben az fotoszintetizáló szervezetek túlnyomó részét az átlagosan 1 μm átlagos méretű egysejtű coccoid pikocianobaktériumok (pl. *Cyanobium*, *Synechococcus*) és pikoeukarióta algák (pl. *Choricystis*) teszik ki (Vörös et al., 2005; Felföldi et al., 2009, 2010; Somogyi et al., 2009). Az elsődleges termeléshez kisebb mértékben ugyan, de hozzájárulnak az anoxikus fotoszintetizáló pl. bíbor nem-kén (*Rhodoplanes*, *Rhodovibrio*, *Rhodobacter*) és bíbor kén (*Thiorhodococcus*, *Ectothiorhodospira*) baktériumok is, amelyek az anaerob viszonyok között a szulfátredukáló szervezetek által termelt kénhidrogént hasznosítják elektrondonorként (Borsodi et al., 2005, 2010; Somogyi et al., 2010). Erre utalhat az is, hogy a Böddi-székben 2008 nyarán egy algavirágzás alkalmával az anoxikus bíborbaktériumok tömegprodukciónak lehetett megfigyelni, ami az üledék felszínén bíbor színű bevonatot képezett (Somogyi et al., 2010).

A kiskunsági Kelemen-szék, Böddi-szék és Zab-szék korábbi mikrobiológiai vizsgálata során az üledék felső rétegéből kitenyésztett alkalitoleráns vagy alkalofil illetve mérsékelten halofil baktériumtörzsek többsége a *Bacillus* és közelrokon nemzetségek (*Halobacillus* és *Marinibacillus*) körébe tartozott (Szabó et al., 2004; Borsodi et al., 2005, 2010). A kiskunsági székek üledékéből két, a tudomány számára új faj, a *Bacillus aurantiacus* és a *Bacillus alkalisediminis* leírására került sor (Borsodi et al., 2008, 2010). A Gram-negatív kemoorganotróf szervezeteket főként a *Halomonas* nemzetség, kisebb számban a *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Nesterenkonia* és *Agromyces* körébe tartozó tenyészetek képviselték. A tenyésztéstől független molekuláris biológiai módszerekkel végzett vizsgálatok során a legtöbb klónszekvencia ($\geq 60\%$) a Proteobacteria törzsbe tartozott (pl. a vas-légző *Geopsychrobacter*, *Geoalkalibacter*, szulfátredukáló *Desulforomonas*, metanotróf *Methylocaldum tepidum* és kén-oxidáló *Thiohalophilus* szervezetekkel rokon klónok), míg a denaturáló grádiens gélelektroforézis (DGGE) vizsgálatok az obligát anaerob *Spirochaeta* nemzetség dominanciáját mutatták (Borsodi et al., 2005, 2010). Emellett a Kelemen-székben és a Böddi-székben is jelen voltak a Bacteroidetes és Actinobacteria, míg szórványosan további 5 filogenetikai törzs (*Nitrospira*, *Planctomycetes*, *Gemmatimonadetes*, *Actinobacteria*, *Chloroflexi*) képviselői. A tenyésztéssel és tenyésztéstől független vizsgálatokkal kimutatott szervezetek többek között a korábban közép-ázsiai (pl. kínai Baer-tó), a kelet-afrikai szikes tavakból (pl. Lake Bogoria, Lake Magadi), valamint a kaliforniai Mono-tóból kitenyésztett haloalkalofil baktériumfajokkal mutatták a legnagyobb genetikai rokonságot (Szabó et al., 2004; Borsodi et al., 2005, 2010).

2.2 A Balaton és mikrobaközösségei

A Balaton Közép-Európa legnagyobb sekély tava, kiterjedése 596 km², átlagos vízmélysége 3,2 méter (Istvánovics et al., 2007). Hazánk egyik legfőbb természeti kincse nemzetközileg is jól ismert, nemcsak egyedülálló ökológiai és rekreációs értékeinek köszönhetően, hanem a tavon végzett, kiterjedt tudományos kutatások és a korábbi kedvezőtlen vízminőségi állapot javítására irányuló törekvések sikere által (Herodek, 1984; Padisák és Reynolds, 1998; Malmaleus és Håckanson, 2004; Jeppessen et al., 2005; Istvánovics et al., 2007).

A Balaton keletről nyugat felé haladva négy víztestre osztható: a Siófoki- (3. fotó), a Szemesi-, a Szigligeti- és a Keszthelyi-medencére (4. fotó). Legjelentősebb tápláló vízfolyása a Keszthelyi-medencébe torkolló Zala folyó, amely a tó vízutánpótlásának közel felét szállítja, az állandó vízfolyások zöme a Szigligeti-medencébe érkezik. Egyetlen kifolyása az 1863-ban épült és a Dunába torkolló Sió-csatorna, amit a tótól egy zsilip zár el, így a Balaton vízszintje szabályozható (V-Balogh et al., 2003; Tátrai et al., 2008).

A Balaton vizében a kalcium-, magnézium- és hidrogén-karbonát-ionok túlsúlya jellemző, vezetőképessége 600-700 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Kémhatása stabil, enyhén lúgos (pH 8,3-8,6) (Vörös et al., 2009). A sekély tómederben a szél rendszeresen felkavarja a meszes üledéket, ezáltal a víz átlátszósága gyakran csekély (Luettich et al., 1990). A víztest oxigén ellátottsága jó, oxigénhiányos viszonyokat átmenetileg, nyugodt nyári időszakokban figyeltek meg az üledékfelszínen, a hipertróf állapotú Keszthelyi-medencében, vízvirágzás alkalmával (Istvánovics, 1993). Az üledék Tihany térségében és helyenként a déli parton homokos, egyébként agyagos, iszapos jellegű (Istvánovics, 1993). Az üledék ásványi anyagokban, elsősorban kalciumban rendkívül gazdag, a szerves anyagok koncentrációja mindössze 2-4 % (összes szerves C 12-14 mg g⁻¹) (G-Tóth et al., 1994; Reskóné et al., 2006). Az üledékben az összes foszfor mintegy 40 %-a kalciumhoz kötődik (Herodek és Istvánovics, 1986). A belső tápanyag-terhelés legfőbb forrása a szél keltette üledék felkeveredés, és a foszfor deszorpció (Luettich et al., 1990; Istvánovics et al., 2007). Az ortofoszfát (PO_4^{3-}) koncentrációja a vízben alacsony, a foszfor limitál a fito- és bakterioplankton versengése következtében (Herodek és Istvánovics 1986; Padisák és Reynolds, 1998).



3. fotó A Tihanyi-félsziget, az egyik nyílt vízi mintavételi helyünk a Siófoki-medencében (Fotó: Szanyi Gergő;
<http://www.geographic.hu/index.php?act=kepgaleria>; 2007)



4. fotó A Zala-torkolat, a másik mintavételi helyünk a Balatonon Keszthely térségében. A képen jól látható a keszthelyi-medencébe torkolló Zala folyó huminanyagoktól sötét vize (Fotó: Szanyi Gergő;
<http://www.geographic.hu/index.php?act=kepgaleria>; 2007)

Az 1950-es évek elejétől a vízgyűjtőn egyre intenzívebbé váló mezőgazdasági termelés, a fokozódó iparosodás és turizmus következtében a tavat érő külső tápanyag- (elsősorban foszfor-) terhelés megnövekedett (Herodek, 1984; Padisák és Reynolds, 1998; Istvánovics et al., 2007). Ennek következtében a Balaton eutrofizálódása felgyorsult, aminek legszembetűnőbb megnyilvánulása a mikroszkopikus algák tömeges elszaporodása, és a 70-es évek végétől gyakori vízvirágzás volt. A legjelentősebb problémát a fonalas nitrogénkötő (heterocisztás)

cianobaktériumok közül, elsősorban az invazív *Cylindrospermopsis raciborskii* tömeges elszaporodása jelentette (Présing et al., 1996; Kovács et al., 2003). A tómeder hosszúkás alakja, egyenlőtlen eloszlású víz- és tápanyag-ellátása miatt a Balaton hossztengelye mentén éles trofikus gradiens alakult ki (Herodek, 1984). A Keszthelyi-medencében a 1970-es évekre már hipertóf állapotok ($>75 \mu\text{g l}^{-1}$ klorofill-*a*; OECD minősítés) voltak jellemzők (Herodek, 1984). A tó életét és idegenforgalmi hasznosítását egyaránt veszélyeztető folyamatok ellensúlyozása érdekében, 1983-ban átfogó programot indítottak a vízminőségi állapot javítására, amit elsősorban a lokális és diffúz külső tápanyag-terhelés csökkentésével terveztek megvalósítani (Papp, 2004; Somlyódy és Honti, 2005). A Balaton vízgyűjtőjén tett intézkedések (pl. szennyvíztisztítók kiépítése és fejlesztése a Zala vízgyűjtőjén, a Kis-Balaton rekonstrukciója, szennyvíz csatornarendszer kiépítése a tó körül) mintegy 50 %-al csökkentették a tóba jutó tápanyagok mennyiségét. A külső tápanyag-terhelés csökkenéséhez 1989. után a mezőgazdasági termelés összeomlása is hozzájárult (Tátrai et al., 2008). A vízminőség azonban csak mintegy tíz év elteltével javult, az üledékből a víztestbe kerülő foszfát mennyisége ugyanis még évekig fenntartotta a kedvezőtlen vízminőségi állapotot (Padisák és Reynolds, 1998; Istvánovics et al., 2007). A belső foszforterhelést a medencék kotrásával igyekeztek csökkenteni (Papp, 2004).

Az utolsó algavirágzást 1994-ben figyelték meg (Présing et al., 1996). A 90-es évek közepétől kezdve az algák, különösen a nitrogénkötő cianobaktériumok mennyisége drasztikusan csökkent, és a Balatont korábban jellemző, főként eukarióta algákból (kovamoszatok, dinoflagelláták, pl. *Ceratium hirundinella*) álló alगतársulások újjászerveződtek (Kovács et al., 2003). Napjainkban a Keszthelyi-medence eutróf (nyári maximális klorofill-*a* koncentráció $30\text{--}60 \mu\text{g l}^{-1}$), a Siófoki-medence mezotróf állapotú ($10\text{--}20 \mu\text{g l}^{-1}$ klorofill-*a*) (Vörös et al., 2009). A tó hosszanti tengelye mentén a korábban éles kémiai (pl. a szerves vegyületek, foszforformák koncentrációja) és biológiai gradiensek (pl. bentikus mikrobiális összaktivitás, fitoplankton mennyisége, árvaszúnyog lárvák és halak biomasszája) ma már nem olyan kifejezetten, de továbbra is léteznek (G-Tóth et al., 1994; Padisák és Reynolds, 1998; Vörös et al., 1998; V-Balogh et al., 2003; Reskóné et al., 2006; Tátrai et al., 2008).

A Balatonon korábban végzett mikrobiológiai kutatások többsége a víztestre irányult, így az üledékben található mikrobaközösségek – melyek összetételüktől és aktivitásuktól függően nagymértékben befolyásolják a belső tápanyag-terhelést – a mai napig is nagyrészt ismeretlenek. A bakterioplankton, tenyésztésen és fenotípusos bélyegeken alapuló, taxonómiai vizsgálata a *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter* (Siófoki-medence) és

Aeromonas (Siófoki- és Keszthelyi-medence) nemzetségekbe tartozó kemoorganotróf szervezetek jelenlétét igazolta (Kotsis, 1982; Tóth, 1996; Langó et al., 2002).

Szabó (1982) gentamicin termelő sugárgombákat (*Micromonospora* sp.) mutatott ki a Balaton üledékből Langó (1987) a *Bacillus* nemzetségbe tartozó spóráképző szervezetek előfordulását vizsgálta tóparti hordalékban (Badacsony, Tihany és Keszthely térségében) és a víztestben (Tihanynál). Eredményei alapján a *Bacillus* nemzetség képviselői a nyílt vízben csak szórványosan, a tóparti hordalékban azonban nagy számban voltak jelen. A baktériumtörzseket fenotípusos tulajdonságaik alapján főként a *Bacillus megaterium* faj, kisebb arányban a *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus* és *B. thuringiensis* fajok tagjaiként azonosította (Langó, 1987).

A Közép-dunántúli Környezetvédelmi, Természetvédelmi és Vízügyi Felügyelőség (KD-KTVF) munkatársai 1998 óta folyamatosan monitorozzák a tó üledékének táp- és szervesanyag tartalmát (Reskóné et al., 2006). Kezdeményezésükre 2004 nyarán került sor a Balaton mederüledékének öt pontjáról (Siófok, Balatonakali, Szigliget és Keszthely tóközép, valamint a Zala-torkolat) származó üledékfelszíni minták részletes összehasonlító jellegű környezetbakteriológiai vizsgálatára. Az aerob és anaerob összcsírá- és spóraszám a Zala-torkolatban és a Keszthelyi-medence üledékében, a többi mintavételi területhez képest nagyobb volt. A nitrogén körforgalomban résztvevő ammonifikáló szervezetek Keszthelyi-medencében mért kiugró csírászáma mellett, valamennyi medencében közel azonos volt a tenyésztethető deszulfuráló és tioszulfát-oxidáló baktériumok száma. A szigorúan anaerob szulfátredukáló baktériumok csírászáma a legmélyebb Siófoki- (4-5 m), és a sekélyebb (3-4 m), több befolyóval táplált Szigligeti-medencében volt a legnagyobb, ami feltehetőleg a mélyebb víz és a nagyobb allochton szervesanyag-terhelés következtében kialakult oxigénhiányos viszonyokra utal. A fekális szennyeződést indikáló koliformok csak szórványosan, a tó nyugati medencéiben fordultak elő. Reskóné és munkatársai (2006) a medencék baktériumközösségeinek szerkezetét és összetételét két tenyésztéstől független mikrobiológiai módszer, a denaturáló gradiens gélelektroforézis és a kemotaxonómiai eljárások alkalmazásával is összehasonlították. A DGGE sávmintázatok alapján az egyes medencékben a bentikus bakteriális közösségek összetétele nagyfokú hasonlóságot mutatott. Az eljárással *Nitrospira* nemzetségbe tartozó szervezeteket mutattak ki, melyek kemolitotróf nitrifikáló anyagcseréjük révén feltehetően fontos szerepet játszanak a tó nitrogén körforgalmában. Kemotaxonómiai módszerekkel tipikusan vízi, illetve üledékben előforduló, elsősorban kemoorganotróf szervezeteket, pl. a *Bacillus*, az *Aeromonas*, a *Leptospira* és a *Spirochaeta* nemzetségek képviselőit azonosították (Reskóné et al., 2006).

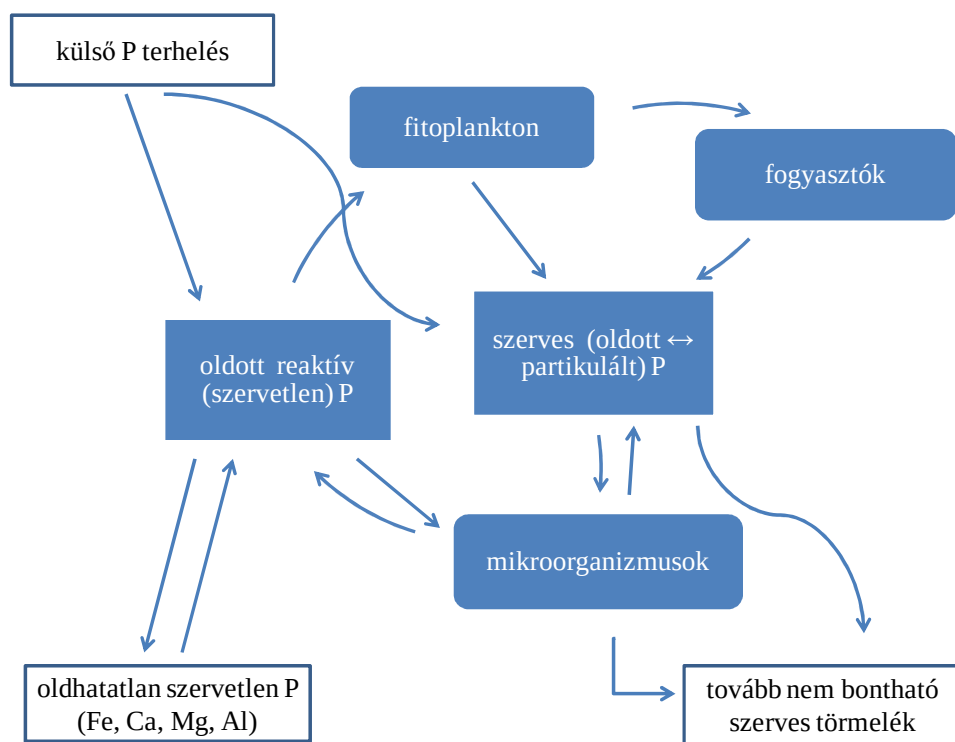
2.3 A bakteriális polifoszfát-felhalmozás szerepe és ökológiai jelentősége

A foszfor (P) minden élőlény számára nélkülözhetetlen tápelem. A természetben anorganikus foszfát-ionként, kondenzált foszfátként (piro-, meta-, polifoszfátok), valamint szerves és szervesetlen foszforvegyületek alkotójaként fordul elő (Felföldy, 1981; Selig et al., 2002). A bioszféra foszfor készletének döntő része foszfortartalmú ásványokban (apatit, fluorapatit, aragonit) található (Filippelli, 2008). A többi elsődleges tápelemtől eltérően gáz fázisban csak átmenetileg, és az atmoszférában csak szórványosan (pl. szerves törmelékek és szervesetlen ásványi szemcsék formájában) van jelen. Így a többi elsődleges tápelem ciklusához képest a foszforforgalom (1. ábra) légköri fázisa elhanyagolható, és a tápelem mozgása a litoszféra és a hidroszféra között döntően biológiai rendszerek közbeiktatásával valósul meg (Hurst et al., 1997; De Meester, 1999).

A vízi ökoszisztémákban a makrofiton és a mikroszkopikus algák számára hozzáférhető foszfor hiánya az elsődleges produkció csökkenéséhez, feldúsulása viszont eutrofizálódáshoz vezethet (Dévai et al., 2001; Elser et al., 2007). Az elsődleges termelők számára közvetlenül hasznosítható foszforforma az ortofoszfát (PO_4^{3-}), de egyes algák képesek felvenni a foszfort szerves vegyületekből is (Cotner és Wetzel, 1992). Vizeink természetes eredetű foszfortartalma főként a foszfát tartalmú kőzetek mállásából származhat, emellett nagy jelentősége van az antropogén eredetű (pl. műtrágya, szennyvíz, detergensek) külső foszforterhelésnek is (Smith et al., 1999; Carpenter, 2005). A külső terhelés csökkentése után az elsődleges termelők számára hozzáférhető foszfor elérhetőségét döntően az üledékből a víztestbe jutó oldott reaktív foszfor (SRP- Soluble Reactive Phosphorus) koncentrációja befolyásolja (Istvánovics et al., 2004; Jeppessen et al., 2005; Maasen et al., 2005).

Az üledék foszforkoncentrációja rendszerint többszöröse a víztestben mérteknek (Golterman, 2004). A foszforforgalom szedimentációs fázisa lassú, ugyanis a foszfát az üledékalkotókkal kémiai reakcióba lépve az elsődleges termelők számára hozzáférhetetlen és oldhatatlan állapotban, hosszú időre kikerülhet a körforgalomból. Az üledékben gyakoriak a foszfor kalciummal, vassal, magnéziummal és alumíniummal alkotott vízoldhatatlan vegyületei (Herodek és Istvánovics, 1986; Golterman, 2004). Sokáig tartotta magát az a feltételezés, hogy a belső tápanyag-terhelést elsősorban a kémiai folyamatok, és ezen belül is az oxigén koncentráción keresztül befolyásolt redoxi potenciál viszonyok szabályozzák (Einsele, 1936; Mortimer, 1941). Eszerint, az elsősorban Einsele és Mortimer nevéhez fűződő modell szerint az üledékből felszabaduló foszfor mennyiségét főként a vasfoszfátok (ferri-, ferro-ion átmenet) anaerob redukciója határozza meg (Einsele, 1936; Mortimer, 1941). Későbbi kutatások alapján azonban világossá vált, hogy ez

a mechanizmus sztöchiometrikusan nem magyarázhatja a belső terhelés nagyságát az eltérő üledék összetétellel jellemezhető vízterek többségében (Boström és Pettersson, 1982; Montigny és Prairie, 1993; Golterman, 2001; Hupfer és Lewandowski, 2008). A mai nézet szerint, a foszfor belső terhelésének nagyságát a fizikai (pl. szél keltette üledék felkeveredés, hőmérséklet), a kémiai (pl. vasfoszfátok redukciója, adszorpció/reszorpció, pH) és a biológiai (pl. mikrobiális aktivitás, bioturbáció) tényezők együttese és azok kölcsönhatása határozza meg (Istvánovics, 1988; Luettich et al., 1990; Gächter és Meyer, 1993; Tátrai et al., 2005; Goedkoop és Pettersson, 2000).



1. ábra A vízi ökoszisztémák foszforforgalmának vázlata (Jones, 2000 nyomán)

A vízi foszforforgalom központi eleme a szerves foszforvegyületek bakteriális lebontása, amelynek során a baktériumok szervetlen foszfátot szabadítanak fel. A felszabaduló ortofoszfát egy részét felhasználják saját életfolyamataikhoz, másik része a pórusvízbe, majd onnan a víztestbe juthat, vagy az üledék szerves és szervetlen alkotóin adszorbeálódva az üledékben raktározódik (Jansson et al., 1988, Barik et al., 2001). A szerves foszforvegyületek lebontása során tovább már nem hasznosítható szerves

foszfor melléktermékek szintén az üledékben rekedhetnek (Jones, 2000). A baktériumok a szerves anyagok aerob lebontása során oxigént fogyasztanak, anoxikus viszonyok között nitrátot, a vas-, a mangán- és a szulfát-ionokat hasznosítják elektronakceptorként (Nealson, 1997; Spring et al., 2000). Ezek a folyamatok az oldhatatlan, szervesetlen foszforvegyületekben kötött ortofoszfát felszabadulásához vezetnek (Boström és Petterson 1982; Gächter és Meyer 1993).

Az üledék baktériumközösségei a belső foszforterhelés nagyságát nemcsak a foszfát felszabadítása révén, hanem jelentős mértékű visszatartásán keresztül is befolyásolhatják. Egyes baktériumok (pl. *Acinetobacter* sp.) jelentős, akár a szárazanyag tartalom 20 %-ának megfelelő mennyiségben halmozhatnak fel foszfort polifoszfát formájában (Jørgensen és Pauli, 1995; Sidat et al., 1999; Seviour et al., 2003). A polifoszfát elsősorban a polifoszfát-kináz enzim segítségével képződő polimer, amelyben akár több száz foszfát-ion kapcsolódhat össze nagy energiájú foszfoanhidrid kötésekkel. A polifoszfát a citoplazmában, ún. metakromatikus granulomokban raktározódik. A polimer nagy energiájú vegyület lévén, fontos szerepet játszik a sejt energiaháztartásában, emellett jelentős foszforraktárként is működik (Kornberg, 1995; Kulaev és Kulakovskaya, 2000).

A baktériumok polifoszfát-akkumulációra való képességét régóta és nagy hatékonysággal alkalmazzák a szennyvizek foszfortartalmának csökkentésére. A biológiai eljárásokon alapuló szennyvíztisztítás során a szennyvizet aerob és anaerob medencéken áramoltatják keresztül. Az anaerob reaktorban a baktériumok a polifoszfátot energiaforrásként hasznosítják és rövid szénláncú anyagcseretermékekből (pl. zsírsavak, cukrok és alkoholok) poli- β -hidroxi-alkanoát tartalékot képeznek. Az aerob medencében, ahol a szennyvíz oldott szerves anyag tartalma már kisebb, a szervezetek a poli- β -hidroxi-alkanoát raktárakat tápanyag- és energiaforrásként hasznosítják, miközben polifoszfátot halmoznak fel a granulumaikban. A szennyvíziszapban a polifoszfátot felhalmozó baktériumok túlsúlyát tehát a szerves anyagok és a polifoszfát ciklikus raktározása és hasznosítása biztosítja. Az aerob fázis végén az eleveniszap kiülepítésével a szennyvíz foszfor tartalma jelentősen csökkenthető (Mino et al., 1998; Kawaharasaki et al., 1999; Seviour et al., 2003).

A természetes vízi élőhelyeket tekintve a szennyvíztisztítással kapcsolatos kutatások alapján feltételezték, hogy az üledék-víz határfelületet jellemző, váltakozó aerob és anaerob viszonyok kedveznek a polifoszfátot akkumuláló szervezetek számára, és a mikrobiális polifoszfát-felhalmozás és a polifoszfátraktárak felszabadítása a belső foszforterhelés mértékét jelentősen befolyásolhatja (Gächter et al., 1988; Uhlmann és Bauer, 1988; Davelaar, 1993). Napjainkra ezt az elméletet számos vizsgálati eredmény is

alátámasztja. A polifoszfát az üledék felső rétegében az összes foszfor jelentős hányadát (akár 11 %-át) teszi ki (Hupfer et al., 2004; Reitzel et al., 2006), és koncentrációja a bakteriális biomasszával és a mikrobiális aktivitással változik (Törnblom és Rydin, 1997; Goedkoop és Pettersson, 2000). Fény- és transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatokkal igazolták, hogy a bentikus baktériumok nagy arányban tartalmaznak metakromatikus illetve elektrondenz granulumokat (Uhlmann és Bauer, 1988; Khoshmanesh et al., 2002; Gloess et al., 2008). A granulumok alkotóelemei a foszfor mellett a kalcium, a magnézium és a kálium, hasonlóan a szennyvíziszapot benépesítő, polifoszfátot felhalmozó baktériumok sejtalkotóihoz (Goldberg et al., 2001).

Mindazonáltal kevés információval rendelkezünk a polifoszfátot felhalmozó baktériumok faji hovatartozásáról, és a polifoszfátraktárak funkcionális és ökológiai jelentőségéről természetes vizek üledékében (Gächter és Meyer 1993; Waara et al., 1993; Hupfer et al., 2007; Gloess et al., 2008). Folyami és mocsári üledékminták laboratóriumi vizsgálata során Khoshmanesh és munkatársai (2002) aerob viszonyok között nagymértékű bakteriális polifoszfát-felhalmozást tapasztaltak. Anaerob viszonyok között, a biogén eredetű foszfát-felszabadítás mértéke szoros összefüggést mutatott az alkalmazott szerves tápanyag minőségével. Az üledékminták foszfát felszabadítása elenyésző volt glükóz adagolása esetén, ezzel szemben acetát használata mellett – akárcsak a szennyvíziszapok esetében – jelentős mértékű volt (Khoshmanesh et al., 2002; Fleischer, 1986; Gächter et al., 1988). Waara és munkatársai (1993) egy tavi üledékből származó *Pseudomonas* baktériumtörzs esetében is nagymértékű foszfát-felhalmozást tapasztaltak aerob viszonyok között, ugyanakkor az ortofoszfát nem szabadult fel számottevő mértékben anaerob viszonyok között.

Az üledéklakó polifoszfátot felhalmozó mikroorganizmusok filogenetikai vizsgálatát tudomásunk szerint eddig összesen két kutatás célozta meg. Ezek alapján a szennyvíziszapokban gyakran domináns polifoszfátot felhalmozó *Rhodocyclus* sp. (Betaproteobacteria) mintegy nyolc tó üledékében átlagosan mindössze az összes baktériumszám 1 %-át tette ki (Gloess et al., 2007). Az eleveniszap és tavi üledék összehasonlító vizsgálata során mindkét élőhelyen jelentős arányban voltak jelen az Actinobacteria (51 %) és Alphaproteobacteria (20 %) polifoszfátot felhalmozó fajai (Gloess et al., 2008). A természetes vízi ökoszisztémákban a polifoszfát nagymértékű felhalmozását idézheti elő az átmeneti foszfáthiány is, amelynek hatására intenzív foszfát-felvételt, és polifoszfát-akkumulációt figyeltek meg, elsősorban cianobaktériumok esetében (McDignum et al., 2005; Eixler et al., 2006). A foszforraktárak a foszfátban szegény viszonyok között jelentős verseny előnyt jelenthetnek polifoszfátot felhalmozó mikroorganizmusok számára.

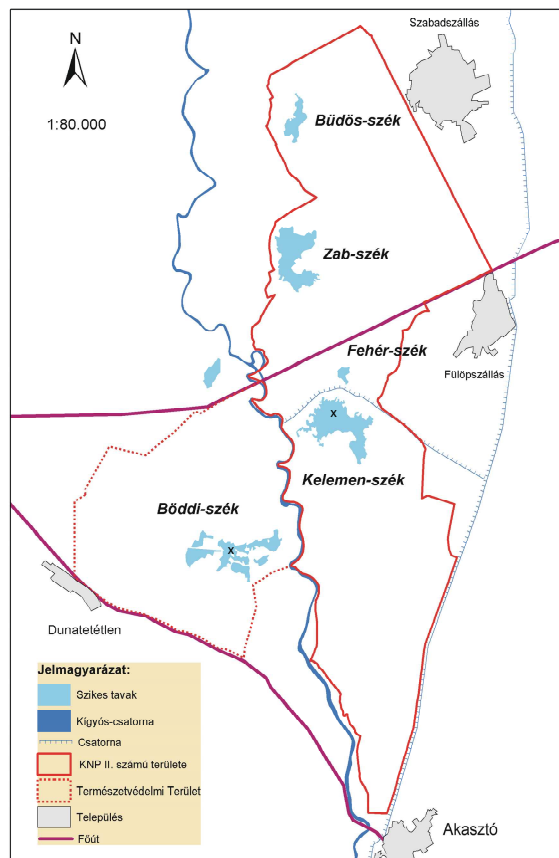
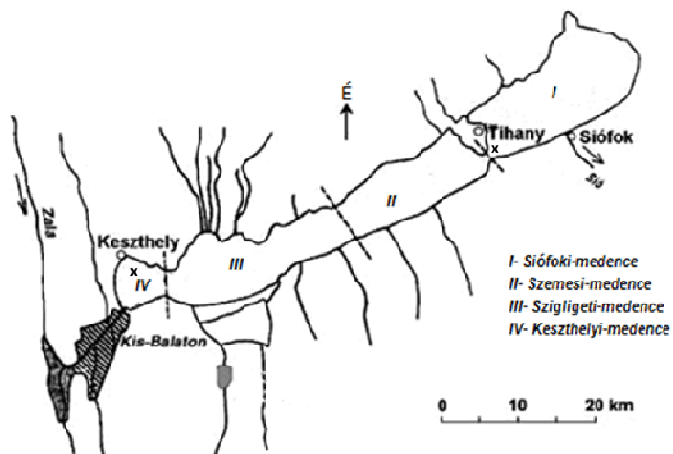
3 Vizsgálati anyagok és módszerek

3.1 Mintavétel

A bentikus mikrobiális közösségek metabolikus és filogenetikai sokféleségének tenyésztéses és tenyésztéstől független módszerekkel történő vizsgálatához, és az üledéklakó baktériumok foszforforgalmi szerepének jellemzéséhez víz- és üledékmintákat vettünk a Balatonban és a Kiskunsági Nemzeti Park területén lévő két szikes víztérből (2. ábra). A foszfor koncentrációk meghatározásához a vízmintákat a Balatonban a Siófoki- és Keszthelyi-medencében, Tihany és Keszthely térségében (N 46°55' E 17°53'; N 46°45' E 17°15'), 2-2,5 illetve 1,5-2 m mély vízből, a teljes vízoszlopot reprezentáló oszlop mintavevővel ($d = 5,6$ cm) vettük. A Kiskunsági Nemzeti Park területén a sekély ($< 0,5$ m) Kelemen-székből (N 46°47' E 19°11') és a Böddi-székből (N 46°46' E 19°08') foszformentesített polietilén palackba gyűjtöttük a vízmintákat. Az üledékmintákat mind a Balatonban, mind pedig a kiskunsági Kelemen- székből és a Böddi-székből, foszformentesített Gilson-core mintavevővel vettük. A vízből és az üledékből is 3-3 párhuzamos mintát gyűjtöttünk, valamennyi mintavételi helyen és időpontban. A mintavételekkor *in situ* Water Quality Checker (U-10, Horiba Co) műszerrel mértük a legfontosabb környezeti paramétereket (vízhőmérséklet, pH, vezetőképesség).

A mintákat hűtve, 8-10°C-on szállítottuk laboratóriumba, ahol még aznap feldolgoztuk azokat. A mintavételi időpontokat és az elvégzett vizsgálatokat az 1. táblázat foglalja össze.

A laboratóriumban első lépésként a párhuzamos üledékmagok felső, 0-3 cm-es rétegeiből, egységnyi térfogatok felhasználásával homogenizált almintákat készítettünk elő a mikrobiológiai vizsgálatokhoz. Az üledékmintákat steril spatula segítségével kevertük össze. A denaturáló grádiens gélelektroforézishez a homogenizált mintákból steril Eppendorf-csövekben részmintákat fagyasztottunk le, amelyeket további felhasználásig -20°C-on tároltunk.



2. ábra A víz- és üledékmintákat az x-el jelölt helyeken vettük a Balatonból és a kiskunsági Kelemen-székből és Böddi-székből

1. táblázat A víz-és üledékminták vételének helye és ideje valamint az üledékmintákkal végzett mikrobiológiai vizsgálatok módszerei: BIOLOG közösségi szénforrás értékesítési vizsgálat, a baktériumközösségének molekuláris vizsgálata denaturáló gradiens gélelektroforézissel (DGGE), a baktériumközösségek tenyésztésen alapuló vizsgálata (Az adott üledékminta esetében alkalmazott módszert X jelöli.)

Mintavételi hely	Mintavételi időpont	BIOLOG	DGGE	Tenyésztés
Balaton, Siófoki- (46°55' E 17°53') és Keszthelyi-medence (N 46°45' E 17°15')	2004. november 17.			X
	2005. május 27.	X	X	X
	2005. augusztus 30.	X	X	X
	2005. november 11.	X	X	
Kelemen- (N 46°47' E 19°11') és Böddi-szék (N 46°46' E 19°08')	2004. október 22.			X
	2005. május. 13.	X	X	X
	2005. július 18.	X	X	
	2005. augusztus 25.			X
	2005. november 10.	X	X	

3.2 A különböző foszforformák koncentrációjának mérése a víz- és az üledékmintákban

A víz és az üledék intersticiális vizének oldott reaktív foszfor (Soluble Reactive Phosphorus, SRP) összes oldott foszfor (Total Dissolved P, TDP), valamint az összes foszfor (Total P, TP) koncentrációját kolorimetriás méréssel, aszkorbinsavas eljárással határoztuk meg (Mackereth et al., 1978). Az eljárás alapja, hogy savas közegben a foszfát-ion és a molibdenát-ion heteropolisavat képez. A komplexet aszkorbinsavval foszformolibdénkékké redukáljuk, amelynek koncentrációját spektrofotometriásan mérjük. Az így kapott abszorbancia érték arányos a minta ortofoszfát (PO_4^{3-}) koncentrációjával. Mivel a molibdenát reagenssel döntően csak az ortofoszfát reagál, a többi ún. nem reaktív foszforformát oxidatív roncsolással („nedves égetéssel”) előbb ortofoszfáttá kell alakítani (Mackereth et al., 1978).

Az üledékmintákat 3000 rpm-el 10 percig centrifugáltuk, és a felülúszóként kinyert intersticiális víz foszfortartalmát határoztuk meg. Az SRP méréséhez a tavi vízmintákat és az intersticiális vizet 0,45 μm -es membránfilteren (GF/C filter, Whatman) szűrtük. A TDP koncentrációt 0,45 μm -es membránfilteren szűrt vízből és intersticiális vízből határozzuk meg. A méréseket három párhuzamban, savkezel, illetve foszformentes

mosószerrel mosott, ioncserélt vízzel előblített laboratóriumi eszközökkel végeztük.

A foszfátkoncentráció méréséhez az alábbi oldatokat használtuk fel:

- Kálium-antimonil-tartarát oldat
 $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \times 1/2 \text{ H}_2\text{O}$ 1,37 g
desztillált víz 500 ml
- Ammónium-molibdenát oldat
 $(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$ 20 g
desztillált víz 500 ml
- Foszfát reagens
12%-os kénsav (H_2SO_4) oldat 50 ml
kálium-antimonil-tartarát oldat 20 ml
ammónium-molibdenát oldat 10 ml
aszorbinsav ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) 1,35 g
desztillált víz 20 ml

Legalább 10 perc, legfeljebb 30 perc inkubációs idő elteltével a minták abszorbanciáját 882 nm-es hullámhosszon határoztuk meg. Ismert koncentrációjú kálium-foszfát oldatok felhasználásával kalibrációs egyenest vettünk fel az abszorbancia adatok értékeléséhez.

Az összes oldott P és összes P koncentrációk méréséhez a víz- és intersticiális vízmintákat perszulfátos roncsolásnak vetettük alá, amelyhez a következő oldatot állítottuk össze:

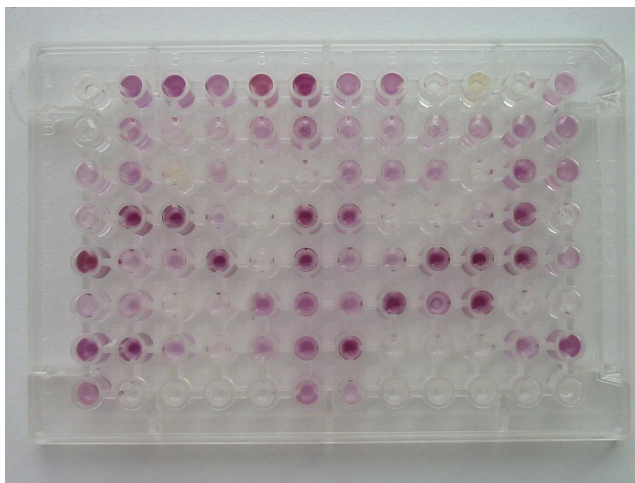
kálium-perszulfát ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)	5 g
desztillált víz	100 ml

10 ml vízmintához 2 ml roncsoló elegyet mértünk, majd az elegyet 30 percre autoklávba helyeztük. Az oldatot szobahőmérsékleten hagytuk kihűlni, majd az ortofoszfát koncentrációt az előző pontban ismertetett módon határoztuk meg.

3.3 Községi szénforrás értékesítési vizsgálat

A BIOLOG módszer ismertetése

A bentikus mikrobiális közösségek szénforrás értékesítési mintázatának vizsgálatához BIOLOG GN2 (BIOLOG Inc.) lemezeket használtunk (3. ábra).



3. ábra BIOLOG GN2 lemez, amellyel a mikrobiális közösségek szénforrás értékesítési mintázatát hasonlítottuk össze

A BIOLOG gyors identifikációs teszttel 95 különböző szénforrás egyidejű hasznosítását vizsgálhatjuk. A 3. ábrán látható mikrotiter lemezek mélyedései a dehidratált szerves anyagokon kívül szintelen tetrazólium-ibolya redoxindikátort tartalmaznak. A redoxindikátor az adott tápanyag oxidációja során lilásrózsaszínű formazánná redukálódik. A lemezeken A1-es pozícióban található kontroll csőhöz (mely szénforrást nem, csak indikátort tartalmaz) viszonyított színintenzitás utal az adott szénforrás hasznosításának mértékére (Garland és Mills, 1991; Victorio et al., 1996).

A BIOLOG lemezeket eredetileg baktériumtenyészetek azonosítására használták, később a mikrobiológiai gyakorlatban a mikrobiális közösségek anyagcsere mintázatának vizsgálatára is elterjedt módszerré vált (Haack et al., 1995; Konopka et al., 1998; Smalla et al., 1998; Choi és Dobbs, 1999). A BIOLOG GN2 lemez szénforrásainak (függelék, 23. ábra) döntő többségét szénhidrátok (31), szerves savak (24) és aminosavak (20), míg kisebb mennyiségét polimerek (5), aminok/amidok (6) és egyéb szénvegyületek (észterek, alkoholok, aromás vegyületek) (9) teszik ki (Garland és Mills, 1991). A BIOLOG lemezek eredeti felhasználási területéből, vagyis a baktériumok gyors identifikációjából adódóan a felkínált szénforrások sem összetételükben, sem arányaikban nem tükrözik a természetes ökoszisztémákban általánosan előforduló és a mikrobák számára szén és/vagy energiaforrásként szolgáló szerves anyagokat. Így ezeknek a szénforrások alkalmazásával nem nyerhetünk betekintést az adott mikrobiális közösség tényleges *in situ* szerves anyag hasznosításába (Garland és Mills, 1991; Victorio et al., 1996). Victorio et al. (1996) ugyanakkor kísérletesen igazolták, hogy – mivel a mikrobaközösségek nagy számban tartalmaznak a

kérdéses szerves anyagok hasznosítására képes szervezeteket – a természetes ökológiai rendszerekre jellemző szénforrások alkalmazásával, a közösségek metabolikus képességeiben fennálló különbségek nehezen kimutathatóak. A mikrobaközösségek anyagcsere mintázatában, aktivitásában bekövetkező tér- és időbeli változások jobban jellemezhetők, ha olyan szénforrások hasznosításának képességét is vizsgáljuk, amire a közösséget alkotó baktériumfajoknak csak viszonylag kis hányada képes.

BIOLOG GN2 lemezek használata

A bentikus mikrobiális közösségek anyagcsere mintázatának vizsgálatához az üledékmintákból 20 ml steril fiziológiás sóoldatban szuszpenziókat készítettünk, amelynek sűrűségét turbidiméterrel úgy állítottuk be, hogy az a Gram-negatív nonenterális BIOLOG standard oldattal megegyezzen. Az így kapott szuszpenziókat steril műanyag kádakba öntöttük, és 150-150 µl-t pipettáztunk a BIOLOG GN2 lemezek minden csövecskéjébe. A lemezeket ezt követően 28°C-on tartottuk. A lemezeken az egyes szénforrások hasznosításával arányos abszorbancia értékeket 24, 48, 72, és 96 óra elteltével ELISA Reader berendezéssel (Labsystems Multiscan PLUS) OD 590 értéken olvastuk le.

3.4 A baktériumközösségek diverzitásának tenyésztéstől független vizsgálata

A denaturáló gradiens gélelektroforézis módszer ismertetése

Tenyésztéstől független molekuláris mikrobiológiai módszerek segítségével a baktériumközösségek diverzitása közvetlenül becsülhető (Spring et al., 2000; Tamaki et al., 2005). A denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE) egy vertikális poliakrilamid gélelektroforézisre (PAGE) alapuló molekuláris „ujjlenyomat” módszer, amely alkalmas azonos hosszúságú, de eltérő bázissorrendű DNS szakaszok szétválasztására. A vizsgálat első lépéseként a környezeti mintából kinyert kevert DNS-t univerzális primerekkel felszaporítjuk. A primerpár egyik tagja az 5' végén egy 30-50 bázispár hosszúságú guanin és citozin bázisokban gazdag régiót tartalmaz, ezáltal a DNS szakaszok egyik végére guanozin-citozin (GC) kapocs szintetizálódik. Az azonos hosszúságú, de kevert PCR termékeket viszonylag magas hőmérsékleten (60°C) formamid és urea denaturálószerrel lineáris gradiensét tartalmazó poliakrilamid gélben áramoltatjuk. A gélelektroforézis során a DNS molekulák – bázisösszetételüknek megfelelően a denaturálószerrel eltérő koncentrációja mellett – fokozatosan széttekerednek, és mozgásuk a gélben erőteljesen lelassul. A GC kapocs megakadályozza a két polimer szál teljes elkülönülését, így a denaturált DNS

molekulák egy-egy elektroforetikus csíkként válnak láthatóvá. A megjelenő elektroforetikus csíkok száma a közösségek genetikai sokféleségét (fajgazdagságát) reprezentálja, a DGGE sávmintázatok összehasonlításával pedig következtethetünk a baktériumközösségek összetételének hasonlóságára (Muyzer et al., 1993, 1999; Koizumi et al., 2003).

Közösségi bakteriális DNS izolálása és tisztítása az üledékmintákból

Az üledékmintákból közösségi DNS-t a Fast DNA® kit for Soil (Q-BIOgene-) segítségével izoláltunk a gyártó által megadott útmutató szerint kémiai és fizikai feltáró lépéseket alkalmazva. Az így nyert DNS-t tartalmazó oldatot a továbbiakban GeneClean® Spin kit (Q-BIOgene) segítségével tisztítottuk meg a PCR-t gátló anyagoktól, és a kisebb DNS-daraboktól és RNS-től.

A DNS izolálás hatékonyságának ellenőrzése agaróz gélelektroforézissel

A DNS izolálás hatékonyságát agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük az alábbiaknak megfelelően:

- 1%-os agaróz gél 100 ml 1×TBE puffer [$107,8 \text{ g l}^{-1}$ trisz, 55 g l^{-1} bórsav, $7,4 \text{ g l}^{-1}$ etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA), pH 8,3] és 1 g agaróz felhasználásával készítettünk, amely $5,0 \mu\text{l}$ etídium-bromidot adtunk,
- $5 \mu\text{l}$ mintát $3 \mu\text{l}$ töltőpufferrel (30 térfogat % glicerinnel, 0,25 mM brómfenolkék) kevertünk össze, majd a zsebekbe töltöttük,
- $1 \mu\text{l}$ DNS molekulásúly markert (λ -fág EcoRI és HindIII restrikciós enzimekkel hasított DNS-e; Fermentas) az egyik szélső zsebbe mértünk,
- 20 percig 100 V-on futattuk a gél 1×TBE pufferben,
- az elektroforetikus csíkokat etídium-bromidos festést követően UV fényben detektáltuk. Az etídium-bromid a DNS nagy árkába köt, így UV fényben láthatóvá teszi a molekulát.

A 16S rDNS szakasz felszaporítása polimeráz láncreakció segítségével

A 16S rDNS egy rövid variábilis szakaszát (az *Escherichia coli* 16S rDNS-ének 338-as és 519-es pozíciói között) Eubacteria-specifikus, 338 GC kapcsos forward (5' CGCCCGCCGCGCGCGGGCGGGCGGGGGCACGGGGGGCC TACGGGAGGCAGCAG 3'; Lane, 1991; Muyzer et al., 1993) és 519 reverz (5' G(T/A)ATTACCGCGGC(T/G)GCTG 3'; Stackebrandt és Liesack,

1993) primerek segítségével szaporítottuk fel. A polimeráz láncreakcióhoz (PCR) mintánként a következő keveréket állítottuk össze:

10×PCR puffer (Fermentas)	5 µl
MgCl ₂ -oldat (Fermentas)	4 µl
1 mM dNTP keverék (Fermentas)	10 µl
338 forward (GC) primer (0,5 µg ml ⁻¹)	0,5 µl
519 reverz primer (0,5 µg ml ⁻¹)	0,5 µl
steril dH ₂ O	26 µl
templát DNS	3 µl

A PCR-t Biometra T Personal Thermocycler (Biometra Biomedizinische Analytik GmbH) berendezésben végeztük. A kezdeti denaturációs lépés (98°C, 5 percig) után a 94°C-os hőmérséklet elérésekor a 1 µl Taq polimerázt (LC Taq, 1 U µl⁻¹, Fermentas) adtunk a reakcióelegyhez, és az alábbi hőprofil mellett 31 ciklust futtatunk le:

1. Primer anelláció	52°C	30 mp	} 31×
2. Extenzió	72°C	30 mp	
3. Denaturáció	94°C	30 mp	
4. Végső extenzió	72°C	10 perc.	

A PCR reakció hatékonyságát etídium-bromidot tartalmazó 1 %-os agaróz gélben gélelektroforézissel ellenőriztük. A mintákat további felhasználásig 4°C-on tároltuk.

A denaturáló grádiens gélelektroforézis kivitelezése

A DGGE-t Muyzer és munkatársai (1993) munkájának alapján, Ingeny PhorU Gel-Electrophoresis (GRI Molecular Biology) készülékben 8 %-os poliakrilamid (PAA) gélben végeztük 60°C-on. A denaturáló poliakrilamid gél készítéséhez az alábbi reagenseket és oldatokat használtuk fel:

40 %-os akrilamid (Bio-Rad) oldat
 50×TAE puffer (2 M trisz, 1 M ecetsav, 0,5 M EDTA, pH 8,0; Bio-Rad)
 urea (Bio-Rad)
 formamid (Bio-Rad)
 tetrametil-etilén-diamin (Bio-Rad)
 10 %-os ammónium-perszulfát (Bio-Rad) oldat
 steril dH₂O

A DGGE gélek készítéséhez első lépésként négy különböző törzsoldatot állítottunk össze, amelyek összetételét a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat A DGGE gél elkészítéséhez felhasznált négyféle törzsoldat összetétele

törzsoldatok összetevői	6 %-os PAA	6 %-os PAA	10 %-os PAA	10 %-os PAA
	0 %-os denaturáló koncentráció	100 %-os denaturáló koncentráció	0 %-os denaturáló koncentráció	100 %-os denaturáló koncentráció
40 %-os akrilamid oldat	15 ml	15 ml	25 ml	25 ml
50x TAE puffer	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
urea	———	42 g	———	42 g
formamid	———	40 ml	———	40 ml
dH ₂ O	83 ml	100 ml-re kiegészítve	73 ml	100 ml-re kiegészítve

Az urea és formamid denaturáló szerek 40-70 %-os grádiensét tartalmazó gél, INGENY PhorU (GRI Molecular Biology) gélöntő rendszerrel grádiens pumpa segítségével készítettük a gyártó utasításai szerint. A DGGE gél 3. táblázatban a négyféle törzsoldatból a 3. táblázatban leírtaknak megfelelően állítottuk össze.

3. táblázat Az DGGE során használt gél összetevői és a gél készítéséhez az összetevőkből használt térfogatok

törzsoldatok	8 %-os PAA gél		töltő gél
	40%	70%	0%
6 %-os PAA 0 %-os denaturáló koncentráció	7,2 ml	3,6 ml	3 ml
6 %-os PAA 100 %-os denaturáló koncentráció	4,8 ml	8,4 ml	———
10 %-os PAA 0 %-os denaturáló koncentráció	7,2 ml	3,6 ml	3 ml
10 %-os PAA 100 %-os denaturáló koncentráció	4,8 ml	8,4 ml	———
tetrametil-etilén-diamin	20 µl	20 µl	6 µl
10 % os ammónium-perszulfát oldat	100 µl	100 µl	27 µl

A polimerizációt megindító ammónium-perszulfát oldatot csak közvetlenül a gél öntése előtt adtuk az oldatokhoz. A gél tetejére denaturáló

szert nem tartalmazó töltőgélrtétegeztünk. A zsebekbe 9 µl töltőpufferrel (70 % glicerín, 0,05 % brómfenolkék, 0,05 % xilén-cianol; Bio-Rad) összekevert 45 µl-nyi PCR termékeket adtunk Hamilton-fecskendővel. A gélelektroforézist 60°C-on, 1 %-os TAE pufferben az alábbi feszültség értékek mellett végeztük: 15 perc 60 V-on, majd 14 óra futtatás 100 V-on.

Az elektroforézist követően a gélrt 45 percig etídium-bromid oldatban (0,5 µg ml⁻¹), festettük, majd felesleges festék eltávolítása érdekében a gélrt 15 percig desztillált vízben áztattuk. A kialakult sávmintázatot UV-fény alatt, digitális képrögzítéssel dokumentáltuk.

3.5 Csíraszámbeclés és baktériumtörzsek izolálása

Vizsgálatainkhoz összesen hatféle táptalajt használtunk. Valamennyi mintavétel esetében alkalmaztuk,

- a szerves anyagokban gazdag nutrient (DSM-1) táptalajt, amelyet a mikrobiológiai gyakorlatban rutinszerűen és széles körben használnak (www.dsmz.de);

- az NM-1 táptalajt, amelyet a polifoszfátot felhalmozó *Gemmatimonas aurantiaca*, tenyésztésénél fejlesztettek ki (Zhang et al., 2003);

- a csökkentett foszfor (és szerves anyag) tartalmú C táptalajt, amelyet eleveniszapban előforduló polifoszfátot felhalmozó baktériumok tenyésztéséhez alkalmaztak (Heyman et al., 1989).

A fentiekén kívül a kiskunsági üledékmintáknál a Czapek-féle (Difco Manual, 1977) és a glükózós alkalikus (DSM-940) táptalajt (Horikoshi, 1991), a Balaton esetében az oligotróf táptalajt (Poindexter, 1991) használtuk. A DSM-940 táptalajban a nagy nátrium- és karbonát-ion koncentráció valamint a lúgos kémhatás a szikes vizek kémiai sajátosságait tükrözi, a nagy szerves anyag tartalmú Czapek-féle táptalajt a kiskunsági székek hipertróf jellege miatt választottuk. Az oligotróf táptalaj a természetes élőhelyekre jellemző oligotróf állapotokat modellezi alacsony szerves anyag tartalmával. Az eredeti környezeti paraméterek figyelembe vételével a tápagarok pH-ját a Kiskunságról vett minták esetén 9-re, míg a balatoni mintáknál 8-ra állítottuk be. A táptalajokat az alábbiaknak megfelelően készítettük:

Nutrient (DSM-1) táptalaj (www.dsmz.de)

húskivonat	5,0 g
pepszinnel emésztett pepton	5,0 g
agar	20,0 g
NaCl	1,0 g

desztillált víz 1000,0 ml
sterilizálás: 121°C, 1 atm. túlnyomás, 15 perc

NM-1 táptalaj (Zhang et al., 2003)

glükóz	0,5 g
polipepton	0,5 g
Na-glutaminát	0,5 g
KH ₂ PO ₄	0,44 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,1 g
vitaminoldat	1,0 ml
agar	15,0 g
desztillált víz	1000,0 ml

sterilizálás: 121°C, 0,7 atm. túlnyomás, 40 perc

C táptalaj (Heyman et al., 1989)

Na-acetát	1,0 g
ammónium-szulfát	0,5 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,5 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,5 g
Na ₂ CO ₃	0,35 g
húskivonat	0,5 g
agar	15,0 g
desztillált víz	1000,0 ml

sterilizálás: 121°C, 1 atm. túlnyomás, 15 perc

Czapek-féle táptalaj (Difco Manual, 1977)

szacharóz	30,0 g
pepton	5,0 g
élesztőkivonat	2,0 g
NaNO ₃	3,0 g
K ₂ HPO ₄	1,0 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,5 g
KCl	0,5 g
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	0,01 g
agar	15,0 g
desztillált víz	1000,0 ml

sterilizálás: 121°C, 1 atm. túlnyomás, 15 perc

Glükózos alkalikus (DSM-940) táptalaj (Horikoshi, 1991)

glükóz	10,0 g
pepszinnel emésztett pepton	5,0 g
élesztőkivonat	5,0 g
K ₂ H ₂ PO ₄	1,0 g
MgSO ₄ ×7 H ₂ O	0,2 g
Na ₂ CO ₃	5,0 g
agar	20,0 g
desztillált víz	1000,0 ml
sterilizálás: 121°C, 0,7 atm. túlnyomás, 40 perc	

Oligotróf táptalaj (Poindexter, 1991)

pepszinnel emésztett pepton	2,0 g
élesztőkivonat	1,0 g
MgSO ₄ ×7 H ₂ O	0,2 g
agar	15,0 g
desztillált víz	1000,0 ml
sterilizálás: 121°C, 1 atm. túlnyomás, 15 perc	

A homogenizált üledékmintákból hígítási sorozatot készítettünk, és annak egyes tagjaiból 0,1-0,1 ml-t szélesztettünk hígítási fokonként 3-5 táplemezre.

Egy hetes 25°C-os inkubáció után a lemezeken kifejlődő telepek száma alapján csíraszámbeclést végeztünk, majd a különálló telepeket véletlenszerűen a lemezekkel azonos összetételű ferde agarra izoláltuk. A baktériumtörzsek elnevezésében a mintavételi hely jelzésére a következő rövidítéseket használtuk:

- K1 – Kelemen-szék
- K7 – Böddi-szék
- B1 – Siófoki-medence
- B2 – Keszthelyi-medence.
-

A mintavételi időpontnak megfelelően, az őszi izolátumokat 1-99-ig, a tavasziakat 100-199, a nyáriakat 200-299 között számoztuk.

3.6 A baktériumtörzsek genotípusos jellemzése

A baktériumtörzseket a 16S rDNS régió hasítási mintázata (ARDRA-Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) alapján csoportosítottuk (Massol-Deya et al., 1995). A pontos faji meghatározás érdekében

valamennyi egyedi hasítási mintázattal rendelkező törzs esetén a 16S rDNS mintegy 500 bázispárnyi szakaszán bázissorrend elemzést végeztünk.

Genomiális DNS kinyerése és tisztítása baktériumtörzsből

Munkánk során több genomiális DNS izoláló módszert alkalmaztunk. A DNS izolálást 24 órás baktériumtörzsekből kiindulva végeztük. Az egyes módszerek eredményességüket tekintve nem különböztek egymástól, választásunk az aktuális laboratóriumi gyakorlat szerint történt. Először a Prep ManTM ULTRA (Applied Biosystems), a Bacterial Genomic DNA Mini-prep Kit-et (V-GENE) és a G-spinTM Genomic DNA Extraction Kitet (Boca Scientific) használtuk a gyártók útmutatásának megfelelően. Később az epidemiológiai gyakorlatban elterjedt nátrium-hidroxidos (NaOH) eljárásra tértünk át, amely idő- és költségkímélő, és hasonlóan jó hatékonysággal működött, mint a korábban említett módszerek.

A NaOH-os feltárást a következőképpen végeztük:

- 25 µl 0,5 M NaOH oldatban szuszpendáltunk egy kacsnyi baktériumtömeget, asztali rázógéppel összekevertük, és 15 percig inkubáltuk szobahőmérsékleten,
- 25 µl TRIS-puffert és 300 µl steril desztillált vizet mértünk a mintához.

Végül üveggyöngyös DNS izoláló módszert használtunk az alábbiaknak megfelelően:

- üveggyöngyre 100 µl steril desztillált vizet mértünk steril Eppendorf- csőben és egy kacsnyi baktériumtömeget adtunk hozzá,
- sejtmalomban 2 percig 30 Hz-en fizikai feltárást végeztünk,
- a mintákat 10000 rpm-mel 1 percig centrifugáltuk,
- PCR készülékben 99°C-on 5 percig folytattuk a sejtek feltárását,
- végül a mintákat 10000 rpm-mel 3 percig centrifugáltuk, a polimeráz láncreakcióhoz a felülúszót használtuk.

A DNS mintákat minden esetben -20°C-on tároltuk. A DNS izolálás hatékonyságát agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük a DGGE vizsgálatoknál ismertetett módon.

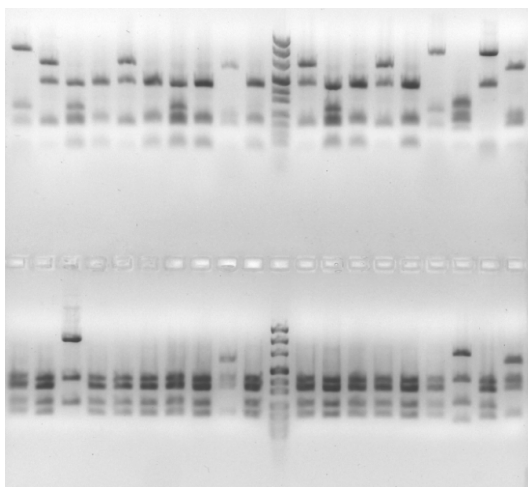
A 16S rDNS szakasz felszaporítása polimeráz láncreakcióval

A PCR során univerzális bakteriális 27 forward (5' GAGTTTGATCCTGGCTCA 3'; Lane, 1991) és 1492 reverz

(5' TACGGC/TTACCTTGTTACGACTT 3'; Lane, 1991) primereket használtunk. A PCR-t a DGGE vizsgálatoknál leírtaknak megfelelően végeztük, azzal az eltéréssel, hogy 1 perces extenziós időt alkalmaztunk. A polimeráz láncreakció eredményességét agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük.

A PCR termék ARDRA mintázatának elemzése

A PCR termékek restrikciós emésztését *AluI* és *Hin6I* enzimekkel végeztük Massol-Deya és munkatársai (1995) munkája alapján.



4. ábra Egy ARDRA gél képe, amelyet a baktériumtörzsek genotípusos csoportosításához használtunk. A felső sorban látható az egyes baktériumtörzsek *AluI* enzimmel kapott, az alsó sorban a *Hin6I* enzimmel kapott hasítási mintázata. Mindkét sorban középen található a DNS molekulásúly marker, amely a hasítási mintázatok összehasonlítását segítette.

A baktériumtörzsek ARDRA (4. ábra) analíziséhez egy reakcióra számolva az alábbi keveréket készítettük el:

Y+/Tango puffer (Fermentas)	2,5µl
<i>AluI</i> vagy <i>Hin6I</i> enzim (Fermentas)	0,2 µl
steril dH ₂ O	15,3 µl

Az ARDRA analízist a következőképpen végeztük:

- 7 µl tisztított 16S rDNS PCR terméket adtunk a csövekbe szétmért reakcióelegyekhez,

- legalább 12 órán át 37°C-os vízfürdőben inkubáltuk a mintákat,
- 100 ml 2 %-os agaróz gélét készítettünk, amely 7 µl etídium-bromidot tartalmazott,
- 20 µl emésztett PCR terméket és 10 µl töltő puffert összekevertünk és a gélzsebekbe töltöttünk,
- 2 µl DNS molekulasúly markert (λ -fág *EcoRI* és *HinDIII* restrikciós enzimekkel hasított DNS-e; Fermentas) az egyik középső zsebbe mértünk,
- 80 V-on 70 percig futtattuk a gélét 1×TBE pufferben,
- a DNS fragmentumok által létrehozott sávmintázatot UV fényben detektáltuk, és digitális képrögzítéssel dokumentáltuk.

A PCR termék tisztítása

Az egyedi hasítási mintázattal rendelkező törzsek esetében a PCR terméket a szekvenáló reakció előtt Viogene PCR-M Clean Up System kit (Viogene) segítségével tisztítottuk a gyártó útmutatásának megfelelően. A tisztított PCR terméket agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük, és a DNS mintákat további felhasználásig -20°C-on tároltuk.

A ciklikus szekvenáló reakció

A tisztított 16S rDNS PCR termékek parciális bázissorrend elemzését a jelölt terminátorú ciklikus szekvenálás módszerével végeztük, 519 reverz primer (Stackebrandt és Liesack, 1993) alkalmazásával. Az eljárás során Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kitet (Perkin Elmer) és ABI PRISM 310 automata szekvenátort (Perkin Elmer) használtunk. PCR csövekbe az alábbi keveréket és 6 µl (-10 µl) tisztított PCR terméket mértünk:

Big Dye Terminator Ready Cycle Sequencing	
Kit v 3.1 (Perkin Elmer)	2,0 µl
5x hígító puffer (Perkin Elmer)	3,0 µl
519 reverz primer (0,5 µg ml ⁻¹)	1,0 µl
steril dH ₂ O	6,5 µl

A mintákat 96°C-on PCR készülékbe helyeztük, és az alábbi hőprofil mentén szaporítottuk fel a DNS szakaszt:

denaturáció	96 C	10 mp	}28×
primer anelláció	50°C	5 mp	
extenzió	60 C	4 perc	

A termékeket az eljárás folytatásáig 4°C-on tároltuk.

A szekvenáló reakció termékének tisztítása

- 0,5 ml-es Eppendorf-csőbe az alábbi összetételű elegyhez 20,0 µl szekvenáló reakció terméket pipettáztunk:
95% etil-alkohol 62,5 µl
3 M Na-acetát-oldat 3,0 µl
steril dH₂O 14,5 µl
- a mintákat 15 percig szobahőmérsékleten tartottuk,
- 4°C-on 20 percig 14000 rpm-en centrifugáltuk, és a felülúszót óvatosan leszívtuk,
- a pellethez 250 µl 70 %-os etanolt adtunk, és asztali rázógéppel összekevertük,
- ismételt centrifugálás után (10 perc, 14000 rpm, 4°C) a felülúszót pipettával eltávolítottuk,
- a csapadékot vákuumcentrifuga segítségével beszárítottuk (15–20 perc),
- a mintákat és szükség esetén ebben a formában –20°C-on tároltuk.

A szekvenáló reakció termékének futtatása

- A beszárított terméket 20 µl formamidban vettük fel, majd szekvenátor csövekbe vittük át,
- PCR készülékben 3 percig 95°C-on denaturáltuk a DNS-t, és amíg a szekvenáló berendezésbe (ABI PRISM 310 automata szekvenátor, Perkin Elmer) helyeztük jégen tartottuk.

A 16S rDNS bázissorrend adatok elemzése

A 16S rDNS bázissorrend adatokat az EzTaxon szerver (<http://www.eztaxon.org/>; Chun et al., 2007), az RDP II (Ribosomal Database Project II; Cole et al., 2007) és az NCBI (National Centre for Biotechnology Information; www.ncbi.nlm.nih.gov) internetes adatbázisban megtalálható bázissorrend adatokat hasonlítottuk össze BLAST (Basic Local Alignment and Search Tool; Altschul et al., 1997) algoritmus segítségével.

3.7 A baktériumtörzsek fenotípusos jellemzése

A baktériumtörzseket részletes kulturális- és sejtmorfológiai, biokémiai-élettani vizsgálatoknak vetettük alá. A tenyészetek fenotípusos tulajdonságait hagyományos teszt sorozatok segítségével vizsgáltuk. A tesztek egy részét elsősorban taxonómiai bélyegként alkalmaztuk (pl. oxidázaktivitás, citráthasznosítás), vizsgáltuk továbbá a tenyészetek fakultatív anaerob anyagcseréjét (pl. fermentatív glükózhasznosítás, disszimilatív nitrátredukció), fehérje- és cukorhasznosítását (pl. eszkulin hidrolízis), és a nagy molekulájú szerves anyagok értékesítését (pl. keményítő-, zselatinbontás).

Kulturális-morfológiai vizsgálatok

- alakja
- színe
- konzisztenciája
- oldódó pigment jelenléte

Sejtmorfológiai vizsgálatok

- sejtek mérete
- sejtek alakja
- Gram-szerinti festődés (Claus, 1992)

Biokémiai-élettani vizsgálatok (Smibert és Krieg, 1994)

- oxidázaktivitás
- katalázaktivitás
- Hugh-Leifson-teszt: a glükóz oxidatív és fermentatív értékesítése
- kénhidrogén termelése ciszteinből
- indol termelése triptofánból
- metilvörös reakció
- Voges-Proskauer-reakció
- eszkulin hidrolízise
- disszimilatív nitrátredukció (nitrát redukciója nitritig, ammóniáig, denitrifikáció)
- lipolitikus (észteráz-) aktivitás
- keményítő hidrolízise
- kazein hidrolízise
- zselatin hidrolízise

- foszfatázaktivitás
- ureázaktivitás
- citrát hasznosítása.

További két teszttel a baktériumok foszforforgalomban betöltött szerepéről kaptunk információt:

- foszfatázaktivitás vizsgálata szerves foszforvegyületen (Barrow és Feltham, 2003)
- polifoszfat-felhalmozás vizsgálata Neisser-festéssel (Jenkins et al., 2004).

A törzsek foszfatázaktivitását nátrium-fenolftalein-foszfat tartalmú tápagon vizsgáltuk, ahol pozitív reakció során a felszabaduló fenolftalein lúgos közegben piros elszíneződést mutat. A polifoszfat felhalmozását Neisser-festéssel detektáltuk egy napos tenyészeteken. A festés előtt valamennyi baktériumtörzset nutrient táptalajra oltottunk át, hogy az alkalmazott táptalaj a teszt kimenetelét ne befolyásolja. A Neisser-festés során a baktériumsejtek sárgás-barnás színezetet kapnak, míg a polifoszfat szemcsék piros színnel jelennek meg. A Neisser-festést gyakran használják a sejten belüli polifoszfat szemcsék kimutatására, amelyeket metakromatikus vagy volutin granulumoknak is neveznek (Jørgensen és Pauli, 1995; Jenkins et al., 2004). Ez a festési eljárás hatékonyabb, mint az egyéb fénymikroszkópos festési módszerek (pl. Löffler-féle metilénkék, toluidinkék), mert a sejt és a volutin szemcsék között nagyobb kontrasztot eredményez. A polifoszfat szemcsék kimutatására alkalmazzák a DNS festékként jól ismert DAPI-t (4',6'-diamino-fenilindol) is, amellyel a polimer élénksárga színben jelenik meg. A polifoszfat granulumok fluoreszcens festékekkel való elkülönítését azonban megnehezíti, hogy a sejt egésze halványsárga színezetet kap (Serafim et al., 2002). Mivel azonban egyik alkalmazott festékanyag sem kötődik kizárólagosan a polifoszfathoz, ezért valamennyi optikai mikroszkópos módszer segítségével csak valószínűsíthetjük a baktériumok polifoszfatot felhalmozó képességét, mindaddig, amíg a tápanyag granulumok kémiai összetételét meg nem határozzuk (Kulaev és Kulakovskaya, 2000; Hupfer et al., 2008).

3.8 Alkalmazott statisztikai módszerek

A foszforkoncentrációk és csíraszámbecslés eredményeinek értékelése

A foszformérés és csíraszámbeclés eredményeinek esetében egy szempontú (one-way) variancia analízissal (ANOVA-ANalysis Of VAriance) vizsgáltuk, hogy a mintavételi helyek között milyen eltérések voltak jellemzőek. A null hipotézis a következő volt: a víz- és az intersticiális víz SRP, TDP, TP koncentrációi illetve a bentikus csíraszám értékek között nincs különbség az egyes adatsorokban. Az ANOVA tesztelés előtt az adatsorokat $\log_{10}$ alapon transzformáltuk. A foszforkoncentrációk és csíraszám értékek szezonális különbségeit Tukey post-hoc analízissal hasonlítottuk össze. A statisztikai elemzést SYSTAT 11.0 for Windows (SYSTAT Inc.) programcsomaggal végeztük el.

A baktériumközösségek szénforrás értékesítési mintázatának összehasonlítása

A bentikus mikrobiális közösségek szénforrás értékesítési mintázatát a BIOLOG eredmények főkomponens analízise (PCA- Principal Component Analysis) (Podani, 1997) alapján hasonlítottuk össze. A főkomponens analízist SYN-TAX 2000 programcsomaggal (Podani, 1997) végeztük el, a hasonlósági mátrixot euklideszi távolságok számításával hoztuk létre. A főkomponens analízis előtt az egyes szénforrások értékesítésével arányos abszorbancia értékekből levontuk az adott lemez kontrol csövében mért abszorbancia értéket, és azokat használtuk fel az elemzéshez.

A DGGE sávmintázatok összehasonító értékelése

A kapott sávmintázatok TL 120 v2006 (Nonlinear Dynamics) szoftverrel, UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic mean) algoritmussal elemeztük hasonlósági mátrix és dendrogram készítésével.

Az egyes törzscsoportok fenotípusos tulajdonságainak összehasonlítása

Az egyes törzscsoportok fenotípusos tulajdonságait főkomponens analízissal hasonlítottuk össze az egyes fenotípusos vizsgálatokban pozitív eredményt adó törzsek százalékos aránya alapján. A főkomponens analízist SYN-TAX 2000 programcsomaggal végeztük el, a hasonlósági mátrixot az euklideszi távolságok alapján készítettük (Podani, 1997).

4 Eredmények és értékelésük

4.1 A kiskunsági szikes kistavakból származó üledékminták vizsgálatának eredményei

4.1.1 Vízkémiai tulajdonságok és az üledékminták foszfortartalma

A kiskunsági Kelemen-szék és Böddi-szék vizében a 2004. október és 2005. november között, mintavételeink alkalmával pH 9-10 és 4120-7890 $\mu\text{S cm}^{-1}$ fajlagos elektromos vezetőképesség értékeket mértünk (4. táblázat). 2004 októberében, valamint 2005 májusában és júliusában a Böddi-szék vizében a Kelemen-székhez képest sokkal nagyobb vezetőképesség értékeket mértünk. A kistavak vízmélysége 17 és 50 cm között változott.

A Kelemen-szék és a Böddi-szék üledékének intersticiális vizében az oldott reaktív foszfor (SRP) és összes oldott foszfor (TDP) koncentrációja nem különbözött egymástól (ANOVA; SRP: $\text{df}=1$, $F=0,9$, $p=0,350$ és TDP: $\text{df}=1$, $F=1,7$, $p=0,200$). A víz SRP, TDP és összes foszfor (TP) tartalma azonban a Kelemen székben szignifikánsan nagyobb volt, mint a Böddi-székben (ANOVA; SRP: $F=7,42$, $p=0,012$; TDP: $F=8,15$, $p=0,009$ és TP: $F=10,02$, $p=0,004$) (4. táblázat). A foszforfomák koncentrációja mindkét kistóban szignifikáns eltérést mutatott az egyes mintavételi időpontok alkalmával (Tukey post hoc teszt, $p < 0,05$).

4. táblázat Az egyes mintavételek alkalmával, a kiskunsági székek vizéből és az üledék felső rétegéből mért fizikai-kémiai paraméterek (átlag $\pm 1\text{sd}$, $n=3$)

Mintavételi hely	Kelemen-szék					Böddi-szék				
Mintavételi időpont	2004. 10. 22.	2005. 05. 13.	2005. 07. 18.	2005. 08. 25.	2005. 11. 10.	2004. 10. 22.	2005. 05. 13.	2005. 07. 18.	2005. 08. 25.	2005. 11. 10.
Minták kódja	K1-O	K1-T	K1-N	K1-N	K1-O	K7-O	K7-T	K7-N	K7-N	K7-O
Víz										
Vízhőmérséklet ($^{\circ}\text{C}$)	10,2	18,2	19,1	22,5	10,0	10,4	19,3	23,4	23,2	10,0
Vízmélység (cm)	30	50	15	28	50	30	35	15	17	35
pH	9,5	9,1	9,8	9,6	9,32	9,0	9,2	9,7	9,9	9,32
Vezetőképesség ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	4120,0	4650,0	5650,0	4510,0	5210,0	5940,0	7340,0	7930,0	5750,0	5100,0
Oldott reaktív foszfor (SRP) ($\mu\text{g l}^{-1}$)	nincs adat	962,0 $\pm$ 22,1	1302,7 $\pm$ 178,4	1609,6 $\pm$ 46,2	1040,1 $\pm$ 109,3	nincs adat	637,9 $\pm$ 56,4	997,8 $\pm$ 13,7	1013,9 $\pm$ 60	1147,2 $\pm$ 143,4
Összes oldott foszfor (TDP) ($\mu\text{g l}^{-1}$)	nincs adat	1241,8 $\pm$ 252,2	1411,0 $\pm$ 26,5	1722,1 $\pm$ 34,6	1362,8 $\pm$ 110,7	nincs adat	638,2 $\pm$ 5,7	1096,7 $\pm$ 12,6	1285,0 $\pm$ 11	1395,9 $\pm$ 24,5
Összes foszfor (TP) ($\mu\text{g l}^{-1}$)	nincs adat	1697,5 $\pm$ 8,5	1628,6 $\pm$ 44,9	1894,3 $\pm$ 44,2	1860,7 $\pm$ 149,4	nincs adat	818,1 $\pm$ 10	1374,7 $\pm$ 11,8	1697,2 $\pm$ 10,9	1624,9 $\pm$ 8,3
Üledék, intersticiális víz										
SRP ($\mu\text{g l}^{-1}$)	nincs adat	2149,9 $\pm$ 39,7	2246,6 $\pm$ 65,7	2543,7 $\pm$ 2,3	1960,5 $\pm$ 17,2	nincs adat	2699,7 $\pm$ 81,7	2114,9 $\pm$ 99,1	2433,9 $\pm$ 71,2	1978,0 $\pm$ 33,9
TDP ($\mu\text{g l}^{-1}$)	nincs adat	2606,5 $\pm$ 56,9	2822,3 $\pm$ 126,6	3177,3 $\pm$ 33,1	2639,1 $\pm$ 39,9	nincs adat	2821,0 $\pm$ 55,5	2751,2 $\pm$ 51,8	2782,3 $\pm$ 57,9	2395,7 $\pm$ 7,7

4.1.2 A baktériumközösségek csíraszama az üledék felső rétegében

A Kelemen-szék és a Böddi-szék mederüledékének felső (0-3 cm-es) rétegében az aerob és fakultatív anaerob kemoorganotróf baktériumok számát lemezes telepszámlálás módszerével becsültük (5. táblázat).

5. táblázat TKE (telepképző egység) g^{-1} értékek a Kelemen-szék és a Böddi-szék üledékének felső (0-3 cm) rétegében (átlag $\pm$ 1sd, n=3)

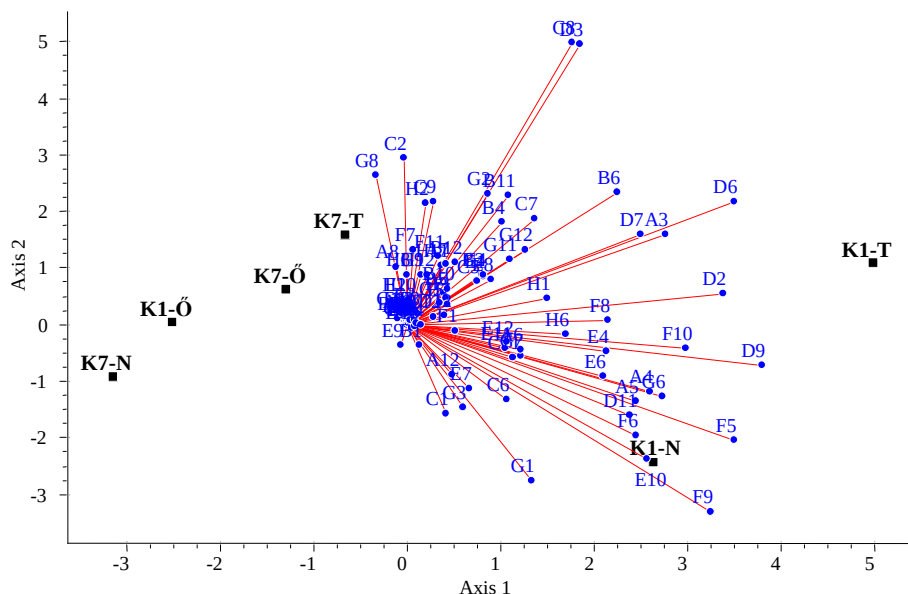
Mintavételi hely	Kelemen-szék				Böddi-szék	
Mintavételi időpont	2004. 10. 22.	2005. 05. 13.	2005. 08. 25.	2004. 10. 22.	2005. 05. 13.	2005. 08. 25.
Minták kódja	K1-Ö	K1-T	K1-N	K7-Ö	K7-T	K7-N
Glükóz alkalikus táptalaj (A)	$(1,6 \pm 0,0) \times 10^5$	$(7,4 \pm 0,2) \times 10^5$	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^5$	$(4,6 \pm 0,3) \times 10^5$	$(6,4 \pm 0,5) \times 10^5$	$(2,4 \pm 0,4) \times 10^5$
DSM-1 táptalaj (D)	$(1,7 \pm 0,0) \times 10^6$	$(9,5 \pm 0,1) \times 10^6$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^6$	$(8,6 \pm 1,9) \times 10^6$	$(6,1 \pm 0,3) \times 10^6$	$(2,9 \pm 0,7) \times 10^6$
NM-1 táptalaj (N)	$(8,9 \pm 0,1) \times 10^5$	$(5,4 \pm 0,3) \times 10^6$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^6$	$(5,9 \pm 0,9) \times 10^6$	$(1,6 \pm 0,1) \times 10^6$	$(1,5 \pm 0,1) \times 10^6$
C táptalaj (C)	$(4,0 \pm 0,2) \times 10^5$	$(7,8 \pm 0,5) \times 10^6$	$(4,1 \pm 0,9) \times 10^6$	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^5$	$(2,1 \pm 0,1) \times 10^6$	$(3,2 \pm 0,5) \times 10^6$
Czapek-féle táptalaj (Cz)	$(9,0 \pm 0,3) \times 10^5$	$(8,9 \pm 0,3) \times 10^6$	$(1,7 \pm 0,2) \times 10^6$	$(1,5 \pm 0,1) \times 10^6$	$(5,2 \pm 0,1) \times 10^6$	$(2,7 \pm 0,9) \times 10^6$

A kiskunsági szikes kistavak üledékében 10^5 és 10^6 nagyságrendű csíraszám értékeket határoztunk meg. A két kistóban az ötféle táptalajon becsült telepképző egység (TKE g^{-1}) értékek átlaga szignifikánsan nem különbözött egymástól (ANOVA; $df=1$, $F=0,09$, $p=0,761$). A Böddi-szék üledékében a bakteriális csíraszám az egyes mintavételek alkalmával közel azonos volt (Tukey-féle többszörös összehasonlítás, $p > 0,05$). A Kelemen-szék üledékében májusban szignifikánsan nagyobb volt a novemberi állapothoz képest (Tukey-féle többszörös összehasonlítás, $p < 0,001$), de a májusi és az augusztusi mintában nem különbözött számottevő mértékben (Tukey-féle többszörös összehasonlítás, $p=0,139$). A legalacsonyabb csíraszám értékeket a glükóz alkalikus táptalajon határoztuk meg.

4.1.3 Az üledék mikrobaközösségeinek szénforrás értékesítési vizsgálata

A Kelemen-szék és Böddi-szék üledékéből 2005 májusában, júliusában és novemberében vett minták mikrobiális közösségeinek szénforrás hasznosítását BIOLOG GN2 lemezek felhasználásával hasonlítottuk össze. A BIOLOG módszer során standardizált sűrűségű üledék szuszpenziókat használtunk fel, és az egyes szénforrások hasznosításával arányos abszorbancia értékeket 24, 48, 72, 96 óra elteltével olvastuk le. Az eredmények kiértékeléséhez a legnagyobb abszorbancia értékkel jellemezhető 96 órás adatokat használtuk fel.

A mikrobaközösségek szénforrás értékesítését az egyes mintákból kapott adatsorok főkomponens elemzésével (5. ábra), valamint a mikrobiális összaktivitás és az értékesített szubsztrátok száma alapján hasonlítottuk össze (6. ábra).

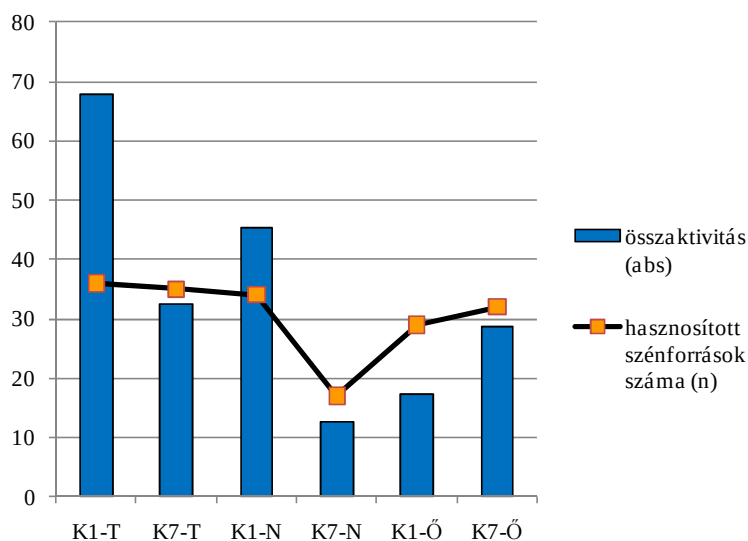


5. ábra Kelemen-szék és Böddi-szék üledékmintáinak csoportosulása a mikrobaközösségek szénforrás értékesítési mintázata alapján (K1: Kelemen-szék, K7: Böddi-szék, Ö: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

A főkomponens analízis során az eltérő mintavételi helyekről származó üledékminták szolgáltak objektumként, a különféle szénforrások pedig változókként. A vektorok iránya és hossza az egyes szénforrások hasznosításának viszonylagos mértékét mutatja. A vektorok kódjának megfelelő szénforrások a függelékben szerepelnek.

A Kelemen-székéből 2005 tavaszán (K1-T) és nyarán (K1-N) vett minták mikrobaközösségei a legtöbb szénforrást nagyobb mértékben hasznosították, és szénforrás értékesítési mintázatuk élesen elkülönült a többi mintától az első főkomponens mentén (Axis 1 > 1). Különösen a polimereket és az aminosavakat hasznosították erőteljesebben, mint a többi mikrobaközösség. A Kelemen-székéből 2005. ősszel vett minta (K1-Ö) a Böddi-szék (K7) üledékmintáival csoportosult, és az első főkomponens negatív tartományában jelentek meg. Ezekben a mintákban a mikrobaközösségek a felkínált szénforrásokat kisebb mértékben hasznosították.

A mikrobiális összaktivitást az egyes BIOLOG lemezekén mért abszorbancia értékek összegeként határoztuk meg (Garland, 1997). A hasznosított szénforrások számát illetően azokat vettük figyelembe, ahol a kapott abszorbancia érték meghaladta az adott BIOLOG lemezen az átlagos színfejlődés mértékét [$AWCD = \sum(i = 1, 95) (R_i - C)/95$; ahol C a kontroll csőben (A1) mért adszorpció érték; R_i az i-edik csőben (A2–H12) mért adszorpció érték] (Gomez és mtsai, 2004).



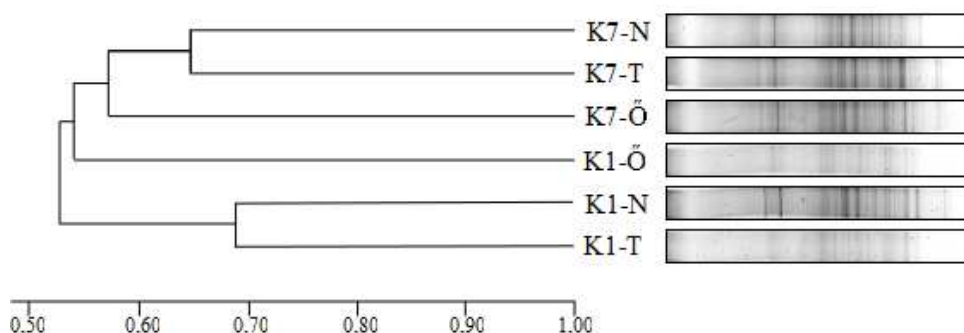
6. ábra A BIOLOG szénforrás értékesítési vizsgálat eredményei alapján számított mikrobiális összaktivitási értékek és az alkalmazott szénforrások számának összehasonlítása a kiskunsági mintavételi helyek és időpontok függvényében (K1: Kelemen-szék, K7: Böddi-szék, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

A kapott abszorbancia értékek összegét tekintve szintén a Kelemen-szék tavaszi és nyári mintájának mikrobiális aktivitása volt a legnagyobb. A legkisebb összaktivitást a Kelemen-szék őszi és a Böddi-szék nyári mintája mutatta. Az egyes közösségek a felkínált szénforrások közel azonos hányadát (29-36 %) tudták hasznosítani, kivéve a Böddi-székből származó tavaszi mintát, amely a szénforrások kevesebb, mint ötödét oxidálta.

4.1.4 Az üledékben élő baktériumközösségek tenyésztéstől független diverzitás vizsgálata

A Kelemen-szék és Böddi-szék üledékében a baktériumközösségek filogenetikai diverzitását és szezonális dinamikáját a BIOLOG

vizsgálatokkal megegyező időpontokban, denaturáló gradiens gélelektroforézis segítségével vizsgáltuk. Az üledék baktériumközösségeit reprezentáló DGGE sávmintázatok alapján TotalLab szoftver felhasználásával hierarchikus (UPGMA- Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) dendrogramot szerkesztettünk (7. ábra).



7. ábra A Kelemen-székből és Böddi-székből vett üledékminták DGGE sávmintázata alapján szerkesztett UPGMA dendrogram (K1: Kelemen-szék, K7: Böddi-szék, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

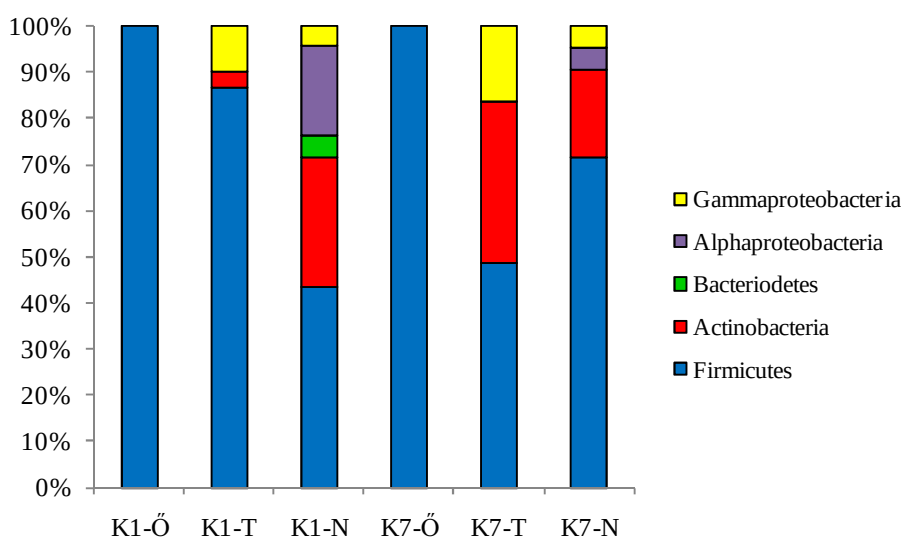
A DGGE vizsgálatok értékeléskor az egyes elektroforetikus mintázatokban (gélcsíkokban) a DNS csíkok számát, elhelyezkedését és intenzitását vettük figyelembe. A dendrogramon megfigyelhető, hogy összesen a Kelemen-székből és a Böddi-székből származó üledékminták (K1-Ő, K7-Ő) DGGE sávmintázatuk alapján ugyanazon csoportba kerültek. A tavaszi és nyári minták a mintavételi helyek szerint nagyobb hasonlóságot mutattak. A Kelemen-székből májusban és júliusban vett minták (K1-T és K1-N) mutatták a legnagyobb egyezést (69 %), a Böddi-szék tavaszi (K7-T) és nyári (K7-N) mintája 65 %-al csoportosult. Az egyes genotípusokra jellemző elektroforetikus csíkok közül csak néhány (az összes kevesebb, mint 1 %-a) volt jelen kizárólag egy mintázatban. Az elektroforetikus csíkok intenzitása azonban jelentősen különbözött az egyes gélcsíkokban. A kelemen-széki őszi minta molekuláris ujjlenyomatában tudtuk a legkevesebb DNS csíkot elkülöníteni (22), a többi mintázatban közel azonos számú, 31-36 DNS csík jelent meg.

4.1.5 A baktériumtörzsek 16S rDNS alapú filogenetikai rokonsága

A Kelemen-szék és Böddi-szék üledékének tenyésztésen alapuló bakteriológiai vizsgálatához 2004 novemberében, valamint 2005 májusában és augusztusában végeztünk mintavételezést. Az üledékminták felső 0-3 cm-

es rétegéből összesen 279 (K1: 142, K7: 137) baktériumtörzset sikerült fenntartanunk. A baktériumtörzseket ARDRA mintázatuk alapján csoportosítottuk, és az egyedi hasítási mintázattal rendelkező tenyészeteket a 16S rDNS egy variábilis szakaszának bázissorrend elemzésével azonosítottuk.

A szikes kistavakból származó baktériumtörzsek döntő többsége (78 %) a Firmicutes törzsbe, azon belül is a *Bacillus* nemzetségbe tartozott. A többi kiskunsági baktériumtörzs az Actinobacteria (13 %); Bacteroidetes (1 %); Alpha- (4 %) és Gammaproteobacteria (5 %) leszármazási vonal képviselője volt (8. ábra).



8. ábra A kiskunsági szikes kistavak üledékmintáiból származó baktériumtörzsek százalékos megoszlása a nagyobb filogenetikai csoportok között (K1: Kelemen-szék, K7: Böddi-szék, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

A Kelemen-székéből és Böddi-székéből származó tenyészetek körében 35 fajt/nemzetséget azonosítottunk. A baktériumtörzsekkel legközelebbi rokon taxonok felsorolását és az egyes taxonokat képviselő tenyészetek izolálására vonatkozó adatokat a 6. táblázat tartalmazza.

Az ARDRA csoportok ötödét nem tudtuk faji szinten azonosítani, mert a kapott bázissorrend adatok a mikrobiológiai gyakorlatban a fajmeghatározás során alkalmazott 97 %-os hasonlósági küszöbnél kisebb hasonlóságot mutattak az internetes adatbázisokban (NCBI, RDP II, EzTaxon szerver) szereplő bázissorrend adatokkal (6. táblázat). Legalább 96 %-os bázissorrend egyezés alapján, a tudomány számára feltehetően új *Bacillus* és

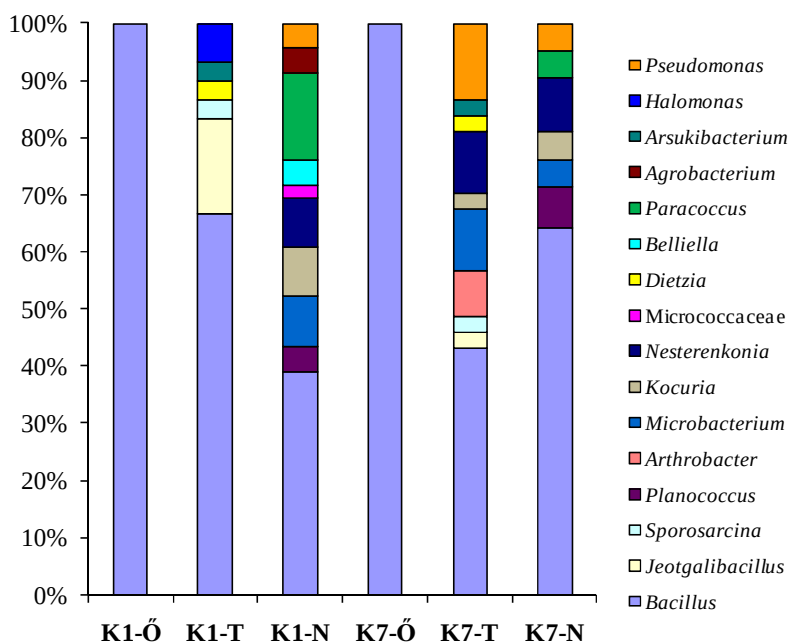
Belliella fajok képviselőit sikerült tenyésztésbe vonnunk. Egy kelemen-széki törzset nemzetség szinten sem tudtunk meghatározni, ez a tenyészet Micrococcaceae családba tartozott (94 %-os hasonlóságot mutatott a *Nesterenkonia alba* fajjal). A Kelemen-szék és a Böddi-szék üledékéből közel ugyanannyi faj (30-28) képviselőjét sikerült tenyésztésbe vonnunk (6. táblázat).

6. táblázat A kiskunsági kistavakból származó baktériumtörzsek 16S rDNS alapú filogenetikai rokonsága, az egyes taxonokat képviselő törzsek száma, az izolálás során alkalmazott táptalaj, és a baktériumtörzsek eredete a mintavételi hely és idő szerint (K1: Kelem-szék, B2: Böddi-szék, A: glükózozos alkalikus táptalaj, D: DSM-1 táptalaj, N: NM-1 táptalaj, C: Heyman-féle C táptalaj, Cz: Czapek-féle táptalaj, EMBL: European Molecular Biology Laboratory Nucleotide Sequence Database)

Reprezentáns baktériumtörzs kódja és bázissorrend adatainak EMBL hivatkozási száma		Parciális 16S rDNS		A baktériumtörzsek eredete					
Legközelebbi rokon faj és a referencia bázissorrend adatainak EMBL hivatkozási száma		bázissorrend hasonlóság	Törzsek száma	Táptalaj	Mintavételi hely	Ősz	Tavaszi	Nyár	
Firmicutes									
K7-246	FN357191	<i>Bacillus horikoshii</i> (X76443)	97,7% (462/473)	78	A, D, N, C, Cz	K1, K7	+	+	+
K1-110	FR746048	<i>Bacillus pseudofirmus</i> (X76439)	96,7% (466/482)	32	A, D, N, C, Cz	K1, K7	+	+	+
K7-251	FN357194	<i>Bacillus pseudofirmus</i> (X76439)	99,8% (459/460)	1	C	K7	-	-	+
K1-215	FN357179	<i>Bacillus cereus</i> (AE016877)	100,0% (440/440)	24	A, D, C, Cz	K1, K7	+	+	+
K7-230	FN357189	<i>Bacillus pumilus</i> (AY167879)	99,3% (427/430)	15	A, D, N, Cz	K1, K7	+	+	+
K7-229	FN357188	<i>Bacillus soli</i> (AJ542513)	97,1% (440/453)	14	A, D, N, C, Cz	K1, K7	+	+	+
K7-123	FR746059	<i>Bacillus akibai</i> (AB043858)	97,7% (422/432)	11	A, D, N, Cz	K1, K7	+	+	+
K1-218	FN357180	<i>Bacillus akibai</i> (AB043858)	96,8% (457/472)	3	D, N	K1, K7	-	-	+
K1-208	FR746053	<i>Bacillus alkalisediminis</i> (AJ606037)	99,8% (466/467)	4	A, D, N	K1	+	-	+
K1-43	FR746047	<i>Bacillus oceanisediminis</i> (CQ292772)	99,8% (420/421)	7	D, C, Cz	K1, K7	+	+	-
K1-41	FR746046	<i>Bacillus horikoshii</i> (X76443)	96,5% (474/491)	7	A, D, N, Cz	K1, K7	+	-	+
K7-249	FN357193	<i>Bacillus shackletonii</i> (AJ250318)	96,0% (427/445)	5	A, D, N, C	K1, K7	-	-	+
K7-126	FR746057	<i>Bacillus aurantiacus</i> (AJ605773)	99,8% (463/464)	3	A, Cz	K1, K7	-	+	-
K7-204	FN357185	<i>Bacillus simplex</i> (AB363738)	99,6% (455/457)	1	A	K7	-	-	+
K7-235	FR746060	<i>Bacillus drentensis</i> (AJ542506)	97,1% (402/414)	1	N	K7	-	-	+
K1-117	FE746049	<i>Jeotgalibacillus campisalis</i> (AY190535)	96,7% (464/480)	6	D, N	K1, K7	-	+	-
K7-214	FN357186	<i>Planococcus maritimus</i> (AM902210)	97,7% (465/476)	5	D, C, Cz	K1, K7	-	-	+
K1-141	FR746051	<i>Sporosarcina antarctica</i> (EF154512)	99,1% (346/349)	2	C, Cz	K1, K7	-	+	-
Actinobacteria									
K1-245	FN357182	<i>Microbacterium kitamiense</i> (AB013919)	99,8% (412/413)	10	N, C	K1, K7	-	+	+
K1-223	FN357181	<i>Nesterenkonia lutea</i> (AY588278)	99,5% (435/437)	6	D, N, C	K1, K7	-	+	+
K7-124	FR746056	<i>Nesterenkonia jeotgali</i> (AY928901)	99,3% (439/442)	6	D, N, Cz	K1, K7	-	+	+
K1-251	FM179648	<i>Nesterenkonia alba</i> (EU566871)	94,2% (426/452)	1	N	K1	-	-	+
K1-213	FN357178	<i>Kocuria rosea</i> (X87756)	99,3% (410/413)	6	D, N, Cz	K1, K7	-	+	+
K7-248	FN357192	<i>Kocuria polaris</i> (AJ278868)	99,1% (451/455)	1	C	K7	-	-	+
K7-111	FR746055	<i>Arthrobacter luteolus</i> (AJ243422)	99,6% (444/446)	3	D, Cz	K7	-	+	-
K7-140	FR746058	<i>Dietzia natronolimnaea</i> (X92157)	99,5% (404/406)	2	C	K1, K7	-	+	-
Bacteroidetes									
K1-260	FR746054	<i>Belliella pelovolcani</i> (EU685336)	99,1% (466/470)	1	C	K1	-	-	+
K1-255	FM179649	<i>Belliella baltica</i> (AJ564643)	96,0% (428/446)	1	N	K1	-	-	+
Alphaproteobacteria									
K1-202	FR746052	<i>Paracoccus carotinifaciens</i> (AB006899)	97,9% (375/383)	8	A, N, Cz	K1, K7	-	-	+
K1-249	FN357183	<i>Paracoccus aminovorans</i> (D32240)	98,2% (391/398)	1	N	K1	-	-	+
K1-206	FN357177	<i>Agrobacterium albertimagini</i> (DQ363142)	99,8% (403/404)	2	A	K1	-	-	+
Gammaproteobacteria									
K7-236	FN357190	<i>Pseudomonas peli</i> (AM114534)	99,1% (443/447)	7	D, N, C, Cz	K1, K7	-	+	+
K7-221	FN357187	<i>Pseudomonas alcaliphila</i> (AB030583)	99,6% (466/468)	2	D, N	K1, K7	-	-	+
K1-122	FR746045	<i>Halomonas desiderata</i> (X92417)	99,1% (423/427)	2	C, Cz	K1	-	+	-
K1-118	FR746050	<i>Arsukibacterium ikkense</i> (DO112664)	97,9% (415/424)	2	A, Cz	K1, K7	-	+	-

A legdiverzebb közösségeket mindkét szikes víztér esetén a nyári minták tenyésztéses vizsgálata során tártuk fel (21 faj került elő mindkét kistóból). A legtöbb taxont (18-21-et) a nutrient és NM-1 táptalajokról, a legkevesebbet (13-t) a glükózos alkalikus táptalajról kitenyésztett baktériumtörzsek körében azonosítottuk. A Heyman-féle C táptalajról és a Czapek-féle táptalajról 16-18 faj képviselőjét tenyésztettük ki. A legalább három törzzsel képviselt fajokat többféle táptalajról is izoláltuk, és döntő többségüket mindkét székből kimutattuk (6. táblázat). Kizárólag a Kelemen-székből azonosítottuk a *Bacillus alkalisediminis* fajjal és egyedül a Böddi-székből az *Arthrobacter luteolus* fajjal rokon szervezeteket. Számos fajt egyetlen tenyészet képviselt.

A kiskunsági szikes kistavak tenyésztéses vizsgálata során a legkevésbé diverz közösségeket (csak *Bacillus* sp.) az őszi mintákból mutattuk ki (9. ábra)



9. ábra Az egyes kiskunsági üledékmintákból izolált baktériumtörzsek százalékos megoszlása az azonosított nemzetségek között (K1: Kelemen-szék, K7: Böddi-szék, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

Szintén *Bacillus* fajokkal rokon szervezetek voltak többségben a Kelemen-szék tavaszi és a Böddi-szék nyári törzscsoportjában is. A kelemen-széki üledékmintákból tavasszal és a Böddi-székből nyáron izolált törzsek kevesebb, mint fele tartozott a *Bacillus* nemzetséghez. Legnagyobb

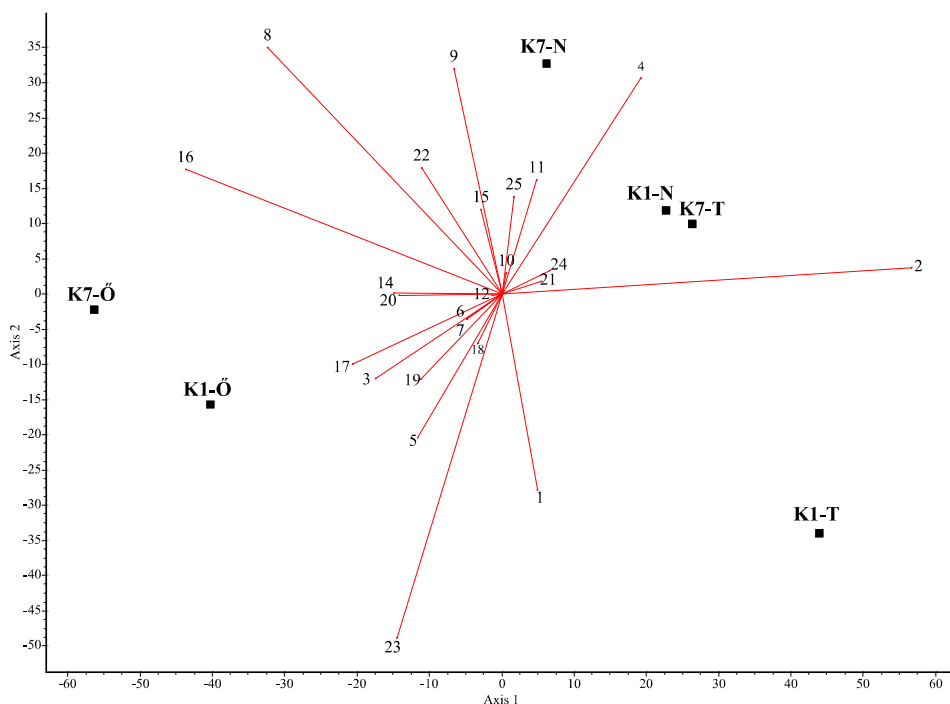
számban a *Bacillus horikoshii* (78 törzs), *B. pseudofirmus* (32 törzs) és *B. cereus* (24 törzs) fajokkal rokon szervezeteket azonosítottuk. A Firmicutes (kis G+C tartalmú Gram-pozitívok) törzsben továbbá a *Jeotgalibacillus*, a *Planococcus* és a *Sporosarcina* spp. képviselői voltak jelen a tenyészetek között. Az Actinobacteria (nagy G+C tartalmú Gram-pozitívok) leszármazási vonalat a *Microbacterium*, *Nesterenkonia*, *Kocuria*, *Arthrobacter* és *Dietzia* nemzetségek képviselték. A Kelemen-szék nyári üledékmintájából tenyésztettük ki Bacterioidetes törzs *Belliella* nemzetségével rokon szervezeteket. Ugyancsak nyáron izoláltuk az Alphaproteobacteria osztály képviselőit, amelyeket a *Paracoccus* és az *Agrobacterium* nemzetségek tagjaiként azonosítottunk. A Gammaproteobacteria osztályban főként a *Pseudomonas* fajok, tavasszal, két-két törzsszel pedig a *Halomonas* és az *Arsukibacterium* nemzetségek jelenlétét mutattuk ki.

4.1.6 Az üledékből származó baktériumtörzsek fenotípusos tulajdonságai

Valamennyi törzset sejtmorfológiai és biokémiai-élettani vizsgálatoknak vetettük alá. Az egyes minták tenyésztendő baktériumközösségeinek fenotípusos tulajdonságait (7. táblázat) főkomponens analízis segítségével hasonlítottuk össze (10. ábra).

7. táblázat A kiskunsági szikes kistavak üledékéből izolált baktériumtörzsek fenotípusos tesztekben mutatott pozitív eredményeinek százalékos megoszlása az egyes törzscsoportokban (K1: Kelemen-szék, K7: Böddi-szék, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

Minta	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Foszfátázaktivitás	47	39	100	59	38	6	6	24	18	0	0	0	0	18	9	62	50	6	20	45	21	24	86	0	11
Neisser-festés	53	87	90	70	27	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	7	27	3	10	30	17	13	87	3	7
Gram-festés	46	70	72	65	22	0	0	28	33	2	7	0	0	2	2	28	13	0	7	28	20	13	65	11	13
Katalázaktivitás	33	24	100	48	29	3	3	55	19	0	0	2	0	19	5	57	36	3	16	34	10	29	90	0	9
Oxidázaktivitás	27	81	84	68	16	0	0	19	14	0	8	0	0	11	11	32	24	0	5	14	24	24	70	8	16
D-glükóz oxidatív hasznosítása (24h)	33	69	93	93	19	0	0	33	24	2	10	0	0	10	12	40	36	0	7	43	17	33	55	0	17
D-glükóz fermentatív hasznosítása (24h)																									
D-glükóz oídatív hasznosítása (1 hét)																									
D-glükóz fermentatív hasznosítása (1 hét)																									
Gáztermelés a Hugh-Lefson-tesztben																									
Ammonifikáció																									
Kéhidrogén termelése ciszteintől																									
Indol termelése triptofánból																									
Metilvörös reakció																									
Voges-Proskauer-reakció																									
Eszkulinhidrolízis																									
Nitrátról nitrít																									
Denitrifikáció																									
Nitrátról ammónia																									
Lipolitikus- (észteráz-) aktivitás																									
Keményítőhidrolízis																									
Kazeinhidrolízis																									
Zselatinhidrolízis																									
Ureázaktivitás																									
Citráthasznosítás																									



10. ábra A kiskunsági mintákból izolált törzscsoportok elkülönülése a hagyományos biokémiai élettani tesztekben adott pozitív eredményeik százalékos aránya alapján (K1: Kelemen-szék, K7: Böddi-szék, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta, az egyes vektorok melletti számok a 7. táblázatban felsorolt fenotípusos tulajdonságnak felelnek meg.)

A fenotípusos teszteredmények alapján készült ordinációs diagramon az őszi törzscsoportok (K1-Ő, K7-Ő) az első főkomponens (Axis 1) mentén egyértelműen elkülönültek a többi törzscsoporttól (10. ábra). A második főkomponens (Axis 2) mentén a Kelemen-szék tavaszi (K1-T) és a Böddi-szék nyári (K7-N) törzscsoportja különült el a többi mintától. A Kelemen-szék nyári (K1-N) és a Böddi-szék tavaszi (K7-T) törzscsoportja a fenotípusos teszteredmények alapján nagyon hasonlóan mutatkozott. Összességében a K1-T minta törzscsoportja adott a legkevesebb tesztben pozitív eredményt. Az őszi törzscsoportok Gram-pozitív tenyészetek a többi törzscsoportéhoz képest aktívabbak voltak az eszkulin és metilvörös tesztben, számos tenyészet redukálta a nitrátot nitritig vagy ammóniáig. A Böddi-szék nyári mintájából származó törzseket a viszonylag nagyobb arányú katalázaktivitás és a glükóz fermentatív hasznosítása jellemezte. A kiskunsági őszi tenyészetek Gram-festéssel készült preparátumain a törzsek jelentős hányadánál (46 %) tapasztaltuk centrális deformáló spórák jelenlétét, míg a többi mintavételi időpontban csak néhány (összesen 6)

tenyészetnél figyeltük meg spórák jelenlétét. A kiskunsági minták főkomponens analízise során a triptofánból történő indol termelés vizsgálatát nem vettük figyelembe, mert ebben a tesztben egyik törzs sem adott pozitív eredményt. Csak néhány törzs termelt a kénhidrogént ciszteiből, végzett gáztermeléssel kísért fermentációt és denitrifikációt.

A kiskunsági szikes tavak üledékéből kitenyésztett baktériumfajok fenotípusos tulajdonságait az 8. táblázat tartalmazza. Az alábbiakban a legalább öt törzzsel képviselt fajok fenotípusos tulajdonságait foglaljuk össze.

8. táblázat Az egyes fajokat képviselő baktériumtörzsek fenotípusos tulajdonságai. Az egyes tesztekben a pozitív törzsek százalékos arányát tüntettük fel (+: összes pozitív, -: összes negatív; 1,1: kokkus, 1,2: pálca, 2,2: fonalas sejtmorfológia)

Legközelebbi rokon faj és a referenciázás sorrend adatok EMBL hivatkozási száma	Parciális 16S rDNS bázissorrend hasonlóság	Törzsek száma	Sejtmorfológia	Nézőre-festés	Fermentációs aktivitás	Gram-festés	Katalázaktivitás	Oxidázaktivitás	D-glükóz oxidatív hasznosítása (24h)	D-glükóz fermentatív hasznosítása (24h)	D-glükóz oxidatív hasznosítása (1 hét)	D-glükóz fermentatív hasznosítása (1 hét)	Gáztermelés a Hugh-Leifson-tesztben	Ammonifikáció	Kénhidrogén termelés ciszteiből	Indol termelés tryptofánból	Metilvörös reakció	Voges-Proskauer-reakció	Estérléshidrolízis	Nitritből nitrát	Denitrifikáció	Nitratból ammónia	Lipolitikus (észteráz) aktivitás	Keményítőhidrolízis	Kazeinhidrolízis	Zselatinhidrolízis	Ureázaktivitás	Citrátasszimiláció		
Firmicutes																														
<i>Bacillus horikoshii</i> (X76443)	97.7% (462/473)	78	1,2	40	23	+	55	9	-	-	9	-	-	3	1	-	-	-	35	37	-	1	56	23	6	+	-	-	-	
<i>Bacillus pseudofirmus</i> (X76439)	96.7% (466/482)	32	1,2	37	34	+	51	23	-	-	26	-	-	-	-	-	-	-	34	9	-	-	3	6	3	80	-	-	6	
<i>Bacillus pseudofirmus</i> (X76439)	99.8% (459/468)	1	1,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
<i>Bacillus cereus</i> (AB016877)	100.0% (440/440)	24	1,2	75	+	+	96	75	-	-	79	75	-	-	-	88	17	83	+	-	79	42	71	96	96	-	21	-	-	
<i>Bacillus pumilus</i> (AY167879)	99.3% (427/430)	15	1,2	87	33	+	+	67	40	40	87	80	7	-	-	73	93	93	-	20	47	7	+	80	-	60	-	-	-	
<i>Bacillus soli</i> (AJ542513)	97.1% (440/453)	14	1,2	43	29	+	64	7	-	-	50	-	7	-	-	-	-	50	36	-	64	-	21	93	-	7	-	-	-	
<i>Bacillus akibai</i> (AB043858)	97.7% (422/432)	11	1,2	45	27	+	73	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	91	64	-	9	-	18	-	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus akibai</i> (AB043858)	96.8% (457/472)	3	1,2	67	33	+	67	67	-	-	67	67	-	-	-	-	-	+	-	-	33	-	33	67	-	33	-	-	-	
<i>Bacillus alkalisediminis</i> (AJ606037)	99.8% (466/467)	4	1,2	75	50	+	25	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-	25	-	-	50	-	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus oceanisediminis</i> (GQ292772)	99.8% (420/421)	7	1,2	+	86	+	86	+	-	-	29	-	-	-	-	-	-	29	14	+	86	71	57	+	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus horikoshii</i> (X76443)	96.5% (474/491)	7	1,2	14	-	+	71	14	-	-	14	14	-	-	-	-	-	29	14	-	-	-	29	86	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus shackletonii</i> (AJ250318)	96.0% (427/445)	5	1,2	+	+	+	40	80	-	-	20	-	-	-	-	-	-	+	+	-	60	-	60	-	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus aurantiacus</i> (AJ605773)	99.8% (463/464)	3	1,2	33	33	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus simplex</i> (AB363738)	99.6% (455/457)	1	1,2	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus drentensis</i> (AJ542506)	97.1% (402/414)	1	1,2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Jeikeibacillus campisalis</i> (AY190535)	96.7% (464/480)	6	1,2	83	67	+	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	83	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Planococcus maritimus</i> (AM902210)	97.7% (465/476)	5	1,1	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-	-	20	20	-	-	20	-	80	80	-	-	-	-	
<i>Sporosarcina antarctica</i> (EF154512)	99.1% (346/349)	2	1,2	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Actinobacteria																														
<i>Microbacterium kimatiense</i> (AB013919)	99.8% (412/413)	10	1,2	+	-	+	60	20	-	-	60	60	-	-	-	-	-	90	-	-	-	-	50	-	70	-	-	-	-	
<i>Nesterenkonia lutea</i> (AY588278)	99.5% (435/437)	6	1,1	67	33	+	83	-	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	-	17	50	33	17	-	-	
<i>Nesterenkonia jeotgali</i> (AY928901)	99.3% (439/442)	6	1,1	+	33	+	+	-	-	-	33	17	-	-	-	-	17	17	-	-	-	-	-	-	67	-	-	-	-	
<i>Nesterenkonia alba</i> (EU566871)	94.2% (426/452)	1	1,2	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
<i>Kocuria rosea</i> (X87756)	99.3% (410/413)	6	1,1	50	50	+	+	17	-	-	+	+	17	-	-	-	-	-	17	-	-	50	17	-	67	17	17	-	-	
<i>Kocuria polaris</i> (AJ278868)	99.1% (451/455)	1	1,1	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	
<i>Arthrobacter luteolus</i> (AJ243422)	99.6% (444/446)	3	1,2	67	33	+	+	-	-	-	33	-	-	-	-	-	-	33	-	-	-	33	-	33	-	67	-	-	-	
<i>Dietzia natronolimnaea</i> (X92157)	99.5% (404/406)	2	1,2	+	50	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-	-	-	+	-	-	-	
Bacteroidetes																														
<i>Beijerinella pelovocani</i> (EU685336)	99.1% (466/470)	1	2,2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	
<i>Beijeria helvica</i> (AJ554643)	96.0% (428/446)	1	1,2	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
Alphaproteobacteria																														
<i>Paracoccus carotinifaciens</i> (AB006899)	97.9% (375/383)	8	1,2	75	-	-	13	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-	13	-	-	13	13	13	-	-	
<i>Paracoccus aminovorans</i> (D32240)	98.2% (391/398)	1	1,1	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	
<i>Agrobacterium albertinagni</i> (DQ36314)	99.8% (403/404)	2	1,2	50	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-	-	-	+	+	+	50	
Gammaproteobacteria																														
<i>Pseudomonas peli</i> (AM114534)	99.1% (443/447)	7	1,2	71	29	-	57	29	-	-	-	-	71	-	-	-	-	-	71	-	29	-	29	43	14	-	71	-	-	
<i>Pseudomonas alcaliphila</i> (AB030583)	99.5% (466/468)	2	1,2	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-	50	50	+	-	-	-	
<i>Halomonas desiderata</i> (X92417)	99.1% (423/427)	2	1,2	+	50	-	50	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	50	50	50	+	+	-	-	
<i>Araukibacterium ikense</i> (DQ112664)	97.9% (415/424)	2	1,2	+	+	-	-	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	50	50	+	+	-	-	-	

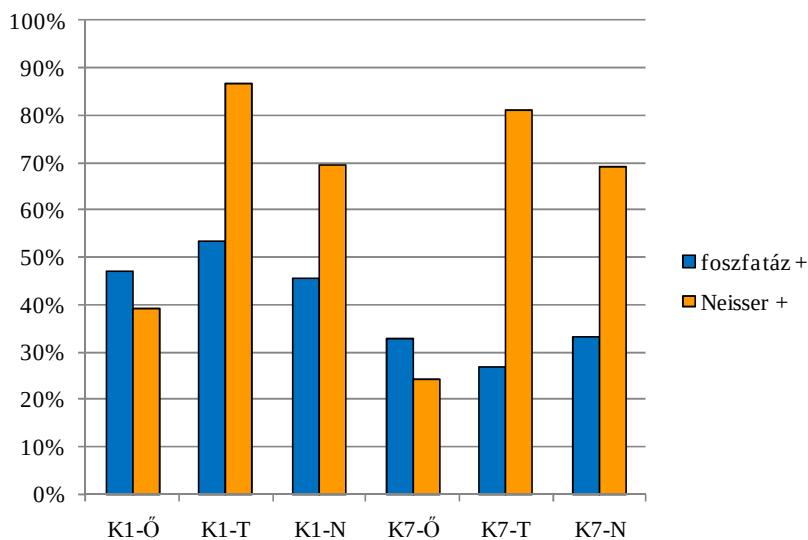
A kis G+C tartalmú Gram-pozitív pálca alakú *Bacillus* szervezetek a nagy molekulájú szerves vegyületek közül leginkább a zselatint hasznosították, lipáz-, amiláz- és kazeáz- aktivitást kevesebb tenyészet mutatott. Számos faj hasznosította az eszkuilint és a glükózt. A Hugh-Leifson, Voges-Proskauer és metilvörös tesztben fermentatív aktivitást

figyeltünk meg a *B. cereus* és *B. pumilus* fajoknál. A nitrátot nitritté redukálták például a *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. shackletonii*, ammóniává a *B. oceanisediminis* képviselői. A *Jeotgalibacillus* nemzetség képviselőire a nagyarányú zselatin hidrolízis és a nitrát nitritté történő redukciója volt jellemző. A *Planococcus* sp. tenyészetek a kazeint és a zselatint értékesítették. Az Actinobacteria törzs kataláz pozitív szervezeteinek fenotípusos tulajdonságai a hasonlóak voltak a kis G+C tartalmú Gram-pozitív tenyészetekéhez. Az egyes fajok képviselői nagy arányban bontották a zselatint, a *Microbacterium kitamiense*, *Kocuria rosea* törzsek fermentatív aktivitást mutattak. A *M. kitamiense* fajjal rokon tenyészetek jellegzetes lila színű telepeket képeztek. A Bacterioidetes törzset mindössze két *Belliella* sp. törzs képviselte, amelyek a legtöbb biokémiai-élettani vizsgálatban inaktívak voltak. A többi Gram-negatív tenyészet is kevés tesztben adott pozitív eredményt, a nagy molekulájú szerves anyagokat is kevés törzs bontotta. Az Alphaproteobacteria csoportot az urea, a Gammaproteobacteria fajokat elsősorban a citrát hasznosítása különböztette meg a többi tenyésztől. A *Paracoccus* sejtek a többi pálca alakú Gram-negatív szervezettől eltérően kokkoidális és kokkoidális rövid pálca alakúak voltak. A *Pseudomonas* fajoknál ammonifikációt és nitrátredukciót figyeltünk meg.

4.1.7 A baktériumtörzsek foszforforgalommal kapcsolatos vizsgálatának eredményei

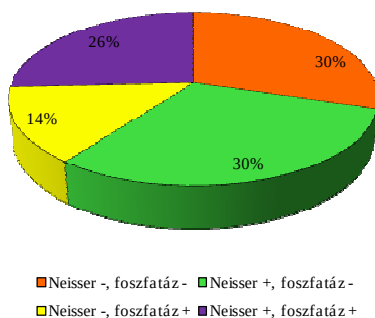
Ősszel sem a Kelemen-székből, sem a Böddi-székből származó tenyészetek többségénél nem tapasztaltunk polifoszfát-felhalmozást, a Neisser-pozitív tenyészetek aránya 39-24 %-os volt (11. ábra).

A tavaszi és nyári üledékmintákból származó tenyészetek többsége ugyanakkor polifoszfátot halmozott fel (69-87 %) mindkét mintavételi hely esetében. A Kelemen-székből származó tenyészetek valamennyi mintavételi időpontban nagyobb arányban hasznosították a szerves foszforvegyületet, mint a Böddi-székről származó szervezetek K1: 46-53 %, K7: 27-33 %). A foszfatázaktivitást mutató tenyésztethető szervezetek aránya az egyes mintavételi helyek szezonális mintáiban nem különbözött számottevő mértékben.



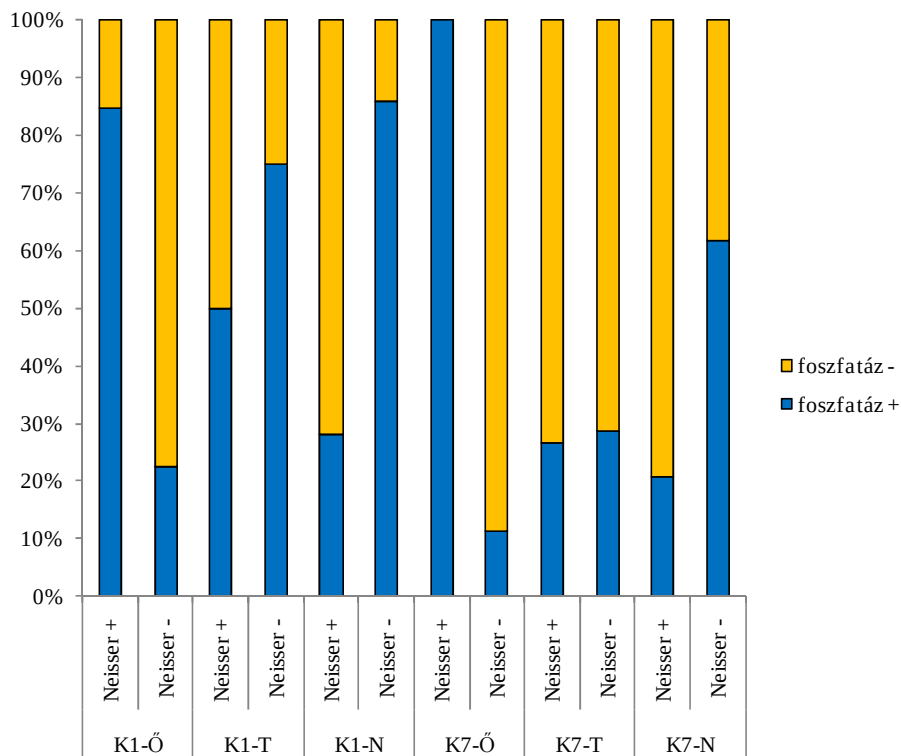
11. ábra A foszfatázaktivitást és polifoszfat-felhalmozást mutató baktériumtörzsek százalékos aránya az egyes kiskunsági törzscsoportokban (K1: Kelemen-szék, K7: Böddi-szék, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

A kiskunsági tenyészetek egyharmadánál sem foszfatázaktivitást, sem polifoszfat- felhalmozást nem figyeltünk meg (12. ábra). A törzsek további harmada a Neisser-festés során pozitív eredményt adott, de a szerves foszforvegyületet nem hasznosította. A törzsek közel egynegyede adott mind a foszfatáz teszt, mind a Neisser-festés során pozitív eredményt. A többi tenyészet (14 %) a szerves foszforvegyületet hasznosította, de polifoszfatot nem halmozott fel.



12. ábra A foszforforgalommal kapcsolatos vizsgálatok összesített eredményei a Kelemen-székből és a Böddi-székből kitenyésztett baktériumtörzsek esetében

Az őszi mintákban a polifoszfátot felhalmozó szervezetek döntő többsége foszfatázaktivitást is mutatott, és számos törzs egyik tesztben sem adott pozitív eredményt (13. ábra).



13. ábra A foszfatáz teszt eredményeinek százalékos megoszlása a Neisser-festés során pozitív illetve negatív eredményt adó baktériumtörzsek körében az egyes kiskunsági minták szerint (K1: Kelemen-szék, K7: Böddi-szék, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

A Kelemen-szék üledékéből májusban izolált tenyészték és a nyári törzscsoportok esetében a polifoszfátraktárral nem rendelkező törzsek nagyobb arányban hasznosították a szerves foszforforrást, mint azok, amelyek polifoszfátot halmoztak fel. A Böddi-szék tavaszi mintájában a Neisser-festés során pozitív és negatív eredményt adó törzsek hasonlóan kis arányban mutattak foszfatázaktivitást.

A Fimicutes nemzetségben a *Jeotgalibacillus* tenyésztetek többségénél polifoszfát felhalmozását tapasztaltunk. Az egyes *Bacillus* fajok polifoszfátot felhalmozó képessége jelentősen különbözött. Például a *B. cereus*, a *B. pumilus*, a *B. shackletonii*, a *B. oceanisediminis* fajok rokonai között, a törzsek döntő többsége polifoszfátot halmozott fel, viszont a *B.*

horikoshii, a *B. pseudofirmus*, a *B. soli* tenyészetek többsége a Neisser-festés során negatív eredményt adott. A Neisser-pozitív tenyészetek nagy számban voltak jelen az Actinobacteria (*Microbacterium*, *Nesterenkonia*, *Kocuria*, *Arthrobacter*, *Dietzia* sp.) törzsek között (80 %), valamint az Alphaproteobacteria (73 %) és a Gammaproteobacteria (69 %) csoportokban. A legtöbb polifoszfátot felhalmozó Gram-negatív tenyészet a *Paracoccus carotinifaciens* és a *Pseudomonas peli* fajokkal rokon szervezet volt. A Bacterioidetes csoportot képviselő két törzs nem tartalmazott metakromatikus granulumokat.

4.2 A kiskunsági szikes kistavakból származó üledékminták vizsgálati eredményeinek értékelése

4.2.1 Vízkémiai tulajdonságok, és az üledékminták foszfortartalma

Boros és Vörös (2010) hazai sekély szikes vizes élőhelyek vizsgálata során szignifikáns korrelációt találtak a fajlagos elektromos vezetőképesség és az összes ionkoncentráció értékei között. Ennek alapján a hazai szikes vizekben az összes iontartalom (mg l^{-1}) a fajlagos vezetőképesség értékek ($\mu\text{S cm}^{-1}$) 0,774-szorosaként határozható meg. Az általunk vizsgált időpontokban tehát a Kelemen-szék és Böddi-szék sótartalma 3197-6107 mg l^{-1} volt, ami alapján a kontinentális vizek osztályozására felállított nemzetközi terminológia szerint a hiposzalin (3000-20000 mg l^{-1}) sós vizek kategóriájába tartozott. A hiposzalin állapot meghatározását csak a mintavételi időpontokra vonatkoztathatjuk. Az asztatikus Kelemen-szék és Böddi-szék víztérfogata és sótartalma is nagymértékben ingadozik, és ennek megfelelően vízkémiai besorolása is sokszor változó az év során (Boros és Vörös, 2010).

A vízmintákban mért összes P koncentrációk alapján, az OECD (Organization for Economic Co-Operation and Development) minősítés szerint (Vollenweider és Kerekes, 1982) a vizsgált időszakban a Kelemen-szék és a Böddi-szék hipertróf állapotú volt.

4.2.2 A baktériumközösségek csíraszama az üledék felső rétegében

Eredményeink és irodalmi adatok alapján, az aerob kemoorganotróf baktériumok csíraszám értékei a sekély kiskunsági székek üledékének felső rétegében nagyságrendileg a szikes tavak vizében jellemző csíraszám értékeknek (10^5 - 10^6 TKE ml^{-1}) felelnek meg (Jones et al., 1998; Duckworth et al., 1996). A szikes vízterekben az üledéklakó és pelágikus heterotróf szervezetek magas sejtszám értékeit a nagymértékű elsődleges termelés tartja fenn, és a fiziko-kémiai paraméterek (pl. szalinitás) szélsőséges ingadozása ellenére a mikrobiális biomassa nagysága az év folyamán közel állandó (Grant, 1992; Humayoun et al., 2003; Mesbah et al., 2007). A közösségi szénforrás hasznosítási és molekuláris diverzitás vizsgálatok eredményeitől eltérően, a kiskunsági szikes tavak üledékfelszíni csíraszám értékei nem korreláltak sem a víz hőmérséklettel, sem a vezetőképességgel. Mivel később valamennyi őszi tenyészetet a *Bacillus* nemzetség tagjaiként azonosítottuk, bebizonyosodott, hogy az őszi tenyésztés erőteljesen szelektív volt, és a magas csíraszám értékek részben a spórás állapotban jelenlevő *Bacillus* szervezetek sejtszámát tükrözték (Felske et al., 1999). Valamennyi minta

esetén a glükózos alkalikus táptalajon becsültük a legalacsonyabb baktériumszámokat, aminek feltehetően az volt az oka, hogy ezen a kifejezetten alkalikus, erősen szelektív táptalajon az alkalitoleráns mikroorganizmusok nem képeztek telepet (Horikoshi, 1991).

4.2.3 Az üledék mikrobaközösségeinek metabolikus ujjlenyomata

BIOLOG szénforrás hasznosítási vizsgálat eredményei alapján a Kelemen-szék tavaszi és nyári üledék mikrobaközösségei az őszi közösségekhez és a Böddi-szék azonos időpontban vett mintáihoz képest jelentősen nagyobb összaktivitással rendelkeztek és több szénforrás értékesítésére voltak képesek. Az üledékfelszíni mikrobaközösségek metabolikus szempontú csoportosulásának okaiként a júliusban és augusztusban a Böddi-szék magas sókoncentrációját, novemberben pedig az alacsony hőmérsékletet jelölhetjük meg. Vízi ökoszisztémákban a hőmérséklettel párhuzamosan a mikrobiális aktivitás erőteljes csökkenéséről számolnak be (White et al., 1991; Shiah és Ducklow, 1994; Giorgio és Cole, 1998; Christian és Lind, 2007), a sós élőhelyeken a metabolikus aktivitást a növekvő szalinitás is negatívan befolyásolja (Compeau és Bartha, 1987; Cunha et al., 2000).

Az böddi-széki nyári minta kivételével az üledékfelszín mikrobiális közösségei az alacsonyabb összaktivitással jellemezhető állapotok során is a szénforrások közel azonos hányadát hasznosították, tehát az üledékben a mikrobaközösségek metabolikus potenciálja nem, hanem a különböző szénforrások hasznosításának mértéke változott. Nyáron a Böddi-székben, amikor a legnagyobb volt a víz sókoncentrációja, az értékesített szénforrások köre is beszűkült.

4.2.4 Az üledékben élő baktériumközösségek molekuláris ujjlenyomata

A denaturáló gradiens gélelektroforézis eredményei alapján, a Kelemen-szék és Böddi-szék üledékében a baktériumközösségek szerkezete alacsony hőmérsékleti értékek mellett a két víztérben hasonló volt, tavasszal és nyáron a földrajzilag közeli székekben részben eltérő szerkezetű közösségek voltak jelen. Eredményeink megegyeznek a kiskunsági kistavak üledéklakó közösségeire irányuló korábbi (2003-2004. évi) DGGE vizsgálatok eredményeivel, amelyek a bentikus közösségek szerkezetében erőteljes szezonális átrendeződést jeleztek (Borsodi et al., 2005; Borsodi et al., 2010b). A Böddi-szék vizében, májusban és júliusban is a kelemen-széki vízmintákhoz képest magasabb vezetőképesség értékeket mértünk. Ez arra utal, hogy a melegebb időszakokban az egyes víztereket jellemző – mindenekelőtt az eltérő szalinitásból adódó – sajátos fiziko-kémiai viszonyok hatással vannak a szikes kistavak üledékében élő

baktériumközösségek szerkezetére. A két kistó mintáiban az egyes genotípusokat képviselő elektroforetikus csíkok száma és az elektroforetikus csíkok gélben való elhelyezkedése júliusban és májusban is hasonló volt, azonban az egyes elektroforetikus csíkok intenzitása jelentősen változott. Tehát a szikes kistavakban a baktériumközösségek alkalmazkodását a szélsőségesen változó környezeti feltételekhez elsősorban nem a faji összetétel, hanem a közösségalkotó szervezetek arányának változása biztosítja. Eredményeinkhez hasonlóan a növekvő szalinitás mentén hasonlóan diverz közösségek jelenlétét, de a közösség alkotó szervezetek arányának változását tapasztalták például két kaliforniai szikes tó (Kulp et al., 2007), tibeti szikes tavak (Wu et al., 2006), és brakk vizes torkolatok bakterioplankton vizsgálata során (Bouvier és Giorgio, 2002). A szikes kistavakban a magas sótartalommal és erősen lúgos kémhatással jellemezhető állapotok között az obligát alkalofil és sótűrő szervezetek kerülhetnek túlsúlyba (Hamamoto és Horikoshi, 1992; Ventosa et al., 1998; Oren, 2008). Ősszel feltehetően a pszichrofil és a pszichrotoleráns szervezetek dominálnak, és hasonló közösségszerkezet jellemzi a tavakat. Az őszi baktériumközösségek diverzitását illetően csak a Kelemen-szék novemberi mintájában tapasztaltuk kevesebb genotípus jelenlétét. A szikes kistavak hosszabb távú tenyésztéstől független vizsgálata az őszi közösségekben a tavaszi és nyári állapotokhoz képest kevésbé diverz közösségek jelenlétét igazolta (Borsodi et al., 2010b).

4.2.5 A tenyésztésen alapuló vizsgálatok eredményeinek értékelése

A Kelemen-szék és Böddi-szék üledékéből létrehozott törzsgyűjteményekben a legtöbb baktériumtörzs a *Bacillus* nemzetségbe tartozott. A *Bacillus* szervezetek az alkalikus élőhelyek jellegzetes közösségalkotói (Grant, 1992; Hamamoto és Horikoshi, 1992; Duckworth et al., 1996). A nemzetségnek számos kifejezetten alkalofil faja van, amelyek szaporodásához a pH 9 és afeletti értékek a legkedvezőbbek (Nielsen et al., 1995). A Fertő, a Velencei-tó, a Kelemen-szék és egy másik kiskunsági szikes víztér, a Zab-szék üledékének, korábbi vizsgálata során a tenyészetek többsége szintén a *Bacillus* nemzetségbe tartozott (Borsodi és Sallai, 1997; Borsodi et al., 2003, 2005; Szabó et al., 2004). A szikes kistavakból izolált baktériumtörzsek is főként alkalofil (pl. *B. horikoshii*, *B. pseudofirmus*, *B. aurantiacus*, *B. alkalisediminis*) és alkalitoleráns (pl. *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. shackletonii*, *B. simplex*) fajokkal mutatták a legnagyobb genetikai egyezést (Fritze et al., 1990; Nielsen et al., 1994, 1995; Logan et al., 2004; Nogi et al., 2005; Heyrman et al., 2005). A kiskunsági szikes vízterek korábbi vizsgálata során a *Bacillus* szervezetek alkalofil vagy alkalitoleráns valamint mérsékelten halofil (maximális növekedés 5-7 vegyes % sókoncentrációnál) életmódját ökológiai tolerancia tesztekkel is igazoltunk

(Szabó et al. 2004). A hazai sekély szikes vizek üledékéből napjainkig két alkalofil faj, a *Bacillus aurantiacus* és *B. alkalisediminis* leírására került sor. A *B. aurantiacus* faj típusörzse a Kelemen-szék és a Böddi-szék üledékéből származnak, ennek a fajnak a polifázikus tápómóiai vizsgálataiban magam is részt vettem (Borsodi et al., 2008). A *B. alkalisediminis* faj első képviselői a Kelemen-székéből és a tiszántúli Nagy-Vadasból kerültek elő (Borsodi et al., 2010a).

A *Bacillus* fajok extracelluláris enzimeikkel és a nagymolekulájú szerves anyagok bontása által fontos szerepet töltenek be a tápanyagok körforgalmában (Krulwich és Guffanti, 1989; Slepecky és Hemphill, 1999). Ezt támasztotta alá, hogy a biokémiai-életteni vizsgálatok során számos faj képviselőjénél nagyarányú proteolitikus aktivitást tapasztaltunk, az észterázaktivitás kevesebb fajra, de a többi nemzetség képviselőihez képest szintén nagy arányban volt jellemző. Az alkalofil *Bacillus*-ok lúgos viszonyok között működő extracelluláris enzimeit az ipari folyamatokban (pl. mosószerek alkotójaként, papírgyártásban) is kiterjedten alkalmazzák (Ito et al., 1998; Horikoshi, 1999). A keményítő hidrolízist, az eszkulinbontást és glükózt értékesítést vizsgáló tesztek eredményei alapján a kiskunsági székek *Bacillus* közössége inkább a monomer, nem a polimer szénhidrátokat értékesíti. A *Bacillus* sp. szervezetek gyakran fakultatív anaerob anyagcserére is képesek (Nielsen et al., 1995), amit egyes fajoknál nagyarányú fermentációs aktivitás (*B. cereus*, *B. pumilus*) és a disszimilatorkus nitrátredukció jelzett (pl. *B. cereus*, *B. akibai* fajokkal rokon tenyészetek).

A *Bacillus* fajok gyakoriságát a változékonny fiziko-kémiai paraméterekkel jellemezhető, gyakran teljesen kiszáradó szikes vizekben spóráképzésük és sokszínű metabolikus képességük is elősegíti. A kedvezőtlen viszonyok között aszimmetrikus osztódással képződő endospóra a vegetatív sejt felszakadásával válik szabaddá, és metabolikus aktivitás nélkül biztosítja a szervezet túlélését. Tartósan megőrzi életképességét szárazság esetén, szélsőséges hőmérsékleti, pH értékeknél (Nakayama et al., 1996; Chada et al., 2003).

A tenyésztési vizsgálatok során tavasszal és nyáron mindkét székben diverzebb közösséget tártunk fel, és a baktériumörzsek többségét szikes és sós területekre jellemző fajok rokonaiként azonosítottuk. Eredményeinkhez hasonlóan, Dimitru és munkatársai (2008) a Washington állambeli Soap Lake szezonális vizsgálatok a nyári időszakban az őszi állapotokhoz képest változatosabb összetételű közösséget tártak fel. Annak oka, hogy 2004 novemberében csak a *Bacillus* fajokat mutattunk ki, valószínűleg az, hogy ezek a szervezetek jobban alkalmazkodtak a tenyésztési körülményeihez, és az őszi közösségek lassabban növekvő, a tenyésztéshez

nehezebben alkalmazkodó szervezetei rejtve maradtak a vizsgálataink során (Felske et al., 1999; Bussmann et al., 2001).

A *Bacillus* fajok közeli rokonai a *Planococcus maritimus* és a *Jeotgalibacillus campisalis* (korábban *Marinibacillus campisalis*) fajok, amelyeket tengervízből és só lepárlóból írták le, és képviselőik gyakran jelennek meg tengervízből és sós, szikes tavakból származó tenyészetek között (Claus et al., 1999; Yoon et al., 2003, 2010).

Az Actinobacteria törzshöz tartozó *Nesterenkonia*, *Dietzia* fajok szintén szikes területek jellegzetes kolonizálói, többségük mérsékelt halofil kemoorganotróf szervezet (Duckworth et al., 1998; Collins et al., 2002; Li et al., 2005; Yumoto, 2007). Az aerob respiratórikus anyagcseréjű *Kocuria*, *Arthrobacter* fajok tipikus előfordulásúak talajokban, vízben és üledékben, ahol az egyes környezeti tényezők értékeinek (pl. sókoncentráció, pH, hőmérséklet) széles skáláját képesek tolerálni (Tiago et al., 2004). A Kelemen-szék és a Böddi-szék üledékből kimutatott nagy G+C tartalmú Gram-pozitív nemzetségek többsége a kiskunsági kistavak vizéből és a nádasok biofilm mintáiból is előkerült, és több hazai szikes víztér tenésztethető baktériumközösségében is jelen volt (köztük a Velencei-tó, a Fertő, és tiszántúli szikes tavak) (Rusznay et al., 2008; Borsodi et al., 2005, 2010b). A hortobágyi szikesek (Fehér-szik, Nagy-Vadas) üledékének tenyésztésén alapuló vizsgálatakor a *Nesterenkonia* nemzetség tagjai domináns közösségalkotók voltak (Pollák et al., 2006).

Tenyésztéstől független vizsgálatok alapján a sós, szikes élőhelyeken a szalintas növekedésével párhuzamosan a Proteobacteria és Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroidetes (CFB) baktériumok gyakorisága növekszik (Benlloch et al., 2002; Wu et al., 2006).

A Bacteroidetes törzs tagjai a laboratóriumi tenyésztéshez általában nehezen alkalmazkodnak (Jooeste és Hugo, 1999). Édes és sós vizes élőhelyekre egyaránt jellemző aerob mikroorganizmusok (Cottrel és Kirchman, 2000; Rees et al., 2004; Nercessian et al., 2005). A *Belliella* nemzetségbe csupán két faj tartozik, a kiskunsági tenyészetekkel rokon *B. baltica* és *B. pelovolcani*, amelyeket a Balti-tenger vizéből és egy tajvani iszapvulkánból vontak tenyésztésbe (Brettar et al., 2004; Arun et al., 2009). Az egyik, a *Belliella baltica* fajjal rokon kelemen-széki törzset csak nemzetség szinten tudtuk azonosítani. Reméljük, hogy ennek a szervezetnek polifázikus taxonómiai jellemzésével a nemzetség hamarosan egy új, alkalikus élőhelyekhez alkalmazkodott fajjal bővül.

A CFB-csoporthoz hasonlóan elsősorban tenyésztéstől független vizsgálatokkal igazolták, hogy az Alphaproteobacteria törzs abundáns szikes tavak vizében és üledékfelszíni közösségeiben (Dong et al., 2006). Az alfa-proteobaktériumok az alkalmazott biokémiai-élettani tesztekben meglehetősen inaktívak voltak. A Kelemen-szék üledékéből kitenyésztett

Agrobacterium nemzetség tagjai filogenetikailag a *Rhizobium*ok legközelebbi rokonai. Elsősorban növényi kommenzalistaként (nitrogénkötő baktériumok) vagy patogénként ismertek, de az Atlanti-óceánból és a Balti-tengerből is izoláltak *Agrobacterium* fajokat (Rüger és Höfle, 1992). A *Paracoccus*ok halofil szervezeteit főként talajból és tengeri élőhelyekről mutatták ki (Tsubokura et al., 1999; Berry et al., 2003; Kim et al., 2006).

A szikes tavak baktériumközösségeinek Gram-negatív szervezetei döntően a Gammaproteobacteria osztályba tartoznak, gyakran a *Halomonas* és *Pseudomonas* spp. tagjai (Ma et al., 2004; Dong et al., 2006; Yumoto et al., 2007). A *Halomonas* és *Pseudomonas* fajok jelenlétét a kiskunsági kistavak üledékében korábban tenyésztéstől független vizsgálatok is igazolták (Borsodi et al., 2005). A *Halomonas*ok főként a sós, szikes élőhelyekre jellemzőek, de a sótartalom igen széles tartományát képesek tolerálni (0,1-30 % NaCl) (Duckworth, 1996; Jones, et al., 1998; Ventosa, 1998). A *Pseudomonas*ok tipikus szervezetek édes- és tengervizekben, talajokban, és rizoszféra közösségekben egyaránt (Smit et al., 2001; Micsinai és mtsai, 2001; Page et al., 2004). Mindkét nemzetség tagjai kemoorganotróf respiratórikus anyagcseréjű baktériumok. Egyes fajok – nitrát jelenlétében – anaerob viszonyok között is növekednek, amelyet a kiskunsági *Pseudomonas* tenyészetek között nitrátredukció jelzett (Vreeland, 1999; Palleroni, 2008).

4.2.6 A baktériumtörzsek foszforforgalmi szerepe

A kiskunsági szikes kistavak üledékében tavasszal és nyáron a baktériumtenyészetek döntő többsége polifoszfátot halmazott fel. Ez meglepő eredmény annak ismeretében, hogy a hipetróf székekben az üledékek foszfátkoncentrációja igen magas, tehát a polifoszfátnak, mint foszforraktárnak kevéssé lehet szerepe. Ezt támasztja alá az is, hogy a kiskunsági tenyészetek esetében a polifoszfát-felhalmozás és a foszfátázaktivitás között nem tapasztaltunk szoros összefüggést. A polimerraktárak energiaraktárként is működhetnek és a váltakozó aerob és anaerob viszonyokhoz való alkalmazkodást is segíthetik, hasonlóan a szennyvíziszap baktériumközösségeinek adaptációjához (Mino et al., 1998; Kawaharasaki et al., 1999; Seviour et al., 2003). Bár a kiskunsági sekély kistavak üledékfelszíne nyáron algavirágzás esetén anaerobbá válhat, azonban az év nagy részében az oxigénhiányos viszonyok nem jellemzőek (Boros, 1999; Tamásné, 1999; Somogyi et al., 2010), tehát a polifoszfátot felhalmozó baktériumok dominanciájában feltehetően egyéb tényezőknek is szerepe van. A polifoszfátraktárak fontos szerepet játszanak a szélsőséges fizikai és kémiai feltételekhez való alkalmazkodásban is (Kim et al., 2002; Brown és Kornberg, 2004; Seufferheld et al., 2008). A polimer például a nehézfém rezisztenciában, mint kelátor, szélsőséges pH és ozmotikus viszonyok, erős UV sugárzás esetén, mint a stressz válaszok modulátora

szerepel (Kornberg, 1995; Kulaev és Kulakovskaya, 2000; Seufferheld et al., 2008). A kiskunsági szikes kistavak üledékében tehát a polifoszfátot felhalmozó baktériumok nagy arányát a szélsőséges és gyakran szeszélyesen változó fiziko-kémiai feltételekhez való alkalmazkodás is indokolhatja.

A kiskunsági törzsek többsége a szerves foszforvegyületet nem hasznosította, tehát a hipertróf székek üledékfelszíni baktériumközösségei foszforigényüket főként szervetlen foszfát felvételével elégítik ki (Cotner és Wetzel, 1992; Kirchman, 1994). A foszfatáz teszt során a laboratóriumi feltételek nem tükrözték a vízterekben jellemző foszfátkoncentrációkat, de említésre érdemes, hogy az alkalikus foszfatáz enzimeket a nagy foszfátkoncentráció gátolja (Barik et al., 2001; Zhang et al., 2007). Az alkalikus foszfatáz enzimek represszióját a vizek trofikus állapotának indikátoraként is alkalmazzák (Rose and Axler, 1997; Yiyong et al., 2002).

Az Actinobacteria, Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria törzsben is a tenyészetek jelentős hányadánál polifoszfát-felhalmozást tapasztaltunk, tehát a polifoszfát-raktározás filogenetikailag és metabolikusan is diverz szervezetek számára segíti sós, lúgos viszonyokhoz való alkalmazkodást.

4.3 A Balatonból származó üledékminták vizsgálatának eredményei

4.3.1 Vízkémiai tulajdonságok, a tóvíz és az üledék intersticiális vizének foszfor tartalma

A Keszthelyi-medence üledékének intersticiális vizében, valamennyi mintavételi időpontban szignifikánsan nagyobb oldott reaktív foszfor (SRP) és összes oldott foszfor (TDP) koncentrációt mértünk, mint a Siófoki-medencében (ANOVA; SRP: $df=1$, $F=5,441$ $p=0,029$ és TDP: $df=1$, $F=6,842$, $p=0,019$) (9. táblázat). A víz SRP, TDP és összes foszfor (TP) tartalma szintén az eutróf Keszthelyi-medencében volt nagyobb (ANOVA; SRP: $F=11,534$, $p=0,002$; TDP: $F=98,629$, $p=0,000$ és TP: $F=36,042$, $p=0,000$). A foszforformák koncentrációja mindkét medencében szignifikáns különbözött az egyes mintavételi időpontok alkalmával (Tukey post hoc teszt, $p < 0,05$).

9. táblázat Az egyes mintavételek alkalmával, a vízből és az üledék felső 0-3 cm-es rétegében vizsgált fizikai-kémiai paraméterek és azok mérési eredménye (átlag $\pm$ 1sd, $n=3$) a Balatonban

Mintavételi hely	Siófoki-medence				Keszthelyi-medence			
Mintavételi időpont	2004.11.17.	2005.05.27.	2005.08.30.	2005.11.11.	2004.11.17.	2005.05.27.	2005.08.30.	2005.11.11.
Minták kódja	B1-Ő	B1-T	B1-N	B1-Ő	B2-Ő	B2-T	B2-N	B2-Ő
Víz								
Víz hőmérséklet (°C)	5,7	23,1	23,2	9,0	4,6	22,0	23,5	9,0
pH	8,9	8,0	8,9	9,0	8,8	7,9	8,5	8,5
Vezetőképeség ($\mu S\ cm^{-1}$)	507,0	493,0	485,0	500,0	487,0	476,0	400,0	450,0
Oldott reaktív foszfor (SRP) ($\mu g\ l^{-1}$)	$2,0 \pm 0,2$	$4,3 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,6$	$4,5 \pm 0,2$	$7,3 \pm 0,6$	$7,8 \pm 0,9$	$5,7 \pm 0,4$
Összes oldott foszfor (TDP) ($\mu g\ l^{-1}$)	$5,7 \pm 0,2$	$14,4 \pm 0,0$	$12,9 \pm 0,3$	$9,4 \pm 0,9$	$12,7 \pm 0,7$	$19,3 \pm 0,4$	$29,4 \pm 0,2$	$17,0 \pm 0,3$
Összes foszfor (TP) ($\mu g\ l^{-1}$)	$18,1 \pm 0,2$	$25,4 \pm 0,2$	$22,7 \pm 0,7$	$23,8 \pm 0,4$	$30,7 \pm 2,5$	$59,5 \pm 0,1$	$71,5 \pm 0,2$	$41,6 \pm 0,7$
Üledék, intersticiális víz								
SRP ($\mu g\ l^{-1}$)	$44,3 \pm 2,6$	$100,4 \pm 4,1$	$90,6 \pm 3,2$	$60,0 \pm 2,3$	$58,6 \pm 1,6$	$161,9 \pm 2,5$	$180,2 \pm 2,7$	$73,6 \pm 2,2$
TDP ($\mu g\ l^{-1}$)	nincs adat	$181,1 \pm 5,6$	$130,3 \pm 2,1$	$84,7 \pm 3,8$	nincs adat	$271,5 \pm 3,4$	$316,8 \pm 2,8$	$110,2 \pm 4,2$

4.3.2 A baktériumközösségek csíraszama az üledék felső rétegében

A Balaton mederüledékének felső (0-3 cm-es) rétegében az aerob és fakultatív anaerob kemoorganotróf baktériumok számát lemezes telepszámlálás módszerével becsültük. A kapott csíraszám értékek átlaga Tihany térségében szignifikánsan nagyobb volt, mint Keszthelynél (ANOVA; $df=1$, $F=49,402$, $p=0,000$) (10. táblázat)

10. táblázat Telepképző egység (TKE) g^{-1} értékek a Balaton üledékének felső rétegében (0-3 cm) (átlag $\pm 1sd$, $n=3$) a tó két medencéjében 2004-2005. években

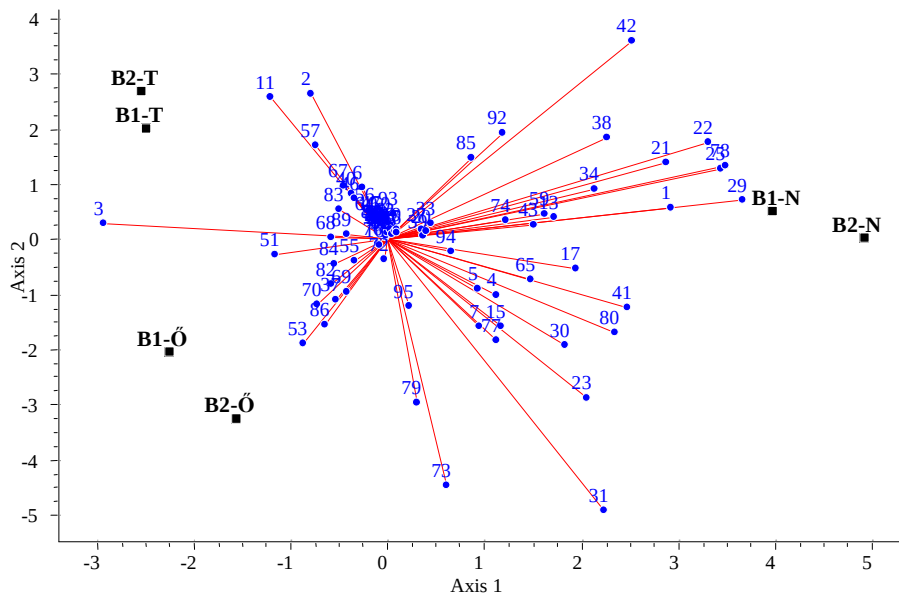
Mintavételi hely	Siófoki-medence (B1)			Keszthelyi-medence (B2)		
Mintavételi időpont	2004. 11. 17.	2005. 05. 27.	2005. 08. 30.	2004. 11. 17.	2005. 05. 27.	2005. 08. 30.
Minták kódja	B1-Ő	B1-T	B1-N	B2-Ő	B2-T	B2-N
Oligotróf táptalaj (O)	$(1,3 \pm 0,1) \times 10^4$	$(2,5 \pm 0,2) \times 10^5$	$(3,8 \pm 0,4) \times 10^4$	$(2,5 \pm 0,2) \times 10^5$	$(9,8 \pm 0,5) \times 10^5$	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^5$
DSM-1 táptalaj (D)	$(7,2 \pm 0,5) \times 10^3$	$(3,1 \pm 0,4) \times 10^5$	$(4,5 \pm 0,5) \times 10^4$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^5$	$(9,7 \pm 0,5) \times 10^5$	$(2,9 \pm 0,5) \times 10^5$
NM-1 táptalaj (N)	$(6,1 \pm 0,4) \times 10^3$	$(9,9 \pm 1,0) \times 10^4$	$(1,2 \pm 0,5) \times 10^4$	$(1,2 \pm 0,1) \times 10^5$	$(1,5 \pm 0,1) \times 10^5$	$(3,2 \pm 0,1) \times 10^5$
C táptalaj (C)	$(9,4 \pm 0,7) \times 10^3$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^5$	$(7,6 \pm 1,5) \times 10^4$	$(1,1 \pm 0,1) \times 10^5$	$(3,4 \pm 0,6) \times 10^5$	$(6,3 \pm 0,2) \times 10^5$

A Keszthelyi-medencében a négyféle táptalajon becsült csíraszám értékek átlaga ősszel közel 16-szorosa, tavasszal 2-szerese, nyáron mintegy 8-szorosa volt a Siófoki-medencében becsült értékeknek. A bentikus bakteriális csíraszám jelentős szezonális különbséget mutatott. Az egyes medencékben becsült csíraszám értékek az egyes mintavételi időpontok alkalmával is jelentősen különböztek egymástól (ANOVA, Siófoki-medence: $df=2$, $F=95,882$, $p=0,000$; Keszthelyi-medence: $F=11,258$, $p=0,000$). Mindkét medencében legnagyobb telepképző egység értékeket ($TKE\ g^{-1}$) tavasszal és nyáron, míg a legkisebb telepszámokat ősszel kaptuk. Tihany térségében a három mintavételi időpont között a csíraszámokban szignifikáns volt az eltérés (Tukey-féle többszörös összehasonlítás, $p < 0,001$). A csíraszám Keszthelynél májusban és augusztusban szignifikánsan nagyobb volt a novemberi állapothoz képest (Tukey-féle többszörös összehasonlítás, $p < 0,050$), de a tavaszi és nyári mintákban nem különbözött számottevő mértékben (Tukey-féle többszörös összehasonlítás, $p > 0,139$). A legalacsonyabb csíraszám értékeket az alacsony széntartalmú NM-1 tápagaron határoztuk meg.

4.3.3 Az üledék mikrobaközösségeinek szénforrás értékesítési vizsgálata

Az üledékfelszíni mikrobiális közösségek metabolikus tulajdonságait a BIOLOG lemezekén kapott adatsorok főkomponens analízisével, valamint a mikrobiális összaktivitás, és a hasznosított szénforrások száma alapján hasonlítottuk össze.

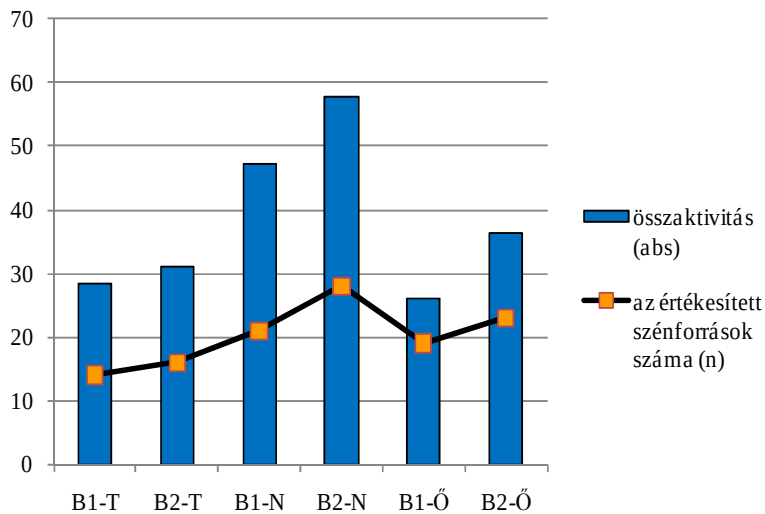
A főkomponens analízissel kapott ordinációs diagramon (14. ábra) a balatoni baktériumközösségek a mintavételi időpontok szerint csoportosultak.



14. ábra A balatoni üledékminták csoportosulása a mikrobaközösségek szénforrás értékesítési mintázata alapján (B1: Siófoki-medence, B2: Keszthelyi-medence, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

Az első főtengely mentén a nyári mikrobaközösségek (B1-N, B2-N) különültek el a többi mikrobaközösségtől (Axis<1). Az augusztusi mikrobaközösségek a felkínált szénforrások többségét nagyobb mértékben hasznosították, mint a tavaszi és őszi minták közösségei. A második főkomponens mentén egy másodlagos elkülönülés is megfigyelhető az őszi minták (B1-Ő, B2-Ő) és a tavaszi minták között (B1-T, B2-T).

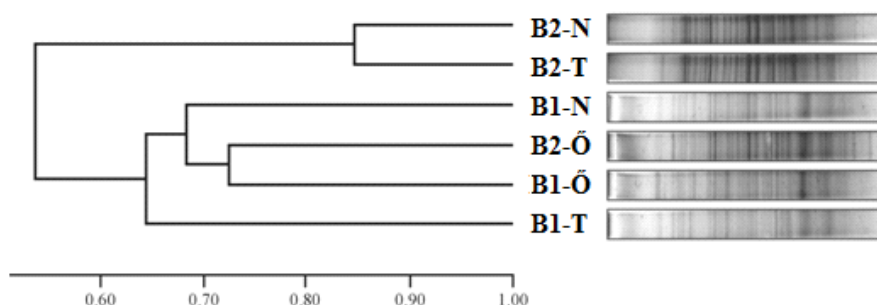
A kapott abszorbancia értékek összegét tekintve a Siófoki- és Keszthelyi-medence nyári mintáinak mikrobiális aktivitása volt a legnagyobb (15. ábra). Ősszel és nyáron a Keszthelyi-medence mikrobiális közösségeinek összaktivitása nagyobb volt, és több szénforrást hasznosítottak, mint a Siófoki-medence mikrobaközösségei. Az egyes közösségek összességében a felkínált szénforrások 14-28 %-át értékesítették. Legnagyobb arányban a polimereket hasznosították (40-60 %), az aminos és amid típusú szénforrásokat egyáltalán nem oxidálták.



15. ábra A BIOLOG szénforrás értékesítési vizsgálat eredményei alapján számított mikrobiális összaktivitási értékek és az alkalmazott szénforrások számának összehasonlítása a balatoni mintavételi helyek és időpontok függvényében (B1: Siófoki-medence, B2: Keszthelyi-medence, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

4.3.4 Az üledékben élő baktériumközösségek tenyésztéstől független diverzitás vizsgálata

A Siófoki- (B1) és a Keszthelyi-medence (B2) bentikus baktériumközösségeinek genetikai diverzitását a 2004 novemberében, 2005 májusában és augusztusában gyűjtött üledékminták DGGE sávmintázata alapján hasonlítottuk össze, amelyhez UPGMA dendrogramot szerkesztettünk (16. ábra). Az elektroforetikus csíkok száma valamennyi mintázatban közel azonos volt (B1: 35-38, B2: 37-40), és az egyes genotípusoknak megfeleltethető elektroforetikus csíkok többsége valamennyi mintában megjelent. Azonban az egyes elektroforetikus csíkok intenzitása jelentősen különbözött a gélsávokban.



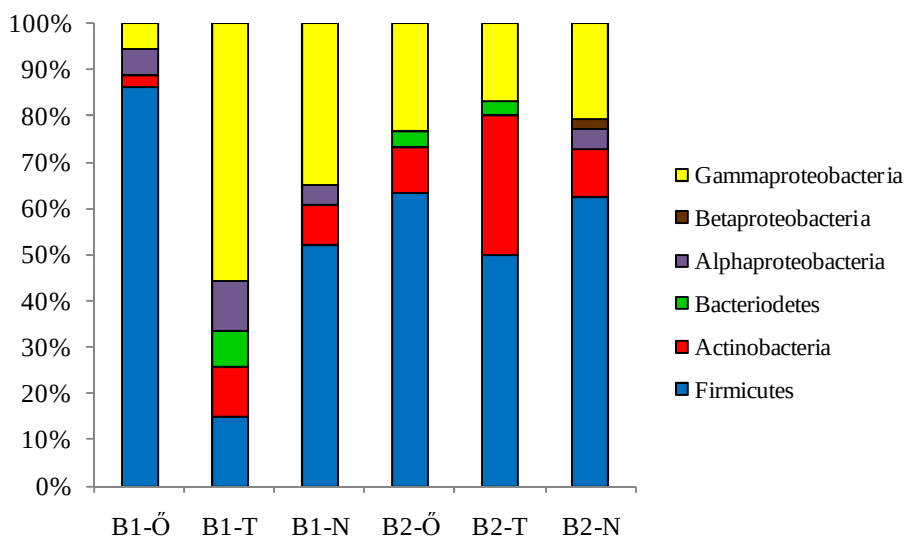
16. ábra A balatoni üledékminták DGGE sávmintázata alapján szerkesztett UPGMA dendrogram (B1: Siófoki-medence, B2: Keszthelyi-medence, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

A hasonlósági dendrogramon a Keszthelyi-medence tavaszi és nyári mintájának (B2-T és B2-N) DGGE sávmintázata mutatta a legnagyobb, 85 %-os hasonlóságot, és ez a két minta a dendrogramon egy külön csoportban jelent meg. A másik csoportot a Siófoki-medence mintái és a Keszthelyi-medence őszi mintája alkotta. A Siófoki-medence üledékében a baktériumközösségek összetétele a tavaszi és nyári mintavételi időpontok között (B1-T és B1-N) nagyobb mértékben különbözött egymástól (65 %-os hasonlóság), mint a Keszthelyi-medencében. Az eutróf és a mezotróf medencéből 2005 novemberében gyűjtött minták (B1-Ő és B2-Ő) 71 %-os egyezést mutattak.

4.3.5 A baktériumtörzsek 16S rDNS alapú filogenetikai rokonsága

A Balaton üledékéből a tenyésztethető baktériumközösségek megismerése céljából 2004 novemberében, valamint 2005 májusában és augusztusában vettünk mintákat. A Siófoki- és a Keszthelyi-medence üledékének felső 0-3 cm-es rétegéből összesen 216 (B1: 86, B2: 130) tiszta tenyészetet vizsgáltunk. A baktériumtörzseket ARDRA mintázatuk alapján csoportosítottuk, és az egyedi hasítási mintázattal rendelkező izolátumokat 16S rDNS szakaszuk bázissorrend adatai alapján azonosítottuk.

Megállapítottuk, hogy a balatoni baktériumtörzsek hat nagyobb filogenetikai csoportba tartoztak: Firmicutes (58 %); Actinobacteria (11.5 %); Bacteroidetes (2 %); Alpha- (4 %), Beta- (0.5 %) és Gammaproteobacteria (24 %) (17. ábra).



17. ábra A balatoni üledékmintákból származó baktériumtörzsek százalékos megoszlása a nagyobb filogenetikai csoportok között (B1: Siófoki-medence, B2: Keszthelyi-medence, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

A Balaton üledékének vizsgálata során összesen 63 ARDRA csoportot azonosítottunk (11. táblázat). Tíz ARDRA csoportot (az összes ARDRA csoport több mint egy hatodát) nem tudtunk faji szinten azonosítani. Mintegy 38 törzset csak nemzetség szinten (pl. 96 %-os hasonlóság a *Microbacterium testaceum*, *Sphingomonas xenophaga*, és *Serratia marcescens* fajokkal) tudtunk meghatározni. Három törzset pedig nemzetség feletti szinten tudtunk csak azonosítani (91 %-os hasonlóság a *Planococcus rifietoensis*, 94 % a *Flavobacterium succinicans*, 95 % a *Rhodobacter sphaeroides* fajok bázisszortrend adataival). A tudomány számára feltehetően új baktériumfajok képviselőit valamennyi táptalajról sikerült tenyésztésbe vonni. Összességében a legtöbb fajt (31-et) az oligotróf táptalajról, a legkevesebbet (18-at) a Heyman-féle C táptalajról kitenyésztett baktériumtörzsek között azonosítottuk.

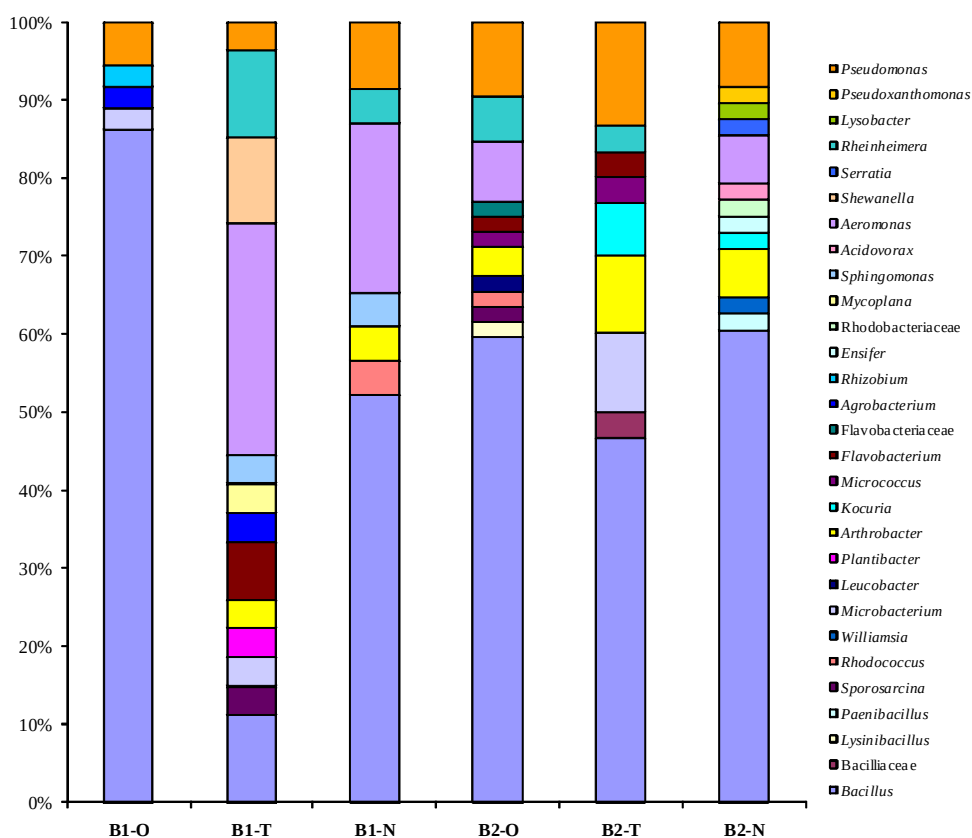
A taxonok 66 %-a a Siófoki- és a Keszthelyi-medence baktériumközösségeiben egyaránt jelent volt (11. táblázat). Mintegy másfélszer több taxont azonosítottunk a Keszthelyi-medence üledéknek vizsgálata során, mint a Siófoki-medencéből. Itt azonban meg kell jegyeznünk, hogy az eutróf medencéből mintegy másfélszer több baktériumtörzset is izoláltunk. A fajok 60 %-át mindössze egyetlen izolátum képviselte.

11. táblázat A balatoni baktériumtörzsek 16S rDNS alapú filogenetikai rokonsága, az egyes taxonokat képviselő törzsek száma, az izolálás során alkalmazott táptalaj, és a baktériumtörzsek eredete a mintavételi hely és idő szerint (B1: Siófoki-medence, B2: Keszthelyi-medence, O: oligotróf táptalaj, D: nutrient táptalaj, N: NM-1 táptalaj, C: Heyman-féle C táptalaj, EMBL: European Molecular Biology Laboratory Nucleotide Sequence Database)

Reprezentáns baktériumtörzs kódja és bázisrendszere adatainak EMBL hivatkozási száma		Legközelebbi rokon faj és a referencia bázisrendszere adatainak EMBL hivatkozási száma	Parciális 16S rDNS bázisrendszere hasonlóság	Törzsek száma	A baktériumtörzsek eredete				
					Táptalaj	Mintavételi hely	Ősz	Tavaszi	Nyári
Firmicutes									
B1-229	FM208197	<i>Bacillus pumilus</i> (AY456263)	99,8% (433/434)	56	O, D, N, C	B1, B2	+	+	+
B1-3	FM875879	<i>Bacillus idriensis</i> (AY904033)	99,3% (434/437)	16	O, D, N	B1, B2	+	+	+
B2-145	FM209204	<i>Bacillus barbaricus</i> (AY422145)	96,8% (448/463)	14	O, D, C	B1, B2	+	+	+
B1-227	FM209191	<i>Bacillus megaterium</i> (D16273)	99,3% (428/431)	7	O, D, N	B1, B2	+	+	+
B2-21	AM911014	<i>Bacillus mycoides</i> (AF155956)	99,8% (474/475)	7	O, D, C	B2	+	+	+
B1-228	FM875868	<i>Bacillus muralis</i> (AJ628748)	98,6% (425/431)	5	O, D, N	B1, B2	+	+	+
B1-57	FM208192	<i>Bacillus weihenstephanensis</i> (AB021199)	99,8% (465/466)	4	D, N, C	B1, B2	+	+	+
B2-86	AM911017	<i>Bacillus thuringiensis</i> (AF290545)	100,0% (472/472)	3	O, C	B2	+	+	+
B2-54	FM209192	<i>Bacillus drentensis</i> (AJ542506)	100,0% (388/388)	3	D, N	B2	+	-	-
B1-6	FM208187	<i>Bacillus incinus</i> (AJ583158)	99,5% (432/434)	2	O	B1	+	-	+
B1-11	FM208186	<i>Bacillus marisflavi</i> (AF483624)	99,8% (503/504)	1	O	B1	+	-	-
B2-227	AM911024	<i>Bacillus patagoniensis</i> (AY258614)	99,4% (463/466)	1	D	B2	-	-	+
B2-222	FM208208	<i>Bacillus clausii</i> (X76440)	98,6% (415/421)	1	D	B2	-	-	+
B2-2	FM208199	<i>Sporosarcina macmurdoensis</i> (AJ514408)	98,0% (443/452)	1	O	B2	+	-	+
B1-113	FM209202	<i>Sporosarcina saromensis</i> (AB243859)	98,7% (439/445)	1	D	B1	-	+	-
B2-64	FM208203	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> (DQ339678)	99,0% (402/406)	1	N	B2	+	-	-
B2-228	FM209197	<i>Paenibacillus lactis</i> (AY257868)	97,8% (451/461)	1	D	B2	-	-	+
B2-147	FM875882	<i>Planococcus rifietensis</i> (AJ493659)	91,2% (405/444)	1	C	B2	-	+	-
Actinobacteria									
B2-209	FM875875	<i>Arthrobacter pascens</i> (X80740)	98,7% (373/378)	4	O, N, C	B2	+	-	+
B2-129	FM209194	<i>Arthrobacter pascens</i> (X80740)	97,4% (339/348)	3	O, D, N	B1, B2	-	+	+
B2-201	FM209205	<i>Arthrobacter protophormiae</i> (X80745)	99,6% (452/454)	1	O	B2	-	-	+
B2-139	FM209195	<i>Arthrobacter sulfureus</i> (X83404)	97,8% (453/463)	1	C	B2	-	+	-
B1-126	FM208193	<i>Arthrobacter sulfureus</i> (X83409)	98,2% (433/441)	1	N	B1	-	+	-
B2-132	FM208206	<i>Microbacterium kitamiense</i> (AM181505)	100,0% (436/436)	2	N, C	B2	-	+	-
B2-108	AM911018	<i>Microbacterium maritimum</i> (AJ853910)	99,6% (453/455)	2	O, D	B1, B2	+	+	-
B1-117	FM209203	<i>Microbacterium testaceum</i> (X77445)	96,3% (418/434)	1	D	B1	-	+	-
B2-133	AM11022	<i>Kocuria rosea</i> (X87756)	99,8% (437/438)	3	O, N	B2	+	-	+
B2-49	AM110116	<i>Micrococcus luteus</i> (AJ536198)	99,8% (439/440)	2	D	B2	+	+	-
B1-237	FM208198	<i>Rhodococcus globularis</i> (X80619)	100,0% (435/435)	1	C	B1	-	-	+
B2-33	AM911015	<i>Rhodococcus koreensis</i> (AF124343)	98,4% (422/429)	1	D	B2	+	-	-
B2-50	FM875873	<i>Leucobacter tardus</i> (AM940158)	99,8% (438/439)	1	D	B2	+	-	-
B1-109	FM875878	<i>Plantibacter flavus</i> (AJ310417)	96,8% (438/455)	1	O	B1	-	+	-
B2-256	FM875876	<i>Williamsia muralis</i> (Y17384)	96,9% (405/418)	1	C	B2	-	-	+
Bacteroidetes									
B1-108	FM875871	<i>Flavobacterium cheniae</i> (EF407880)	100,0% (422/422)	1	O	B1	-	+	-
B2-18	AM911013	<i>Flavobacterium psychrolimae</i> (AJ585428)	99,5% (438/440)	1	O	B2	+	-	-
B1-128	FM208194	<i>Flavobacterium succinicans</i> (AM230492)	99,1% (451/455)	1	N	B1	-	+	-
B2-111	FM209193	<i>Flavobacterium psychrolimae</i> (AJ585428)	96,2% (407/423)	1	O	B2	-	+	-
B2-53	FM875881	<i>Flavobacterium succinicans</i> (AM230492)	94,3% (430/456)	1	N	B2	+	-	-
Alphaproteobacteria									
B1-145	AM911011	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (M11223)	100,0% (407/407)	2	C	B1	+	+	-
B1-235	FM209196	<i>Sphingomonas panni</i> (AJ575818)	97,6% (405/415)	1	C	B1	-	-	+
B1-105	FM209188	<i>Sphingomonas xenophaga</i> (X94098)	96,9% (412/425)	1	O	B1	-	+	-
B1-101	FM209187	<i>Mycoplasma bullata</i> (D12785)	98,6% (412/418)	1	O	B1	-	+	-
B1-46	FM208191	<i>Rhizobium huatungense</i> (AF025852)	99,8% (538/539)	1	N	B1	+	-	-
B2-243	FM209198	<i>Ensifer adhaerens</i> (AF191739)	98,8% (413/418)	1	N	B2	-	-	+
B2-240	FM875877	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> (X53853)	95,1% (387/407)	1	N	B2	-	-	+
Betaproteobacteria									
B2-252	FM209199	<i>Acidovorax defluvii</i> (Y18616)	98,6% (416/422)	1	N	B2	-	-	+
Gammaproteobacteria									
B1-231	AM911012	<i>Aeromonas veronii</i> (X74684)	100,0% (460/460)	8	O, D, N	B1, B2	+	+	+
B2-12	FM208200	<i>Aeromonas allosaccharophila</i> (S39232)	99,4% (495/498)	7	O, N	B1, B2	+	+	+
B1-147	FM208196	<i>Aeromonas sobria</i> (X74683)	100,0% (463/463)	3	O, N, C	B1	-	+	-
B1-110	FM209189	<i>Aeromonas popoffii</i> (AJ224308)	97,8% (491/502)	2	O, D	B1	-	+	-
B2-67	FM208204	<i>Pseudomonas peli</i> (AM114534)	98,3% (462/470)	9	O, D, N, C	B1, B2	+	+	+
B2-216	FM208207	<i>Pseudomonas savastanoi</i> (AB021402)	99,2% (373/376)	4	O, D	B1, B2	-	+	+
B1-17	FM208188	<i>Pseudomonas mendocina</i> (DQ178224)	100,0% (422/422)	1	D	B1	+	-	-
B1-26	FM208187	<i>Pseudomonas putida</i> (D37923)	99,0% (415/419)	1	D	B1	+	-	-
B2-122	AM911021	<i>Pseudomonas jessenii</i> (AF068259)	100,0% (428/428)	1	D	B2	-	+	-
B2-204	FM209207	<i>Pseudomonas tremiae</i> (AJ492826)	97,6% (445/456)	1	N	B2	-	+	-
B2-131	AM911020	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i> (AB009457)	97,9% (411/420)	1	C	B2	-	-	+
B2-267	FM209200	<i>Rheinheimera chironomi</i> (DQ298025)	97,2% (453/466)	7	O, N	B1, B2	+	+	+
B1-129	FM875869	<i>Rheinheimera chironomi</i> (DQ298025)	99,0% (412/416)	1	O	B2	-	+	-
B2-103	FM875870	<i>Shewanella putrefaciens</i> (X82133)	99,1% (455/459)	3	N, C	B1	-	+	-
B1-146	FM208195	<i>Pseudoxanthomonas mexicana</i> (AF273082)	100,0% (346/346)	1	O	B2	-	-	+
B2-254	FM875872	<i>Serratia marcescens</i> (AJ233431)	96,6% (401/415)	1	C	B2	-	-	+
B2-206	FM875874	<i>Lyobacter</i> sp. (DQ462462)	97,8% (450/460)	1	O	B2	-	-	+

A legalább három törzzsel képviselt fajok közül csak néhányat azonosítottunk kizárólag az egyik medencéből (B1: *Shewanella putrefaciens* és *Aeromonas sobria*; B2: *Bacillus mycoides*, *B. thuringiensis*, *B. drentensis*, *Kocuria rosea*), vagy kizárólag egy mintavételi időpontban (pl. az *Aeromonas sobria* képviselőit a tavasszal). Továbbá az egyes taxonok esetében a tenyésztéshez megfelelő táptalaj tekintetében sem tapasztaltunk kizárólagos preferenciát (11. táblázat).

A balatoni baktériumtörzsek döntő többsége a *Bacillus* (56 %), *Aeromonas* (9 %) és *Pseudomonas* (8 %) nemzetségekbe tartozott (18. ábra).



18. ábra Az egyes balatoni üledékmintákból izolált baktériumtörzsek százalékos megoszlása az azonosított nemzetségek között (B1: Siófoki-medence, B2: Keszthelyi-medence, Ó: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

A 2005 májusában a Siófoki-medence üledékéből gyűjtött minták kivételével, valamennyi minta törzsei között a *Bacillus* fajok (*B. pumilus*, *B. idriensis* és *B. barbaricus*) fordultak elő legnagyobb számban.

A Firmicutes törzsben egy-egy izolátum képviselte a *Sporosarcina macmurdoensis*, *S. saromensis*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Paenibacillus lactis* fajokkal rokon és a Planococcaceae családba tartozó szervezeteket. A mezotróf Siófoki-medence tavaszi baktériumközösségének tenyésztésen alapuló vizsgálata az *Aeromonas* fajok túlsúlyát mutatta (a mintából származó törzsek 30 %-a). Az *A. veronii* faj képviselőit főként nyáron, az *A. popoffii*, *A. sobria* fajokkal rokon törzseket pedig tavasszal izoláltuk Tihany térségéből. Az *A. allosacharophila* faj képviselői minden mintavétel alkalmával közel azonos számban szerepeltek a tenyészetek között. A *Pseudomonas* nemzetségben a *P. peli*, *P. mendocina*, *P. savastanoi*, *P. jessenii*, *P. plecoglossicida*, *P. putida* fajok képviselőit sikerült tenyésztésbe vonnunk. A Gammaproteobacteria osztályban a *Pseudomonas* és az *Aeromonas* nemzetségek képviselői mellett a *Rheinheimera*, a *Shewanella*, a *Pseudoxanthomonas*, a *Serratia* és a *Lysobacter* fajokkal rokon szervezeteket mutattunk ki. Egyetlen tenyészet képviselte a Betaproteobacteria osztályt, amelyet *Acidovorax defluvii* fajként azonosítottunk a Keszthelyi-medencéből a nyári mintavétel során. Az Alphaproteobacteria leszármazási vonalhoz tartozó *Agrobacterium*, *Sphingomonas*, *Mycoplana*, *Rhizobium*, *Ensifer* sp. és a Rhodobacteriaceae család tagjait jórészt egyedi baktériumtörzsek képviselték, amelyeket a mérsékelt szerves anyag tartalmú oligotróf, NM-1 és a Heyman féle C táptalajokról, nagyobb részt keleti medencéből izoláltunk. Hasonlóképpen az alacsony szerves anyag tartalmú oligotróf és NM-1 táptalajokról tenyésztettük ki a Bacterioidetes törzsbe tartozó szervezeteket, amelyek a legnagyobb genetikai egyezést *Flavobacterium* fajokkal mutatták. Az Actinobacteria törzsben *Rhodococcus*, *Williamsia*, *Microbacterium*, *Leucobacter*, *Plantibacter*, *Arthrobacter*, *Kocuria*, és *Micrococcus* fajokkal rokon szervezeteket határoztunk meg.

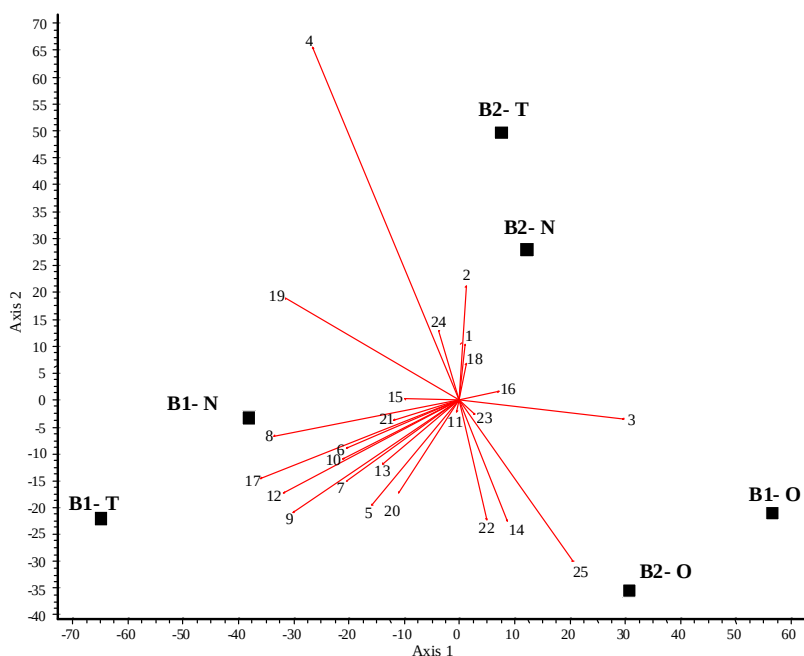
4.3.6 Az üledékből származó baktériumtörzsek fenotípusos tulajdonságai

Valamennyi, a balatoni üledékből izolált törzset sejtmorfológiai és biokémiai-életteni vizsgálatoknak vetettük alá. Az egyes törzscsoportok fenotípusos tulajdonságait (12. táblázat) főkomponens analízis segítségével hasonlítottuk össze (19. ábra).

12. táblázat A Balaton üledékéből izolált baktériumtörzsek fenotípusos tesztekben mutatott pozitív eredményeinek százalékos megoszlása az egyes törzscsoportokban (B1: Siófoki-medence, B2: Keszthelyi-medence, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

Minta	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Foszfátaktivitás	72	78	89	44	28	0	3	8	3	0	3	6	3	19	3	72	11	0	0	61	8	89	89	6	53
Neisser-festés	63	63	44	63	44	26	26	52	41	22	4	41	15	11	7	52	59	0	41	67	22	67	85	15	15
Gram-festés	78	78	61	91	52	22	22	30	22	22	4	30	22	22	30	57	39	0	30	70	30	78	87	9	30
Katalázaktivitás	58	54	69	29	40	12	8	12	8	4	4	6	8	38	8	40	23	0	6	54	23	63	88	10	35
Oxidázaktivitás	73	77	60	93	20	7	0	17	0	0	0	3	0	3	3	43	17	3	33	43	20	53	83	23	13
D-glükóz oxidatív hasznosítása (24h)	88	60	73	85	33	6	4	19	4	2	6	6	2	21	15	71	25	8	19	56	10	60	90	13	13
D-glükóz fermentatív hasznosítása (24h)																									
D-glükóz oídaív hasznosítása (1 hét)																									
D-glükóz fermentatív hasznosítása (1 hét)																									
Gáztermelés a Hugh-Leifson-tesztben																									
Ammonifikáció																									
Kénhidrogén termelése ciszteiből																									
Indol termelése triptofánból																									
Metilvörös reakció																									
Voges-Proskauer-reakció																									
Eszkulinhidrolízis																									
Nitrátból nitrit																									
Denitrifikáció																									
Nitrátból ammónia																									
Lipolitikus- (észteráz-) aktivitás																									
Keményítőhidrolízis																									
Kazeinhidrolízis																									
Zselatinhidrolízis																									
Ureázaktivitás																									
Citráthasznosítás																									

A Siófoki-medence tavaszi és nyári mintájából származó tenyészeteknél több vizsgált tulajdonság esetén kaptunk pozitív eredményt, mint a többi törzscsoportnál (19. ábra, 12. táblázat). A Siófoki-medence tavaszi és nyári törzsei a következő tesztekben jóval nagyobb arányban adtak pozitív eredményt: D-glükóz fermentatív hasznosítása, Voges-Proskauer-teszt, ciszteiből kénhidrogén-, triptofánból indoltermelés, nitrátredukció nitritig, ammóniáig. A Gram-negatív törzseket a Siófoki-medence tavaszi mintájában izoláltuk a legnagyobb arányban. A Siófoki-medence őszi mintáját a Gram-pozitív törzsek kiugróan magas aránya jellemezte. A Keszthelyi-medence őszi törzsei a citrát hasznosításával különültek el a többi törzscsoporttól. A nagy molekulájú szerves anyagok (pl. lipid, keményítő, kazein, zselatin) közül valamennyi törzscsoportban a legkisebb arányú a keményítő, a legnagyobb arányú a fehérjék hasznosítása volt. Denitrifikációt csak néhány keszthelyi törzs végzett, és az ammonifikáció is csak elvétve volt jellemző.



19. ábra A balatoni mintákból izolált törzscsoportok elkülönülése a hagyományos biokémiai élettani tesztekben mutatott pozitív eredményeik százalékos aránya alapján (B1: Siófoki-medence, B2: Keszthelyi-medence, Ó: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta, az egyes vektorok melletti számok a 12. táblázatban felsorolt fenotípusos tulajdonságnak felelnek meg.)

A fenotípusos teszteredmények alapján készült ordinációs diagramon a Siófoki-medencéből tavasszal és nyáron izolált törzscsoportok (B1-T, B1-N) az első főkomponens (Axis 1) mentén élesen elkülönültek a Siófoki-medence őszi törzseitől és a Keszthelyi-medence törzscsoportjaitól. A balatoni törzscsoportok között egyértelmű másodlagos elkülönülés is megfigyelhető. A második főkomponens mentén (Axis 2) a Keszthelyi-medence tavaszi és nyári mintájának (B2-T, B2-N) törzscsoportjai képeznek a többitől elkülönülő csoportot.

A különböző fajokba tartozó baktériumtörzsek fenotípusos tulajdonságait a 13. táblázat tartalmazza. Az alábbiakban a legalább öt törzssel képviselt nemzetségek fenotípusos tulajdonságait foglaljuk össze. A törzsek többsége az alkalmazott biokémiai-élettani tesztek többségében inaktív volt. A teszteredmények közül azokat emeljük ki, amelyekben az egyes nemzetségekbe tartozó tenyészetek legalább fele pozitív eredményt adott.

13. táblázat Az egyes fajokat képviselő baktériumtörzsek fenotípusos tulajdonságai. Az egyes tesztekben a pozitív törzsek százalékos arányát tüntettük fel (+: összes pozitív, -: összes negatív; 1,1: kokkus, 1,2:pálca, 2,2: fonalas sejtmorfológia)

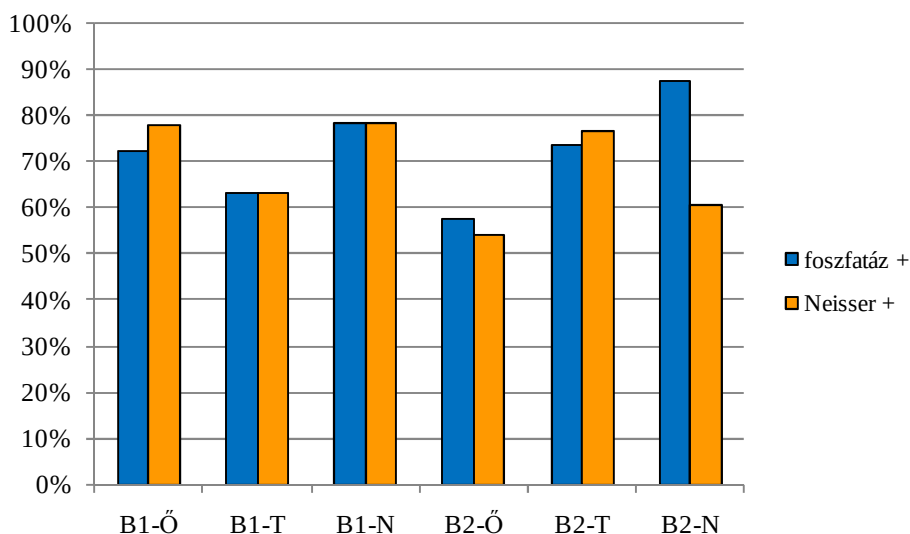
Legközelebbi rokon faj és a referencia bázisrend adatok EMBL hivatkozási száma	Parciális 16S rDNA bázisrend hasonlóság	Törzsek száma	Sejtmorfológia	Nézőcső- teszt	Enzimatikusaktivitás	Gram-férfés	Katalázaktivitás	Oxidázaktivitás	D-glukóz oxidáz: haemoxináz (24h)	D-glukóz fermentáció: haemoxináz (24h)	D-glukóz oxidáz: haemoxináz (1 hét)	D-glukóz fermentáció: haemoxináz (1 hét)	Gázermeadás a High-Lellon tesztben	Ammonifikáció	Kéldigén termelés: citrátból	Indol termelés: triptofánból	Metilbrióla reakció	Voges-Proskauer-reakció	Esculinhidrolízis	Nitritből nitrit	Dentritifikáció	Nitritből ammónia	Lipolitikus- (gázermeadás) aktivitás	Keményítőszintézis	Karotinoidszintézis	Zselatinhidrolízis	Uréázaktivitás	Citrátmetabolizmus
Firmicutes																												
<i>Bacillus pumilus</i> (AY456263)	99.8% (433/434)	56	1,2	89	77	100	88	30	-	-	-	-	4	-	-	2	-	45	21	98	-	7	93	4	98	98	-	39
<i>Bacillus idriensis</i> (AY904033)	99.3% (434/437)	16	1,2	69	31	100	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	38	-	13	19	-	88	94	-	-	-	
<i>Bacillus barbaricus</i> (AY422145)	96.8% (448/463)	14	1,2	86	29	100	57	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	64	7	-	14	7	93	100	-	-	-	
<i>Bacillus megaterium</i> (D16273)	99.3% (428/431)	7	1,2	14	100	100	43	71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	-	71	14	-	-	29	100	100	43	
<i>Bacillus pasteurianus</i> (AF155956)	99.8% (474/475)	7	1,2	14	100	100	71	57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	57	-	43	71	-	57	57	29	-	-	
<i>Bacillus mycoides</i> (AF155956)	98.6% (425/431)	5	1,2	60	80	100	60	60	-	20	60	20	-	-	-	-	-	20	20	-	60	100	20	60	100	-	-	20
<i>Bacillus weihenstephanensis</i> (AB021199)	99.8% (465/466)	4	1,2	25	100	100	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	75	50	75	100	50	50	25	100	-	-	
<i>Bacillus thuringiensis</i> (AF290545)	100.0% (472/472)	3	1,2	33	100	100	100	-	-	-	67	-	-	-	33	-	33	-	67	33	33	33	100	33	33	100	67	-
<i>Bacillus drentensis</i> (AF542506)	100.0% (388/388)	3	1,2	-	100	66	-	66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33	-	33	33	-	-	33	33	100	-	-
<i>Bacillus indicus</i> (AJ593158)	99.5% (432/434)	2	1,2	100	-	100	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	50	-	50	-	50	100	100	100	-	-
<i>Bacillus marisflavi</i> (AF483624)	99.8% (503/504)	1	1,2	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus pasteurianus</i> (AY258614)	99.4% (463/466)	1	2,2	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus clausii</i> (X76440)	98.6% (415/421)	1	1,2	100	-	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	100	100	-	-
<i>Sporosarcina macmurtreiensis</i> (AJ514408)	98.0% (443/452)	1	2,2	100	-	100	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sporosarcina saromensis</i> (AB243859)	98.7% (439/445)	1	2,2	100	-	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	100	100	-
<i>Lyobacillus fijiensis</i> (DQ339678)	99.0% (402/406)	1	1,2	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	100	-	-	-	-	-	100	100	-
<i>Pamibacillus lactis</i> (AY257868)	97.5% (451/461)	1	1,2	100	100	100	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100	-	-	100	-
<i>Planococcus rifietensis</i> (AJ493659)	91.2% (405/444)	1	2,2	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-
Actinobacteria																												
<i>Arthrobacter pascens</i> (X80740)	98.7% (373/378)	4	1,2	100	50	100	50	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	25	-	-	-	25	100	25	25	-
<i>Arthrobacter pascens</i> (X80740)	97.4% (339/348)	3	1,2	100	100	100	33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33	33	100	66	-	-	-
<i>Arthrobacter protophormiae</i> (X80745)	99.6% (452/454)	1	1,2	100	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	100	-	-
<i>Arthrobacter sulfureus</i> (X83404)	97.8% (453/463)	1	1,2	100	-	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100	-
<i>Arthrobacter sulfureus</i> (X83409)	98.2% (433/441)	1	1,2	100	-	100	100	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100
<i>Microbacterium kimimisei</i> (AM181505)	100.0% (436/436)	2	1,2	50	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	50	-	100	-	-
<i>Microbacterium maritimum</i> (AB593910)	99.8% (453/455)	2	1,2	100	50	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	50	-	-	-	-	50	50	-
<i>Microbacterium testaceum</i> (X77445)	96.3% (418/434)	1	1,2	100	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100	-	100	-	-	100	100	-
<i>Kocuria rosea</i> (X87756)	99.8% (437/438)	3	1,1	33	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	33	100	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i> (AJ536198)	99.8% (439/440)	2	1,1	-	50	100	50	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-	100	100	100	-
<i>Rhodococcus globularis</i> (X80619)	100.0% (435/435)	1	1,2	100	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-
<i>Rhodococcus korrensis</i> (AF124343)	98.4% (422/429)	1	1,2	100	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Leucobacter tardus</i> (AM040158)	99.8% (438/439)	1	1,2	100	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-
<i>Plantibacter flavus</i> (AJ310417)	96.3% (438/455)	1	1,2	100	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Williamsia muralis</i> (Y17384)	96.9% (405/418)	1	1,2	100	100	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
Bacteroidetes																												
<i>Flavobacterium chimaera</i> (EF407880)	100.0% (422/422)	1	1,2	-	100	-	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100	-
<i>Flavobacterium psychrolimnetis</i> (AJ585428)	99.5% (438/440)	1	1,2	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Flavobacterium succinicans</i> (AM230492)	99.1% (451/455)	1	1,2	-	100	-	-	-	-	-	100	100	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	100	-
<i>Flavobacterium psychrolimnetis</i> (AJ585428)	96.2% (407/423)	1	1,2	100	100	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100	-
<i>Flavobacterium succinicans</i> (AM230492)	94.3% (430/456)	1	1,2	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-
Alphaproteobacteria																												
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (M11223)	100.0% (407/407)	2	1,2	100	-	100	50	50	-	-	50	-	-	-	100	-	-	-	50	-	-	-	-	-	-	-	100	50
<i>Sphingomonas panis</i> (AJ575818)	97.6% (405/415)	1	1,2	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-
<i>Sphingomonas xenophaga</i> (X94098)	96.9% (412/425)	1	1,2	100	100	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-
<i>Mycoplana bullata</i> (D12785)	98.6% (412/418)	1	1,2	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-
<i>Rhizobium huastense</i> (AF025852)	99.8% (538/539)	1	1,2	100	-	-	100	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	100
<i>Ensifer adhaerens</i> (AF191739)	98.8% (413/418)	1	1,2	100	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100	-	-	-	100	-
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> (X53853)	95.1% (387/407)	1	1,2	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-
Betaproteobacteria																												
<i>Acidovorax defluvii</i> (Y18616)	98.6% (416/422)	1	1,2	-	100	100	100	-	-	-	100	-	-	-	100	-	-	100	-	100	100	-	-	100	100	100	100	-
Gammaproteobacteria																												
<i>Aeromonas veronii</i> (X74684)	100.0% (460/460)	8	1,2	63	100	25	75	63	88	88	88	63	13	75	13	63	38	100	-	38	100	100	-	38	88	88	100	-
<i>Aeromonas allosaccharophila</i> (S59232)	99.4% (495/498)	7	1,2	71	43	14	43	57	100	100	100	57	-	71	86	57	29	57	86	-	71	100	29	100	100	100	100	43
<i>Aeromonas sobria</i> (X74683)	100.0% (463/463)	3	1,2	67	-	-	67	33	67	67	100	100	100	-	67	-	67	-	33	67	-	33	100	33	100	100	100	33
<i>Aeromonas popoffii</i> (AJ224308)	97.8% (491/502)	2	1,2	100	-	100	100	100	100	100	100	100	100	-	100	-	100	-	100	-	100	100	100	100	100	100	100	-
<i>Pseudomonas peli</i> (AM114534)	98.3% (462/470)	9	1,2	33	67	-	33	44	33	-	56	-	-	-	-	-	-	-	-	11	22	22	56	-	44	67	89	
<i>Pseudomonas savatensis</i> (AB021402)	99.2% (373/376)	4	1,2	50	75	-	100	50	25	-	75	-	-	-	25	-	-	-	-	-	25	50	25	-	50	75	100	-
<i>Pseudomonas mendocina</i> (DQ178224)	100.0% (422/422)	1	1,2	-	100	-	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	100	-	100	-	-	100	-
<i>Pseudomonas putida</i> (D37923)	99.0% (415/419)	1	1,2	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas jessenii</i> (AF068259)	100.0% (428/428)	1	1,2	100	100	-	100	100	-																			

A *Bacillus* nemzetségbe tartozó baktériumtörzseket (összesen 120 törzs) a nagyarányú fehérje-, lipid- és eszkuinhasznosítás jellemezte. Fermentatív aktivitást mutattak a *B. muralis* törzsek a Hugh-Leifson tesztben, a *B. indicus* és a *B. pumilus* tenyészetek a metilvörös és Voges-Proskauer reakcióban. Számos törzs redukálta a nitrátot nitritig és ammóniáig, a *B. weihenstephanensis* és a *B. thuringiensis* fajokba tartozó törzsek pedig denitrifikációt végeztek. A 25 nem-fermentatív Gram-pozitív Actinobacteria törzs közül 10 az *Arthrobacter* nemzetségbe tartozott, amelyek zselatináz- és ureázaktivitást mutattak. A Gram-negatív pálcika alakú *Flavobacterium* fajokat mindössze öt törzs képviselte, és a zselatin hidrolízisét vizsgáló tesztben adtak nagy arányban pozitív eredményt. A többi nemzetséghez képest az *Aeromonas* fajokat képviselő 20 törzs esetében tapasztaltuk a legnagyobb fokú metabolikus sokszínűséget: erőteljes gázképzéssel kísért fermentatív cukorhasznosítás és nitrátredukció jellemezte a tenyészeteket. A ciszteint kénhidrogén, a triptofánt indol termeléssel hasznosították. A nem-fermentatív Gram-negatív *Pseudomonas* törzsek (összesen 18 törzs) pozitív oxidáz reakcióval és a citrát hasznosítása által különböztek el a többitől. A *Rheinheimera chironomii* fajjal legnagyobb genetikai egyezést mutató 8 tenyészetet az eszkuin és a biopolimerek bontása jellemezte. Az *Aeromonas* nemzetség képviselői mellett a *Rheinheimera* fajok mutattak nagyarányú amilázaktivitást.

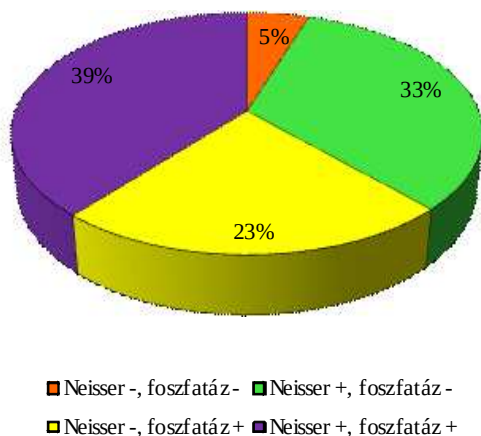
4.3.7 A baktériumtörzsek foszforforgalommal kapcsolatos vizsgálatának eredményei

A tenyészeteken a polifoszfát felhalmozását Neisser-festéssel vizsgáltuk. A törzsek legalább fele valamennyi mintában foszfatázaktivitást mutatott és/vagy polifoszfátot halmozott fel (20. ábra).

A balatoni tenyészetek mintegy harmada mind a foszfatáz teszt, mind a Neisser-festés során pozitív eredményt adott (21. ábra). A törzsek további harmada polifoszfát felhalmozására képes, de szerves foszforvegyületet nem hasznosító szervezet volt. A törzsek közel egynegyede kizárólag foszfatázaktivitást mutatott. Az összes baktériumtörzs mindössze 5%-ánál sem foszfatázaktivitást, sem polifoszfát-felhalmozást nem figyeltünk meg.

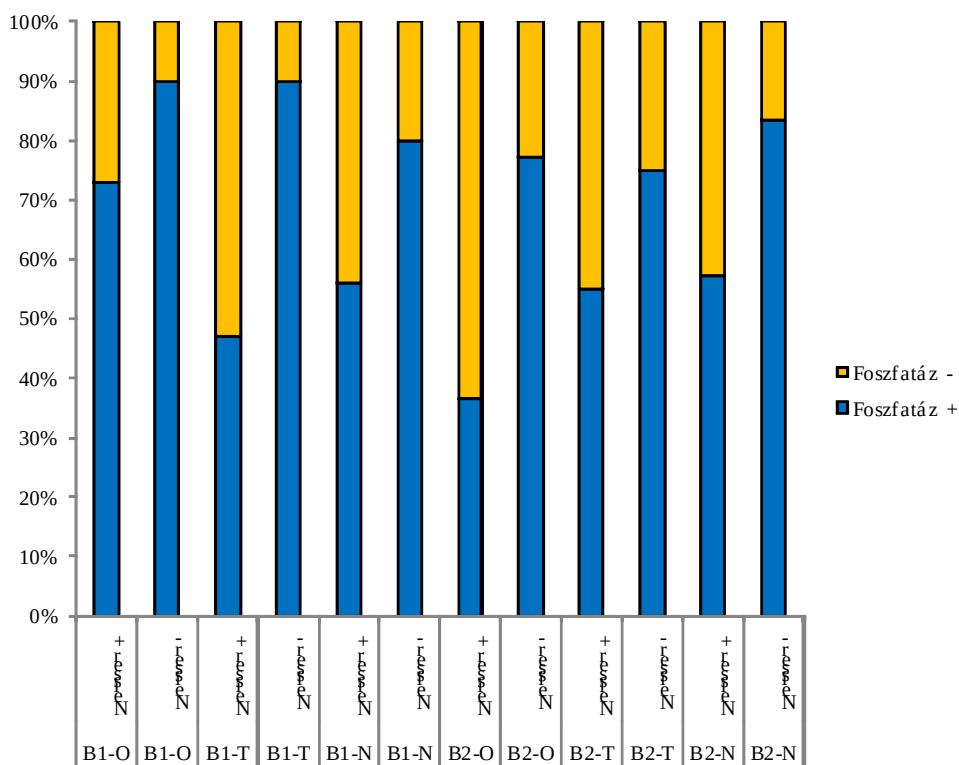


20. ábra A foszfatázaktivitást mutató és polifoszfátot felhalmozó baktériumtörzsek százalékos aránya az egyes balatoni törzscsoportokban (B1: Siófoki-medence, B2: Keszthelyi-medence, Ő: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)



21. ábra A foszfor körforgalommal kapcsolatos vizsgálatok összesített eredményei a Balatonból kitenyészített baktériumtörzsek esetében

Valamennyi törzscsoport esetében a polifoszfátraktárral nem rendelkező törzsek jelentősen nagyobb arányban hasznosították a külső foszforforrást (22. ábra), mint azok, amelyek polifoszfátot halmoztak fel.



22. ábra A foszfátáz teszt eredményeinek százalékos megoszlása a Neisser-festés során pozitív illetve negatív eredményt adó baktériumtörzsek körében az egyes minták szerint (B1: Siófoki-medence, B2: Keszthelyi-medence, Ö: őszi minta, T: tavaszi minta, N: nyári minta)

A Firmicutes törzsbe tartozó tenyészetek többsége polifoszfátot halmozott fel (13. táblázat). A *Bacillus* nemzetségbe sorolt szervezetek 67 %-a volt Neisser-pozitív. Az Actinobacteria törzs képviselői között az *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Rhodococcus*, *Leucobacter*, *Plantibacter* és *Williamsia* nemzetségek tagjai tartalmaztak metakromatikus granulumokat. Az alfa-proteobaktériumokhoz tartozó fajokat jórészt egyedi izolátumok képviselték, a *Mycoplana bullata* kivételével valamennyi faj esetében pozitív volt a Neisser reakció. A gamma-proteobaktériumok közül a *Rheinheimera*, a *Shewanella*, a *Pseudomonas* és az *Aeromonas* nemzetségekbe tartozó törzsek halmozottak fel polifoszfátot, de az egyes nemzetségek tagjai viszonylag alacsony arányban (<50 %) adtak pozitív eredményt a Neisser-festés során. A *Pseudomonas* törzsek mintegy 33 %-a rendelkezett

polifoszfátraktárral. A gamma-proteobaktériumok körében kivételt képeztek az *Aeromonas* nemzetség képviselői, amelyek 70 %-a Neisser-pozitív volt. A béta-proteobaktériumok osztályát képviselő egyetlen tenyészet Neisser-negatív volt. A *Flavobacterium* nemzetségbe sorolt szervezetek variábilis eredményt adtak a Neisser-festés során.

4.4 A Balatonból származó üledékminták vizsgálati eredményeinek értékelése

4.4.1 A víz- és az üledékminták foszfortartalma

Az OECD (Organization for Economic Co-Operation and Development) minősítés szerint (Vollenweider és Kerekes, 1982) a vízmintákban mért TP koncentrációk alapján 2004-2005. években a Siófoki-medence mezotróf, a Keszthelyi-medence eutróf állapotú volt. A TP koncentrációkhoz hasonlóan az általunk mért oldott foszforformák (SRP és TDP) koncentrációja is nagyobb volt a Keszthelyi-medence vizében és üledékében, mint a Siófoki-medencében valamennyi mintavételi időpontban. A Balatonon végzett korábbi vizsgálatok is, a Siófoki-medencéhez képest, a Keszthelyi-medence vizének és üledékének nagyobb foszfor koncentrációjáról számolnak be (Istvánovics, 1993; Tátrai et al., 2008).

4.4.2 A baktériumközösségek csíraszám az üledék felső rétegében

Megállapítottuk, hogy a Siófoki- és Keszthelyi medence üledékében a kemoorganotróf baktériumok csíraszám jelentősen különbözik egymástól. A kemoorganotróf baktériumok telepszám nagyobb volt az eutróf, mint a mezotróf medencében. Korábban Reskóné és munkatársai (2006) is nagyobb csíraszám értékeket mutattak ki a Keszthelyi-medence üledékében, mint a Siófoki-medencében. Irodalmi adatok szerint számos abiotikus és biotikus tényező befolyásolhatja a tavi üledékben a baktériumszámot, többek között a vízmélység, a hőmérséklet, az üledékszemcsék mérete, az üledék szerves anyag tartalma és a szerves anyagok minősége (C:N aránya) (Sander és Kalff, 1993; Schallenberg és Kalff, 1993; Goedkopp et al., 1997; Törnblom és Rydin, 1997). Ugyanakkor a bentikus baktériumok mennyisége nem feltétlenül korrelál a trofitással, például a víz klorofill-*a* koncentrációjával (Maasen et al., 2003; Wobus et al., 2003), mert az autochton szerves anyagok túlnyomó részét a bakterioplankton hasznosítja, így a bentikus baktériumközösségek nagyságát inkább az allochton szerves anyagok mennyisége határozza meg (Currie, 1990; Giorgio és Cole, 1998; Eiler et al., 2003). Ezek alapján feltehetően az allochton szervesanyag-terhelésnek tudható be, hogy a sekély Balatonban a Keszthelyi-medence üledékében találtunk nagyobb telepszámot összehasonlítva a Siófoki medencével ott, ahol nagyobb a külső szervesanyag-terhelés (Istvánovics, 1993; Reskóné et al., 2006).

Az intersticiális víz SRP és TDP koncentrációja és a csíraszám értékek között a Keszthelyi-medence és a Siófoki-medence esetében sem

találtunk szoros összefüggést. Annak háttérében, hogy novemberben Keszthely és Tihany térségében közel egy nagyságrenddel kisebb telepszámokat kaptunk nagy valószínűséggel a hőmérséklet csökkenése áll. Vízi és vizes élőhelyeket tekintve jól ismert, hogy a hőmérséklet erőteljesen befolyásolja a bakteriális sejtszámot és biomasszát (White et al., 1991; MacGregor et al., 2001; Agarwal és Rajwar, 2010).

4.4.3 Az üledék mikrobaközösségeinek metabolikus ujjlenyomata

A BIOLOG szénforrás hasznosítási vizsgálat eredményei alapján a balatoni baktériumközösségek elsősorban mintavételi időpont szerint csoportosultak. Az irodalmi adatokkal ellentétben, amelyek a mikrobiális aktivitás és a hőmérséklet között szoros összefüggést mutatnak (White et al., 1991; Shiah és Ducklow, 1994; Giorgio és Cole, 1998; Christian és Lind, 2007), az őszi minták mikrobiális aktivitása nem csökkent a tavaszi mintákéhoz képest, sőt a Keszthelyi-medence esetében magasabb is volt. Ennek háttérében az állt, hogy az őszi közösségek a polimereket nagyobb arányban értékesítették, mint a többi mikrobaközösség. A nyári minták nagy összaktivitását elsősorban a szénhidrátok intenzívebb hasznosítása magyarázza. Ez alapján feltehetően a szerves anyagok minősége is jelentősen befolyásolhatja a mikrobaközösségek aktivitását, ahogy azt korábban vízi ökoszisztémák vizsgálata során igazolták (Karner et al., 1992; Bott és Kaplan, 1995; Hoppe et al., 1998). Mindazonáltal mivel nem rendelkezünk adatokkal az üledék szerves anyag tartalmát és azok minőségét illetően ennek igazolására mindenképpen további vizsgálatokra van szükség.

Az eutróf medence bentikus mikrobaközösségei ősszel és nyáron nagyobb összaktivitást mutattak és több szénforrást hasznosítottak, mint a mezotróf medence mikrobaközösségei, míg tavasszal e szempontok szerint a két mintavételi hely hasonló volt. A csíraszám értékekben 2005 tavaszán volt a legkisebb a különbség a két mintavételi hely között, míg 2005 nyarán a tavaszi állapothoz képest négyszer nagyobb volt a különbség a telepszám értékekben a két medence között. Ezek alapján a mikrobiális aktivitás nagyságát a szerves anyagok mellett feltehetően a baktériumszám is befolyásolja (Friedrich et al., 1999).

4.4.4 Az üledékben élő baktériumközösségek molekuláris ujjlenyomata

A DGGE vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a Balaton két medencéjében a bentikus baktériumközösségek diverzitása (fajgazdagsága) nem különbözik. Ezzel megegyezően Wobus és munkatársai (2003) eltérő trofitású vízterek üledékének vizsgálatakor azt tapasztalták, hogy a trofitás fokával a genotípusos sokféleség nem változik, de az eltérő trofikus állapotú vízterekben filogenetikailag különböző összetételű baktériumközösségek

vannak jelen. A bentikus baktériumközösségek szerkezete tavasszal és nyáron eltérő, ősszel hasonló volt a Balaton két medencéjében. Szezonálisan főként a közösségalkotó szervezetek aránya változott.

A Keszthelyi-medence baktériumközösségének szerkezete tavasszal és nyáron nagymértékben megegyezett. Ősszel azonban az eutróf medence baktériumközösségének összetétele jelentősen eltért a tavaszi és nyáron tapasztalt állapotokhoz képest, és hasonlónak vált a mezotróf medence közösségeihez. Ennek hátterében feltehetően az áll, hogy az üledéket ősszel kisebb tápanyag-terhelés éri, amelyet vizsgálataink során a tavasszal és nyáron tapasztalt értékekhez képest ősszel kisebb foszforkoncentrációk jeleztek az üledékben és a vízben egyaránt. A mintákat reprezentáló gelsávokban a csíkok száma azonban a novemberi mintákban sem csökkent, ami arra utal, hogy a Balaton üledékében az évnek ebben a szakaszában is fajgazdag baktériumközösségek voltak jelen. Ezeket a közösségeket feltehetően hidegkedvelő és/vagy hidegtűrő baktériumfajok alkotják. A Siófoki-medence bentikus baktériumközössége nagymértékű szezonális átrendeződést mutatott a tavaszi és nyári időszakban is. A legjobban a Siófoki-medence molekuláris ujjlenyomata különbözött a többi mintától. Ezt az eredményt később a tenyésztési vizsgálatok is alátámasztották, hiszen egyedül ebben a mintában tapasztaltuk a *Gammaproteobacteria* baktériumtörzsek dominanciáját a tenyészetek között.

4.4.5 A tenyésztésen alapuló vizsgálatok eredményeinek értékelése

A mederüledék tenyésztésen alapuló bakteriális diverzitás vizsgálata során a Keszthelyi-medencéből több faj/nemzetséget határoztunk meg, mint a Siófoki-medencéből, ami eltért a tenyésztéstől független vizsgálatok során kapott eredményektől. Ma már jól ismert tény, hogy bármely természetes élőhelyen a jelenlévő, és metabolikusan aktív baktériumközösségeket alkotó fajoknak csak töredéke tenyésztethető (becslések szerint mindössze 0,1-10 %-a). A tenyésztési eredmények alapján az egyes fajok *in situ* abundanciája közvetlenül nem becsülhető (Amann et al., 1998; Spring et al., 2000; Bussmann et al., 2001). Ezért a baktériumközösségek filogenetikai sokféleségéről pontosabb képet kaphatunk a tenyésztéstől független molekuláris biológiai eljárások, így például az esetünkben alkalmazott DGGE módszer segítségével (Felske et al., 1999; Hugenholtz et al., 1998; Rappé és Giovannoni, 2003). Annak egyik oka, hogy az eutróf Keszthelyi-medencében fajgazdagabb közösségek jelenlétét tükrözték a tenyésztési vizsgálatok valószínűleg az, hogy mintegy másfélszer több törzset vizsgáltunk a Keszthelyi-, mint a Siófoki-medence esetében. Erre utal az is, hogy a nagyobb törzsszámmal képviselt taxonokat általában mindkét medence üledékéből kimutattuk.

Mindazonáltal a molekuláris biológiai technikák más-más módon és mértékben, mint a tenyésztési eljárások, de ugyancsak szelektívek, például a DNS izolálás vagy az alkalmazott primerek egyes baktériumcsoportokra nézve eltérő hatékonysága miatt (Vallaes et al., 1997; Wintzingerode et al., 1997; Sipos et al., 2007). A hagyományos tenyésztésen alapuló eljárások továbbra is alapvető fontossággal bírnak a mikrobiális ökológiai kutatásokban, hiszen csak általuk nyílik lehetőségünk az adott élőhelyen előforduló baktériumok metabolikus és fiziológiai tulajdonságainak, és ez által az életközösségekben betöltött szerepének megismerésére (Nealson, 1997; Tamaki et al., 2005; Smit et al., 2001).

A tenyésztésen alapuló vizsgálatok során a Balaton üledékéből számos, a tudomány számára potenciálisan új fajt képviselő szervezetet sikerült tenyésztésbe vonnunk. A választott táptalajok tehát alkalmasak voltak a laboratóriumi feltételekhez nehezen alkalmazkodó szervezetek tenyésztésére is. Összességében az oligotróf táptalaj bizonyult a leghatékonyabbnak a balatoni bentikus baktériumközösségek tenyésztésére, mert a legtöbb fajt erről a táptalajról azonosítottuk. A csökkentett foszfor tartalmú C táptalaj bizonyult a legszelektívebbnek.

A balatoni törzsek között legtöbb tenyésztettel képviselt *Bacillus*, *Aeromonas* és *Pseudomonas* fajok közönséges előfordulásuk vízi és vizes élőhelyeken, valamint a talajban egyaránt (Monfort és Baleux, 1990; Nealson, 1997; Felske et al., 1999; Ivanova et al., 2001; Tamaki et al., 2005; Joshi et al., 2008). Az *Aeromonas* és *Bacillus* fajok jelenlétét korábban a Balaton üledékében és vízében is kimutatták (Tóth, 1996; Langó et al., 2002; Reskóné et al., 2006). *Bacillus*, *Aeromonas* és *Pseudomonas* fajok széleskörű elterjedését sokoldalú metabolikus képességeik teszik lehetővé. A tenyésztés körülményeivel és a tápanyagok minőségével szemben meglehetősen igénytelen szervezetek (Felske et al., 1999; Tamaki et al., 2005).

Langó (1987) a *Bacillus* nemzetségbe tartozó spóráképző szervezetek előfordulását a Balaton parti hordalékban és Tihany térségében a víztestben vizsgálta. Eredményei alapján a *Bacillus* nemzetség képviselői a nyílt vízben csak sporadikusan, a tóparti hordalékban azonban nagy számban voltak jelen. A Gram-pozitív *Bacillus* fajok spórás állapotban szárazság esetén, szélsőséges hőmérsékleti, illetve pH értékeknél képesek megőrizni életképességüket, nagymértékben ellenállóak a káros besugárzással és a különböző kémiai ágensekkel szemben (Slepecky és Hemphill, 1999). Édesvízi tavakban a tipikusan mezofil *Aeromonas* fajok az üledék mellett a bakterioplanktonban is közönségesek (LeChevallier et al., 1982; Monfort és Baleux, 1990; Rhodes és Kator, 1994). Vizsgálataink során *Aeromonas* nemzetségbe tartozó baktériumtörzseket legkisebb arányban az őszi mintákból izoláltunk. *A. veronii* törzseket főként nyáron, *A. popoffii*, és *A. sobria* fajokként azonosított törzseket tavasszal tenyésztettük ki Tihany

térségéből. Az *A. allosacharophila* törzsek közel egyenlő arányban kerültek elő valamennyi mintavételi időpontban, ami arra utal, hogy ez a faj talán jobban tolerálja az alacsonyabb hőmérsékleti értékeket. Korábbi vizsgálatok során Tóth (1996) a Balaton bakterioplanktonjában előforduló *Aeromonas* fajok abundanciájában szintén szezonális különbségeket mutatott ki. Rhodes és Kator szerint (1994) az *Aeromonas* szervezetek gyakorisága, valamint a foszfát, a nitrogén, a szerves anyagok és a klorofill-*a* koncentráció növekedése között egyenes arányosság, míg az oldott oxigén vonatkozásában fordított arányosság figyelhető meg, ezért az *Aeromonas* fajok abundanciáját a víz trofikus állapotát jelző biológiai indikátorként is javasolták. Más szerzők adatai alapján az *Aeromonas* fajok előfordulása és a vízterek trofikus állapota között nincs szoros összefüggés, és a nemzetség tagjainak elterjedését a hőmérséklet mellett egyéb vízkémiai tényezők (pl. az ammónium-ion koncentrációja) határozzák meg (Monfort és Baleux, 1990). Ezt mutatja az is, hogy *Aeromonas* fajok a legkülönbébb táp- és szerves anyag koncentrációkkal jellemezhető vizekben jelen vannak, az ivóvizektől kezdve a szennyvizekig (LeChevallier et al., 1982; Jørgensen és Pauli, 1995; Brandi et al., 1999; Kersters et al., 1996).

A Balaton üledékében a *Bacillus* és *Aeromonas* fajok fontos szerepet tölthetnek be a nagy molekulájú szerves anyagok (pl. cellulóz, keményítő, fehérjék) lebontásában extracelluláris enzimeiknek köszönhetően (Nealson, 1997; Borsodi és Sallai, 1998). Ezt jól tükrözi, hogy a *Bacillus* és *Aeromonas* törzsek fenotípusos vizsgálata során nagyarányú fehérje-, keményítő- és lipidhasznosítást tapasztaltunk. Egyes *Bacillus* fajok és az *Aeromonas* fajok többsége anoxikus viszonyok között fermentatív anyagcserére is képesek (Nealson, 1997). A balatoni *Bacillus* tenyészetek inkább lassú vegyes savas fermentációt végeztek (*B. indicus*, *B. pumilus*), az *Aeromonas* törzsek körében a D-glükóz bontását vizsgáló Hugh-Leifson tesztben is intenzív fermentatív aktivitást tapasztaltunk. Vizsgálataink során a fermentatív és nitrátredukáló *Aeromonas* tenyészetek többségét Tihany térségéből izoláltuk. Ez összhangban áll Reskóné és munkatársainak (2006) eredményeivel, akik a szigorúan anaerob szulfátredukáló baktériumok nagyobb gyakorisága alapján a Siófoki-medence üledékének felső rétegében oxigénhiányos viszonyokat jeleztek.

Valamennyi üledékmintában jelen voltak a szigorúan respiratórikus anyagcseréjű *Pseudomonas* nemzetség képviselői, melyek között irodalmi adatok alapján hidegtűrő szervezetek is előfordulnak (Smit et al., 2001). A *Pseudomonas* fajok a biopolimerek bontására rendszerint nem képesek, de az oldott szerves anyagok széles skáláját képesek hasznosítani. Ezt a fenotípusos vizsgálatok során a glükóz oxidatív hasznosítása jelezte, de a törzsek összességében meglehetősen inaktívak voltak a biokémiai-élettani tesztekben. Egyes *Pseudomonas* fajok, mint az általunk is tenyésztésbe vont

P. putida, irodalmi adatok alapján a mikrobiális lebontó tevékenységnek nagymértékben ellenálló aromás vegyületek (pl. fenol származékok) hasznosítására is képesek (Spanggard et al., 1991; Wand et al., 1997). A fentiek mellett a *Bacillus*, *Aeromonas* és *Pseudomonas* fajoknak fontos szerepe lehet a tó nitrogén körforgalmában is, amit a disszimilatórikus nitrátredukcióban kapott pozitív reakciók nagy aránya mutatott.

A *Rheinheimera chironomii* fajt elsőként Chironomida lárvák petéiről izolálták (Halpern, et al., 2007). Az árvaszúnyog lárvák a Balaton makrobentoszának is uralkodó szervezetei (Dévai, 1990; Specziár, 2008), ezért a *Rheinheimera chironomii* faj képviselőinek előfordulása a Balaton mederüledékében nem lehet véletlen. A *Shewanella putrefaciens* fajhoz tartozó szervezetek az oxigén alacsony parciális nyomása mellett alternatív elektronakceptorokat (nitrát-, vas-, mangán- és szulfát-ionokat) használhatnak. Ennek következtében fontos szerepet tölthetnek be a vas, a mangán és a kén biogeokémiai ciklusában, és ezáltal hozzájárulhatnak az üledékben rekedt foszfor felszabadításához is (Widdel és Pfenning, 1992; Vogel et al., 1997). Vizsgálataink során a *Shewanella* tenyészetek nitrátredukáló képességét mi is igazoltuk.

Az egyedi tenyészetekkel képviselt Alphaproteobacteria fajok többségét korábban növény-asszociált (*Rhizobium huautlense*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Ensifer adhaerens*) (Wang és Martínez-Romero, 2000), teresztrikus és vízi/vizes élőhelyekről írták le (*Sphingomonas spp.*, *Mycoplana bullata*) (Long et al., 2009).

A nagy G+C tartalmú Gram-pozitív baktériumok (Actinobacteria) a talajok és vízi ökoszisztémák jellegzetes kolonizálói (Felske et al., 1999; Warnecke, et al., 2004; Tamaki et al., 2005). Míg a Firmicutes fajok döntően az üledékre jellemzőek, addig az Actinobacteria csoport az üledékben és a pelágikus régióban is jelentős hányadát teszi ki a vízi ökoszisztémák bakteriális közösségeinek (Nold és Zwart, 1998). A Balaton vízében korábban a Siófoki-medencében az *Arthrobacter* és a *Micrococcus* fajok jelenlétét mutatták ki (Tóth, 1996). Irodalmi adatok alapján (Hertkorn et al., 2002) az *Arthrobacter* és *Rhodobacter* fajok az üledék felső, oxigénben gazdag rétegében speciális szerepet tölthetnek be a huminanyagok lebontásában.

Tenyésztéstől független módszerekkel végzett vizsgálatok alapján a vízi ökoszisztémákban igen gyakoriak a Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroidetes (CFB) filogenetikai csoportba tartozó szervezetek (Kirchman, 2002; O'Sullivan, et al., 2002; Nercissian et al., 2005). A csoport – mivel tagjainak többsége speciális tenyésztési feltételeket igényel – kevés leírt fajjal rendelkezik (Jooste és Hugo, 1999). A Bacterioidetes törzset a balatoni mederüledék vizsgálata során csak kevés tenyészet képviselte, amelyek közül kettő feltehetően a tudomány számára új faj tagja. A CFB szervezetek

az üledékben és a pelágikus régióban főként formált szerves anyagokhoz kötődnek (Nold és Zwart, 1998). A balatoni törzsek a nagy molekulájú szerves anyagok közül elsősorban a fehérjéket hasznosították.

4.4.6 A baktériumtörzsek foszforforgalmi szerepe

A Neisser-festés eredményei alapján a balatoni üledékben a tenyésztethető aerob heterotróf szervezetek többsége képes a polifoszfátot felhalmozni. Eredményeink alátámasztják a korábbi vizsgálatok eredményeit, amelyek a tavi üledékben lévő polifoszfát mérésével indirekt módon, illetve a bentikus közösségekben előforduló polifoszfát kimutatásával pedig közvetlenül is igazolták a polifoszfátot felhalmozó szervezetek széleskörű elterjedését (Uhlmann és Bauer, 1988; Khosmanesh et al., 2002; Hupfer et al., 2007; Gloess et al., 2008). Az egyes balatoni mintákból származó törzscsoportokban a polifoszfátot felhalmozó és foszfátázaktivitást mutató törzsek aránya a trofikus állapottal és az egyes foszforformák koncentrációjával nem mutatott közvetlen összefüggést.

A polifoszfátraktárak funkcionális szerepét tekintve feltételeztük, hogy amennyiben a polifoszfátraktárak a bentikus közösségekben az eleveniszaphoz hasonlóan energiaforrásként szolgálnak, akkor a baktériumtörzsek foszfátázaktivitása és a Neisser-festés eredményei között nem tapasztalunk szoros összefüggést. Ezzel ellentétben azonban, ha a polifoszfáttartalék foszfátraktárként működik, akkor a tenyészetek foszfátázaktivitása és polifoszfát felhalmozása között inverz összefüggés állhat fenn.

Eredményeink alapján a Balatonban élő és tenyésztethető bentikus baktériumok nagy hányada képes a szerves foszforvegyületek hidrolízisére és a polifoszfát felhalmozására is (a foszfátáz tesztben és a Neisser-festés során egyaránt pozitív törzsek). Azok a törzsek azonban, amelyek polifoszfátot nem halmoztak fel, jelentősen nagyobb arányban voltak aktívak a foszfátáz tesztben, mint a polifoszfátraktárral rendelkező tenyészetek. A balatoni üledékben élő baktériumközösségek számára tehát a polifoszfátraktárak nem vagy nem kizárólag energiaforrásként, hanem foszfáttartalékként is szolgálnak. Azok a baktériumok, amelyek a szerves foszforvegyületeket nem hasznosítják, de polifoszfátot felhalmoznak, valószínűleg közvetlenül ortofoszfátot asszimilálnak, hasonlóan az eleveniszapban zajló biológiai foszfátkötéshez. Édesvízi tavakban a pelágikus és a bentikus heterotróf baktériumközösségekre is a foszfát intenzív felvétele jellemző (Cotner és Wetzels, 1992; Gächter és Meyer, 1993; Kirchman, 1994). Istvánovics és munkatársai (1993) laboratóriumi kísérletben bizonyították, hogy a Balaton üledékében a baktériumközösségek több foszfátot asszimilálnak az anorganikus foszfátkészletből, mint az ülepedő szerves anyagból. Az üledéklakó mikrobák számára tehát előnyt

jelenthet, ha a jó tápanyag ellátottságú időszakban felvett foszfátot polifoszfát formájában elraktározzák, és foszfátban szegény körülmények esetén a raktározott foszforkészletüket hasznosítják. Ez az alkalmazkodás hasonló a planktonikus mikroorganizmusok (pl. cianobaktériumok) foszfor anyagcseréjéhez, amelyek foszforéheztetés után polifoszfátot halmoznak fel akkor, amikor a külső foszfátkoncentráció megnő (Jacobson és Halmann; 1982; Bolier et al., 1992; Eixler et al., 2006).

Az üledéklakó polifoszfátot felhalmozó mikroorganizmusok filogenetikai vizsgálatát tudomásunk szerint eddig összesen két kutatás célozta meg. A szennyvíziszapokban gyakran domináns előfordulását polifoszfátot felhalmozó *Rhodocyclus* fajok (Betaproteobacteria) a nyolc tó bevonásával végzett vizsgálatok alapján az üledékben átlagosan az összes baktériumszámnak az 1 %-át tették ki (Gloess et al., 2007). A Balaton üledékében a Betaproteobacteria csoportban az *Acidovorax* sp. jelenlétét mutattuk ki. Schulze és munkatársai (1999) fluoreszcens in situ hibridizáció segítségével az *Acidovorax* nemzetség dominanciáját tapasztalták eleveniszap mintákban, és munkájuk során írták le az *Acidovorax defluvii* fajt, amit a keszthelyi mintából mi is kimutattunk. A faj egyetlen balatoni képviselőjénél ezzel szemben nem tapasztaltuk a polifoszfát felhalmozását. Itt is meg kell jegyeznünk, hogy a munkánk során számos fajt egyetlen törzs képviselt, így azok foszforforgalmi szerepét illetően még további vizsgálatokra lenne szükség.

Gloess és munkatársai (2008) munkája alapján a tavi üledékekben jelentős számban voltak jelen az Actinobacteria és Alphaproteobacteria polifoszfátot felhalmozó szervezetei. A Balaton üledékéből származó tenyészték körében az Alphaproteobacteria, Actinobacteria mellett a Firmicutes törzs is nagy arányban tartalmazott a polifoszfát felhalmozására képes szervezeteket, így ennek a csoportnak a tagjai is lényeges szerepet tölthetnek be az üledékek biogén eredetű foszfát visszatartásában. Bár gyakran a CFB csoport képviselői is jelentős arányban vannak jelen a szennyvíziszapokat benépesítő mikrobiális közösségekben (Kawaharasaki, 1999; Seviour et al., 2003), mégis szerepük a biológiai foszformentesítésben elhanyagolható, mert csekély mértékben képesek felhalmozni a polifoszfátot (Liu et al., 2001). A Balatonból összesen 5, a *Flavobacterium* nemzetségbe sorolható tenyésztet vizsgáltunk, amelyekből 3 esetben figyeltük meg metakromatikus granulumok jelenlétét.

Bacillus, *Aeromonas* és *Pseudomonas* fajokba sorolt polifoszfátot felhalmozó szervezeteket korábban szennyvíziszapokból is kimutattak (Jørgensen és Pauli, 1995; Barak és van Rijn, 2000; Seviour et al., 2003). Eredményeink alapján a Balaton üledékében a közönséges előfordulású *Bacillus* és *Aeromonas* fajok jelentős szerepet tölthetnek be a biológiai eredetű foszfor visszatartásában, bár az azonos nemzetségbe tartozó fajok

különböző mértékben képesek a polifoszfát felhalmozására, amint ezt a *Bacillus* fajok esetében mi is tapasztaltunk. Tavi üledékből származó *Pseudomonas* törzssel Waara és munkatársai (1993) végeztek kísérleteket, amelyben nagymértékű aerob foszfát asszimilációt tapasztaltak. Waara és munkatársai (1993) megállapításával szemben, a Balatonban a *Pseudomonas* fajok szerepe feltehetően nem jelentős a bentikus foszfát visszatartásban, mivel ezek a szervezetek foszfátigényüket a szerves anyagok lebontása révén fedezik. Ennek a látszólagos ellentmondásnak az egyik lehetséges magyarázata az, hogy a *Pseudomonas* fajok polifoszfáttartalékot jellemzően csak nagy külső foszfátkoncentráció mellett képeznek (ami Waara és munkatársai kísérletében rendelkezésre állt, és az eleveniszapokra is jellemző), de foszfátban szegény viszonyok esetén (mint a balatoni üledék) nem.

5 Összefoglalás

Munkámat jelentősen eltérő hidrológiai tulajdonságokkal jellemezhető sekély vízterekben, két hipertróf kiskunsági szikes kistavon (Kelemen-szék és Böddi-szék) és a Balaton mezotróf Siófoki- és eutróf Keszthelyi-medencéjében végeztem. Céлом az üledékfelszíni baktériumközösségek aktivitásának, szerkezetének, az aerob kemoorganotróf szervezetek csíraszámának, faji hovatartozásának és a közösségben betöltött szerepének megismerése volt, különös tekintettel a bentikus baktériumok foszforforgalmi szerepére.

A vizsgálatokhoz 2004 októbere és 2005 novembere között vettünk mintákat. Az üledék felső (0-3 cm-es) rétegében a baktériumok csíraszámát lemezes telepszámlálás módszerével becsültem. A mikrobaközösségek szerkezetében és aktivitásában megnyilvánuló különbségeket közvetlen szénforrás hasznosítási vizsgálattal (BIOLOG) és molekuláris biológiai ujjlenyomat módszerrel (DGGE) követtem nyomon. Az aerob kemoorganotróf szervezeteket 16S rDNS bázissorrend elemzéssel azonosítottam, és metabolikus képességeiket hagyományos biokémiai-élettani vizsgálatokkal jellemeztem.

A vizsgálatok eredményeit – a célkitűzéseimre visszautalva – az alábbi pontokban foglalom össze:

1. A hipertróf szikes kistavak üledékében az aerob kemoorganotróf baktériumok csíraszám értékei nagyságrendileg nagyobbak voltak, mint a Balaton eutróf és mezotróf medencéjében. Eredményeink és irodalmi adatok alapján a sekély kiskunsági székek üledékének felső rétegében kapott a csíraszám értékek (10^5 - 10^6 TKE g^{-1}) nagyságrendileg a szikes tavak vizében jellemző csíraszám értékeknek feleltek meg. A közösségi szénforrás hasznosítási és molekuláris diverzitás vizsgálatok eredményeitől eltérően, a Kelemen-székben és a Böddi-székben az üledékfelszíni aerob csíraszám értékek nem korreláltak sem a víz hőmérséklettel, sem a vezetőképességgel, a tenyészthető baktériumszám szezonálisan kevésbé változott. A mezotróf Siófoki- és az eutróf Keszthelyi medence üledékében a kemoorganotróf baktériumok csíraszámuk jelentősen különbözött egymástól. A kemoorganotróf baktériumok telepszáma nagyobb volt az eutróf (10^5 nagyságrendű TKE g^{-1} értékek), mint a mezotróf (10^3 - 10^5 TKE g^{-1}) medencében. Ősszel Keszthely és Tihany térségében is lényegesen kisebb telepszámokat kaptunk, nagy valószínűséggel a hőmérséklet csökkenése miatt.

2. A BIOLOG szénforrás hasznosítási vizsgálat eredményei alapján a kiskunsági szikes kistavakban a mikrobaközösségek metabolikus aktivitását a csökkenő hőmérséklet és a növekvő szalinitás is negatívan befolyásolta. Kelemen-székben és a Böddi-székben az üledékfelszíni mikrobaközösségek többnyire az alacsonyabb összaktivitással jellemezhető állapotok során is a szénforrások közel azonos hányadát hasznosították, tehát az üledékben a mikrobaközösségek metabolikus potenciálja nem, hanem a különböző szénforrások hasznosításának mértéke változott.

A Siófoki- és Keszthelyi-medence bentikus mikrobaközösségei szénforrás hasznosítási vizsgálat során a mintavételi időpontok szerint csoportosultak. Az őszi minták mikrobiális aktivitása nem csökkent a tavaszi mintákéhoz képest, ennek hátterében az állt, hogy az őszi közösségek a polimereket nagyobb arányban értékesítették, mint a többi mikrobaközösség. Ez alapján feltehetően a szerves anyagok minősége is jelentősen befolyásolhatja a mikrobaközösségek aktivitását. Az eutróf medence bentikus mikrobaközösségei ősszel és nyáron nagyobb összaktivitás mutattak és több szénforrást hasznosítottak, mint a mezotróf medence mikrobaközösségei, míg tavasszal – amikor a csíraszám értékekben a legkisebb a különbség a két medence között – e szempontok szerint a két mintavételi hely hasonló volt. Ezek alapján a mikrobiális aktivitás nagyságát a szerves anyagok mellett feltehetően a baktériumszám is befolyásolja.

3. Annak ellenére, hogy a kiskunsági és a balatoni mintavételi helyek alapvetően különböznek egymástól, mégis rendelkeznek néhány hasonló tulajdonsággal. Szezonális mintavételeink alapján megállapíthatjuk, hogy a csökkenő környezeti hőmérséklet a kiskunsági szikes kistavakban és a Balatonban is erőteljesen befolyásolta az üledék felső rétegében élő baktériumközösségek szerkezetét. Ősszel a Kelemen-szék és a Böddi-szék, valamint a Siófoki- és a Keszthelyi-medence üledékfelszíni baktériumközösségei is hasonlóvá váltak a filogenetikai szerkezetük alapján. Tavasszal és nyáron a mintavételi területeket jellemző eltérő környezeti feltételek – a szikes vízterekben elsősorban a sótartalom, a Balatonban az eltérő trofitás – hatása jobban érvényesült, ezáltal az üledékfelszíni mikrobaközösségek szerkezete elkülönült egymástól. Szezonálisan nem a közösségek összetétele, hanem a közösségalkotó szervezetek aránya változott.

4. A kiskunsági üledékminták felső rétegéből összesen 279, a Balatonból 216 tiszta tenyészetet vizsgáltunk. A baktériumtörzseket a Firmicutes, az Actinobacteria, a Bacteroidetes, az Alphaproteobacteria és a Gammaproteobacteria csoportok tagjaiként azonosítottuk. A Betaproteobacteria osztályt egyetlen keszthelyi tenyészet képviselte.

A kiskunsági kistavak üledékéből főként sós szikes élőhelyekre jellemző alkalofil vagy alkalitoleráns és halotoleráns vagy halofil fajokkal

rokon szervezetek, míg a Balaton üledékéből főleg édesvízi ökoszisztémákban gyakori, neutrofil fajok jelenlétét igazoltuk. Egyetlen minta kivételével, valamennyi üledékminta esetén a *Bacillus* nemzetség képviselői voltak jelen legnagyobb arányban a tenyészetek között. A Siófoki-medencében tavasszal legnagyobb arányban az *Aeromonas* nemzetség képviselőit izoláltuk. A szikes kistavak és a Balaton üledékében található baktériumközösségekben egyaránt kimutattuk továbbá a *Pseudomonas*, a *Sporosarcina*, a *Microbacterium*, az *Arthrobacter* és az *Agrobacterium* nemzetségek képviselőit. Az eltérő fiziko-kémiai sajátosságokkal jellemezhető mintavételi területekről származó minták faji összetétele csekély mértékű átfedést (*Bacillus cereus*, *B. pumilus*, *B. drentesis*, *Pseudomonas peli*, *Kocuria rosea*, *Microbacterium kitamiense*) mutatott. A Balaton üledékéből közel kétszer annyi (összesen 63) fajt/nemzetséget mutattunk ki, mint a Kelemen-szék és a Böddi-szék üledékéből (összesen 35). Ez az eredmény összhangban áll azon vizsgálatok eredményeivel, amelyek eltérő kémhatású és sókoncentrációjú természetes környezetek bakteriális diverzitását hasonlították össze, és azt tapasztalták, hogy a kémhatás és a sótartalom emelkedésével párhuzamosan a baktériumközösségek sokfélesége csökken és az édes és sós vizes élőhelyek diverzitása között kismértékű átfedés van (Crump et al., 2004; Fierer and Jackson, 2006; Wu et al., 2006; Pagaling et al., 2009). Mindkét élőhelyről több a tudomány számára feltehetően új baktériumfajok képviselőjét sikerült tenyésztésbe vonnunk.

A baktériumtörzsek a nagy molekulájú szerves vegyületek hasznosításának kivételével az alkalmazott biokémiai tesztekben általában inaktívak voltak. Például a *Bacillus* fajok extracelluláris enzimeikkel mindkét élőhelyen fontos szerepet töltenek be a nagymolekulájú szerves anyagok lebontásában. A fajok kis hányadánál figyeltünk meg fakultatív anaerob anyagcserét, fermentációt (pl. *Bacillus*, *Aeromonas* spp.) vagy nitrátredukciót (pl. *Pseudomonas* sp.).

5. A kiskunsági és a balatoni üledéklakó baktériumok foszforforgalomban betöltött szerepe különbözött. A hipertróf szikes vízterekből származó tenyészetek a szerves foszforvegyületeket kisebb arányban értékesítették, mint a foszfor limitált balatoni szervezetek. Mindkét mintavételi területen a baktériumtörzsek többsége polifoszfátot halmozott fel, tehát a polifoszfát raktározása az édesvízű és a szikes vizes élőhelyeken is verseny előnyt jelenthet az üledékfelszíni baktériumok számára. A polifoszfátraktárak fiziológiai szerepe azonban feltehetően eltérő, míg a szikes kistavakban a különleges környezeti feltételekhez (pH és sótartalom) való alkalmazkodást segítheti, a balatoni szervezetek számára elsősorban foszforraktárként szolgál. A polifoszfát-felhalmozás képessége a különböző filogenetikai csoportokba (Firmicutes, Actinobacteria, Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria) tartozó baktériumtörzsekre egyaránt jellemző volt.

Nemzetségeken belül, az egyes baktériumfajokba tartozó szervezetek polifoszfátot felhalmozó képessége különbözhet, ezt például a *Bacillus* fajok esetében tapasztaltuk, melyek (egyéb fenotípusos vizsgálatokban is) jelentős különbségeket mutattak.

A kiskunsági szikes tavak és a Balaton üledékében a baktériumközösségek diverzitásának vizsgálati eredményei is tükrözik azt a mikrobiális ökológiai kutatásokban jól ismert problémát, miszerint az alkalmazott módszerek szelektív hatása miatt a különféle megközelítésekkel kapott eredmények között gyakran kismértékű egyezés figyelhető meg (Suzuki és Giovannioni 1996; Felske et al., 1999). Ilyen ismert szelektív tényezők lehetnek a tenyésztésnél, pl. az alkalmazott tápközeg összetétele, vagy a tenyésztési körülmények, a tenyésztéstől független, molekuláris módszereknél, pl. a DNS izolálás, vagy a PCR hatékonysága. Ezek alapján további tenyésztéstől független DNS és RNS alapú vizsgálatok (pl. fluoreszcens *in situ* hibridizáció, klónkönyvtár létrehozása) segíthetnének átfogóbb képet adni az üledékben élő baktériumközösségek diverzitásáról és aktivitásáról, továbbá a közösségalkotó szervezetek arányának változásáról.

6 English summary

6.1 Introduction and main objectives

Soda lakes are saline and alkaline aquatic environments, which are of great importance all over the world due to their unique geological, hydrological and ecological characteristics (Grant, 1992; Sorokin et al., 2003; Ma et al., 2004). Soda lakes belong to the most productive natural habitats on Earth and contain dense populations of aerobic chemo-organotrophic alkaliphilic and halophilic bacteria (Duckworth et al., 1996; Jones et al., 1998; Doronina et al., 2003). Comparing to soda lakes situated elsewhere, such environments of the Carpathian basin can be characterized by relatively low salt content and high pH values. Kelemen-szék and Böddi-szék located in Kiskunság National Park (KNP) are hypetrophic, particularly shallow, astatic alkaline environments (Dévai et al., 2001; Boros és Vörös, 2010; Váradi és Fehér, 2010).

Lake Balaton is the largest (surface area: 600 km²) shallow (mean depth: 3.2 m) lake in Central Europe, and is internationally recognized for its ecological and recreational value, as well as for the success of efforts to halt and reverse its eutrophication (Malmaleus & Håkanson, 2004; Jeppessen et al., 2005). The unique morphometry, flow regime, and uneven nutrient loading of the lake led to the development of a sharp gradient in trophic conditions along its longitudinal axis, with nutrient concentrations decreasing from west to east (Herodek, 1984). Today, as a result of restoration efforts ongoing since the early 1980s, the physico-chemical and biotic gradients are less extreme, though they still exist (Padisák & Reynolds, 1998; V-Balogh et al., 2003; Tátrai et al., 2008). At the time of our samplings, the conditions in the western basin were eutrophic, whereas those in the eastern basin were mesotrophic.

Although a strong coupling between the deposition of organic material and bacterial production has been shown for lake sediments in laboratory experiments (Sander & Kalff, 1993; Törnblom & Rydin, 1997), little is known about how the trophic state of the overlying water affects the activity, density and composition of sediment bacterial communities in aquatic environments (Maasen et al., 2003; Wobus et al., 2003).

Microbially-mediated biogeochemical transformations at the sediment-water interface influence largely the nutrient availability in the overlying waters (Nealson, 1997; Spring et al., 2000; Tamaki et al., 2005). Sediment-derived phosphorus loading following reduction of external nutrient loading often replenishes the phosphorus pool in the water and

delays lake re-oligotrophication. This is also well indicated by the fact that after the drastic decrease of external nutrient loading from the 1980's, the annual mean biomass of algae decreased significantly only after about one decade delay in Lake Balaton (Padisák és Reynolds, 1998; Istvánovics et al., 2007).

Sediment bacteria play a key role in organic phosphorus mineralization and the release of P from the sediment, both directly and indirectly (Gächter & Meyer, 1993; Nealson, 1997). It has been shown that several aerobic chemo-organotrophic bacteria take up P in great amounts and accumulate it within the cell as polyphosphate (Jørgensen & Pauli, 1995; Kawaharasaki et al., 1999; Seviour et al., 2003). Polyphosphate accumulating organisms can use polyphosphate as an energy source under anaerobic conditions, coupled with the release of orthophosphate (Mino et al., 1998; Jenkins & Tandoi, 1991). Polyphosphate accumulates can also serve as P reserve for bacteria readily available when inorganic nutrients become limiting (McDignum et al., 2005; Eixler et al., 2006). It is thought that fluctuations in redox conditions at the sediment–water interface may favor polyphosphate storing heterotrophic bacteria, and that bacterial polyphosphate accumulation may significantly affect the nutrient availability in the water column (Uhlmann & Bauer, 1988; Gächter et al., 1988; Davelaar, 1993). However, information on the phylogeny, abundance and ecological role of polyphosphate accumulating bacteria in natural sediments remains scarce (Waara et al., 1993; Hupfer et al., 2007).

On the basis of these, I focused my research on sediment microbial communities of two soda lakes located in Kiskunság National Park (Kelemen-szék és Böddi-szék) and two basins of Lake Balaton with contrasting trophic regimes and I assigned the following main objectives:

1. to assess the spatial and temporal differences in colony counts of aerobic chemo-organotrophic bacteria;
2. to characterize the temporal variability of microbial carbon source utilization patterns using BIOLOG GN microplates in four sites with contrasting trophic regimes;
3. to characterize the seasonal and temporal changes in the structure of benthic bacterial communities using cultivation independent method (Denaturing Gradient Gelelectrophoresis, DGGE);
4. to identify the cultivable aerobic chemo-organotrophic bacteria and to assess their metabolic features,
5. to identify the cultivable polyphosphate accumulating organisms and to assess the physiological role of bacterial polyphosphate storage in the sediment with parallel characterization of the phosphatase activity of bacterial strains.

6.2 Results and discussion

Sediment samples were taken seasonally from the upper 0-3 cm of the sediment regions. The sampling dates were October 2004 (cultivation), May 2005 (BIOLOG, DGGE cultivation,), May 2005 (BIOLOG, DGGE), August 2005 (cultivation), November 2005 (BIOLOG, DGGE) for KNP and November 2004 (cultivation), May 2005 (cultivation, DGGE), August 2005 (cultivation, DGGE), November 2005 (DGGE) for Lake Balaton.

1. Our results showed that the abundance of cultivable aerobic chemo-organotrophic bacteria differ between sites exhibiting different trophic conditions, with the highest numbers in the hypertrophic soda lakes and the lowest in the mesotrophic Siófok-basin. Viable counts in sediment of soda lakes were comparable with colony counts in the water of soda lakes located elsewhere. Seasonal changes in colony counts were not characteristic in soda lakes. The bacterial abundance did not correlate with the temperature and the conductivity. Abundance of cultivable aerobic chemo-organotrophic bacteria significantly differed between two basins exhibiting different trophic conditions in Lake Balaton in each season. The lowest viable counts were observed in autumn and the highest in spring and summer months in both basins, which showed that decreasing temperature had strong effect on benthic bacterial abundance in Lake Balaton.

2. In Kelemen-szék and Böddi-szék, carbon sources utilization patterns of sediment microbial communities were similar in autumn and distinct in spring and summer months. Microbial activity was affected negatively by declining temperature and increasing conductivity in soda lakes. In most cases similar numbers of carbon sources were utilized by sediment microbial communities in all season, but the intensity of utilization changed. On the basis of their metabolic profile microbial communities of Siófoki- and Keszthely-basin grouped according to the sampling dates. The sum of microbial activities did not decrease in autumn, and utilization of different types of carbon sources varied remarkably seasonally. Microbial activity was probably affected by quality of organic carbon and the colony counts of benthic bacteria in Lake Balaton, but further investigations are needed to prove these correlations.

3. The DGGE profiles revealed that sediment bacterial communities of the two soda lakes and the two basins of Lake Balaton are similar in autumn and could be distinguished in spring and summer months. Thus the temperature had strong effect on sediment bacterial diversity and site specific environmental factors – like contrasting conductivity and trophic – resulted distinctive community structure in warm periods. In most cases, similar band richness suggested similarly diverse community composition in

all the samples and seasonally not the composition of the communities rather than the abundance of different genotypes changed.

4. A total of 279 (KNP) and 216 (Lake Balaton) bacterial strains were isolated after serial dilutions and plating onto six different media. All strains were subjected to Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA). Representatives from each unique ARDRA fingerprint group were chosen and subjected to partial sequencing of small subunit rDNA.

The isolates were affiliated with six major bacterial lineages: Firmicutes (KNP: 78 %, Lake Balaton: 58 %); Actinobacteria (KNP: 13 %, Lake Balaton: 11.5 %); Bacteroidetes (KNP: 1 %, Lake Balaton: 2 %); Alpha- (KNP: 4 %, Lake Balaton: 4 %), Beta- (Lake Balaton: 0.5 %) and Gammaproteobacteria (KNP: 5 %, Lake Balaton: 24 %). Betaproteobacteria was represented by a single strain isolated from the Keszthely-basin. Strains related to *Bacillus* sp. were most abundant in all but one sample. Isolates affiliated with *Aeromonas* sp. prevailed in the sample taken from the Siófok-basin in spring. Altogether 35 and 63 taxa were identified from the sediment of soda lakes and Lake Balaton, respectively. Presence of aerobic, chemo-organotrophic species adapted to saline and/or alkaline habitats (alkalitolerant or alkaliphilic and halotolerant or halophilic species) was proven with cultivation dependent methods of the soda lakes (in genera *Bacillus*, *Jeotgalibacillus*, *Planococcus*, *Sporosarcina*, *Microbacterium*, *Nesterenkonia*, *Kocuria*, *Arthrobacter*, *Dietzia*, *Belliella*, *Paracoccus*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Halomonas* and *Arsukibacterium*). Most of the strains isolated from Lake Balaton were identified as closest relatives of neutrophilic species (in genera *Bacillus*, *Sporosarcina*, *Lysinibacillus*, *Paenibacillus*, *Arthrobacter*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Leucobacter*, *Plantibacter*, *Williamsia*, *Flavobacterium*, *Agrobacterium*, *Sphingomonas*, *Mycoplana*, *Rhizobium*, *Ensifer*, *Acidovorax*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Rheinheimera*, *Shewanella*, *Pseudoxanthomonas*, *Serratia*, *Lysobacter*). Among the taxa represented by at least three isolates, only a few were cultivated exclusively from one soda lake or one basin of lake Balaton. Several members of potentially new species were also isolated. *Pseudomonas*, *Sporosarcina*, *Microbacterium*, *Kocuria*, *Arthrobacter* and *Agrobacterium* spp. were cultivated from the soda lakes as well as Lake Balaton. Only a few species were identified from KNP and well as from Lake Balaton (*Bacillus cereus*, *B. pumilus*, *B. drentesis*, *Pseudomonas peli*, *Kocuria rosea*, *Microbacterium kitamiense*).

The isolates were fairly inactive in most of the conventional biochemical and physiological probes. Several strains were able to decompose large organic compounds, especially the proteinase activity was widespread- e.g. *Bacillus* species play important role in the degradation of polymers. Facultative anaerobe activity, like fermentation (e.g. *Aeromonas*

sp.) and nitrate reduction (e.g. *Pseudomonas* sp.) were observed only on few isolates.

5. The presence of polyphosphate accumulates was tested using Neisser staining, and phosphatase activity was investigated on organic phosphorus compound. The majority of the strains from each samples (KNP: 56 %, Lake Balaton: 66 %) showed excess polyphosphate accumulation. There was no clear association between the Neisser staining and phosphatase activity test results in the case of soda lakes isolates. Polyphosphate probably helps in the adaption of sediment bacteria to the special environmental conditions (pH and salinity) featuring the soda lakes. Characteristically lower rates of strains hydrolyzed the organic phosphorus compound in the case of the hypertrophic soda lakes than in the case of Lake Balaton. Association of Neisser staining and phosphatase activity test results suggested that excess polyphosphate accumulation serves as phosphorus storage for sediment bacteria in Lake Balaton. Our results indicate that excess polyphosphate storage can provide a selective advantage as phosphorus reserve for benthic bacteria in well-aerated sediment. Thus bacterial polyphosphate probably acts primarily as a sink for the nutrient and not significantly contributes to the internal phosphorus load in Lake Balaton. Our study implied that polyphosphate accumulation is widespread among the members of Firmicutes, Actinobacteria, Alphaproteobacteria and Gammaproteobacteria. Phosphorus metabolism of species related to a single genus can vary remarkably, e.g. we experienced remarkable differences in polyphosphate accumulating potential of *Bacillus* species.

7 Köszönetnyilvánítás

Elsőként szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, akik nélkül ez a dolgozat nem készülhetett volna el:

Dr. Borsodi Andreának, a kitűnő szakmai vezetésen, bátorításon és ösztökélésen túl a kitartásáért és türelméért,

Dr. Tátrai Istvánnak, akitől rengeteget tanultam szakmailag és emberileg is, biztatásáért és türelméért,

Prof. Dr. Dévai Györgynek, aki végig egyengette utamat a doktori képzés és eljárás során, és szakmailag is nagyban segítette a munkámat.

Köszönettel tartozom továbbá:

Prof. Dr. Márialigeti Károly tanszékvezető úrnak, hogy az ELTE Mikrobiológiai Tanszéken dolgozhattam,

Khayer Bernadettnek és Rusznyák Annának, akik számtalanszor nyújtottak segítő kezet,

a Debreceni Egyetem Hidrobiológia Tanszék, a Balatoni Limnológiai Kutatóintézet, és az ELTE Mikrobiológiai Tanszék mindenkori dolgozóinak, szakdolgozóinak és doktoranduszainak, akikhez bármikor fordulhattam segítségért,

és végül, de nem utolsósorban köszönöm családomnak, barátaimnak és Varga Balázsnak a nélkülözhetetlen támogatást, segítséget és háttérrel, és hogy végig rendületlenül biztattak a munkámban.

8 Felhasznált irodalom

- Agarwal, A. K., Rajwar, G. S. (2010): Physico-chemical and microbiological study of Tehri dam reservoir, Garhwal Himalaya. India. *Journal of American Science* 6: 65-71.
- Altschul, S., Madden, T., Schaffer, A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D. (1997): Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucl. Acids Res.* 25: 3389-3402.
- Amann, R., Lemmer, H., Wagner, M. (1998): Monitoring the community structure of wastewater treatment plants: a comparison of old and new techniques. *FEMS Microbiology Ecology* 25: 205-215.
- Arun, A. B., Young, C., Chen, W., Hung, M., Lai, W., Chou, J., Rekha, P. D., Shen, F., Su, S. P. (2009): *Belliella pelovolcani* sp. nov., isolated from a mud-volcano in Taiwan. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 2534-2537.
- Barak, Y., van Rijn, J. (2000): Relationship between nitrite reduction and active phosphate uptake in the phosphate-accumulating denitrifier *Pseudomonas* sp. Strain JR 12. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 5236-5240.
- Barik, S. K., Purushothaman, C. S., Mohanty, A. N. (2001): Phosphatase activity with reference to bacteria and phosphorus in tropical freshwater aquaculture pond systems. *Aquaculture Research* 32: 819-832.
- Barrow, G.I., Feltham, R.K.A. (2003): Cowan and Steels's manual for the identification of medical bacteria. Cambridge University Press, Cambridge.
- Benlloch, S., López-López, A., Casamayor, E. O., Øvreås, L., Goddard, V., Daae, F. L., Smerdon, G., Massana, R., Joint, I., Thingstad, F., Pedrós-Alió, C., Rodríguez-Valera, F. (2002): Prokaryotic genetic diversity throughout the salinity gradient of a coastal solar saltern. *Environmental Microbiology* 4: 349-360.
- Berry, A., Janssens, D., Humbelin, M., Jore, J. P. M., Hoste, B., Cleenwerck, I., Vancanneyt, M., Bretzel, W., Mayer, A. F., Lopez-Ulibarri, R., Shanmugam, B., Swings, J., Pasamontes, L. (2003): *Paracoccus zeaxanthinifaciens* sp. nov., a zeaxanthin-producing bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 53: 231-238.
- Bolier, G., Koningh, M. C. J., Schmale, J. C., Donze, M. (1992): Differential luxury phosphate response of planktonic algae to phosphorus removal. *Hydrobiologia* 243-244: 113-118.
- Boros, E. (1999): A magyarországi szikes tavak és vizek ökológiai

- értékelése. Acta Biol. Debr. Oecol. Hung. 9: 13-80.
- Boros, E. (2000): Vonuló parti madarak (Charadriiformes) speciális táplálékkínálata szikes vizekben. Hidr. Közl. 81: 332-333.
- Boros, E., Vörös, L. (2010): A magyarországi szikes tavak sótartalma és ionösszetétele. Acta Biologica Debrecina 22: 37-52.
- Borsodi A., Sallai K. (1998): Alkalofil *Bacillus*ok szerepe a Fertő szervesanyag lebontási folyamataiban. Hidrol. Közl. 78: 306-308.
- Borsodi, A. K., Vladár, P., Cech, G., Gedeon, G., Beszteri, B., Micsinai, A., Reskóné, M. N., and Márialigeti, K. (2003): Bacterial activities in the sediment of Lake Velencei, Hungary. Hydrobiologia 506-509, 721-728.
- Borsodi, A., Vladár, P., Rusznyák, A., Szabó, G., Sipos, R. & Márialigeti, K. (2005): Tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független molekuláris biológiai vizsgálatok a Kiskunsági NP szikes tavainak baktériumközösségein. Hidrológiai Közlemények 85: 23-25.
- Borsodi, A. K., Marialigeti, K., Szabo, G., Palatinszky, M., Pollak, B., Keki, Z., Kovacs, A. L., Schumann, P., Toth, E. M. (2008): *Bacillus aurantiacus* sp. nov., an alkaliphilic and moderately halophilic bacterium isolated from Hungarian soda lakes. Int J Syst Evol Microbiol 58: 845-851.
- Borsodi, A. K., Pollak, B., Keki, Z., Rusznyak, A., Kovacs, A. L., Sproer, C., Schumann, P., Marialigeti, K., Toth, E. M. (2010a): *Bacillus alkalisediminis* sp. nov., a novel alkaliphilic and moderately halophilic bacterium isolated from the sediment of extremely shallow soda ponds. Int J Syst Evol Microbiol ijs.0.019489-0.
- Borsodi, A., Szabó, G., Rusznyák, A., Vladár, P., Pollák, B., Makk, J., Márialigeti, K. (2010b): Kiskunsági székek baktériumközösségeinek filogenetikai diverzitása. Acta Biologica Debrecina 22: 87-98.
- Boström, B., Pettersson, K. (1982): Different patterns of phosphorus release from lake sediments in laboratory experiments. Hydrobiologia 91-92: 415-429.
- Bott, T. L., Kaplan, L. A. (1985): Bacterial biomass, metabolic state, and activity in stream sediments: relation to environmental variables and multiple assay comparisons. Appl. Environ. Microbiol. 50, 508-522.
- Bouvier, T. C., Giorgio, P. A. D. (2002): Compositional changes in free-living bacterial communities along a salinity gradient in two temperate estuaries. Limnology and Oceanography 47: 453-470.
- Brandi, G., Sisti, M., Giardini, F., Schiavano, G. F., Albano, A. (1999): Survival ability of cytotoxic strains of motile *Aeromonas* spp. in different types of water. Letters in Applied Microbiology 29: 211-215.
- Brettar, I., Christen, R., Hofle, M. G. (2004): *Belliella baltica* gen. nov., sp. nov., a novel marine bacterium of the Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides group isolated from surface water of the central Baltic Sea.

- Int J Syst Evol Microbiol 54: 65-70.
- Brown, M. R. W., Kornberg, A. (2004): Inorganic polyphosphate in the origin and survival of species. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 16085–16087.
- Bussmann, I., Philipp, B., Schink, B. (2001): Factors influencing the cultivability of lake water bacteria. Journal of Microbiological Methods 47: 41-50.
- Carpenter, S. R. (2005): Eutrophication of aquatic ecosystems: Bistability and soil phosphorus. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102: 10002 -10005.
- Chada, V. G. R., Sanstad, E. A., Wang, R., Driks, A. (2003): Morphogenesis of *Bacillus* spore surfaces. J. Bacteriol. 185: 6255-6261.
- Choi, K.H., Dobbs, F.C. (1999): Comparison of two kinds of BIOLOG microplates GN and ECO. in their ability to distinguish among aquatic microbial communities. J. Microbiol. Meth.36: 203-13.
- Christian, B. W., Lind, O. T. (2007): Multiple carbon substrate utilization by bacteria at the sediment–water interface: seasonal patterns in a stratified eutrophic reservoir. Hydrobiologia 586: 43-56.
- Chun, J., Lee, J., Jung, Y., Kim, M., Kim, S., Kim, B. K., Lim, Y. (2007): EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. Int J Syst Evol Microbiol 57: 2259-2261.
- Claus, D. (1992): A standardised Gram staining procedure. World J Gen Microbiol 100: 221-230.
- Claus D., Fritze D., Kocur M. (1999): The genus *Planococcus*. In: The Prokaryotes 3rd Edition. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., Stackebrandt E. (eds.), Springer, New York, pp. 1781-1791.
- Cole, J. R., Chai, B., Farris, R. J., Wang, Q., Kulam-Syed-Mohideen, A. S., McGarrell, D. M., Bandela, A. M., Cardenas, E., Garrity, G. M., Tiedje, J. M. (2007): The ribosomal database project (RDP-II): introducing myRDP space and quality controlled public data, Nucl. Acids Res. 35: D169-172.
- Collins, M. D., Lawson, P. A., Labrenz, M., Tindall, B. J., Weiss, N., Hirsch, P. (2002): *Nesterenkonia lacusekhoensis* sp. nov., isolated from hypersaline Ekho Lake, East Antarctica, and emended description of the genus *Nesterenkonia*. Int J Syst Evol Microbiol 52: 1145-1150.
- Compeau, G. C., Bartha, R. (1987): Effect of salinity on mercury-methylating activity of sulfate-reducing bacteria in estuarine sediments. Appl. Environ. Microbiol. 53: 261-265.
- Cotner, J. B., Wetzel, R. G. (1992): Uptake of dissolved inorganic and organic phosphorus compounds by phytoplankton and

- bacterioplankton. *Limnology and Oceanography* 37: 232-243.
- Cottrell, M. T., Kirchman, D. L. (2000): Community composition of marine bacterioplankton determined by 16S rRNA gene clone libraries and fluorescence in situ hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 5116-5122.
- Crump, B. C., Hopkinson, C. S., Sogin, M. L., Hobbie, J. E. (2004): Microbial biogeography along an estuarine salinity gradient: combined influences of bacterial growth and residence time. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 1494-1505.
- Cunha M. A., Almeida M. A., Alcântara F. (2000): Patterns of ectoenzymatic and heterotrophic bacterial activities along a salinity gradient in a shallow tidal estuary. *Marine Ecology Progress Series* 204: 1-12.
- Currie, D. J. (1990): Large-scale variability and interactions among phytoplankton, bacterioplankton, and phosphorus. *Limnology and Oceanography* 35: 1437-1455.
- Davelaar, D. (1993): Ecological significance of bacterial polyphosphate metabolism in sediments. *Hydrobiologia* 253: 179-192.
- De Meester, L. (1999): Aquatic ecology. Zoological Institute, Leuven, Belgium. pp: 142-157.
- Dévai, Gy. (1990): Ecological background and importance of the change of chironomid fauna (Diptera: Chironomidae) in shallow Lake Balaton. *Hydrobiologia* 191: 189-198.
- Dévai Gy. Nagy S., Wittner I., Aradi Cs., Csabai Z., Tóth A. (2001): A vízi és a vizes élőhelyek sajátosságai és tipológiája. In: Böhm A. - Szabó M. (szerk.): Vizes élőhelyek: a természeti és a társadalmi környezet kapcsolata. Tanulmányok Magyarország és az Európai Unió természetvédelméről. - ELTE-TTK & SZIE-KGI & KöM-TvH, Budapest, p. 11-74.
- Difco Manual 9. eds. (1977) Difco Laboratories, Detroit. pp: 245-246.
- Dimitriu, P. A., Pinkart, H. C., Peyton, B. M., Mormile, M. R. (2008): Spatial and temporal patterns in the microbial diversity of a meromictic soda lake in Washington State. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 4877-4888.
- Dong, H., Zhang, G., Jiang, H., Yu, B., Chapman, L. R., Lucas, C. R., Fields, M. W. (2006): Microbial diversity in sediments of saline Qinghai Lake, China: linking geochemical controls to microbial ecology. *Microb Ecol* 51: 65-82.
- Doronina, N., Darmaeva, T., Trotsenko, Y. (2003): *Methylophaga natronica* sp. nov., a new alkaliphilic and moderately halophilic, restricted-facultatively methylotrophic bacterium from soda lake of the Southern Transbaikalian Region. *Systematic and Applied Microbiology* 26: 382-389.

- Duckworth, A.W., Grant, W.D., Jones, B.E., van Steenberg, R. (1996): Phylogenic diversity of soda lake alkaliphiles. *FEMS Microbiol. Ecol.* 19: 181-19.
- Duckworth, A. W., Grant, S., Grant, W. D., Jones, B. E., Meijer, D. (1998): *Dietzia natronolimnaios* sp. nov., a new member of the genus *Dietzia* isolated from an east African soda lake. *Extremophiles* 2: 359-366.
- Duckworth, A. W., Grant, W. D., Jones, B. E., Meijer, D., Márquez, M. C., Ventosa, A. (2000): *Halomonas magadii* sp. nov., a new member of the genus *Halomonas*, isolated from a soda lake of the East African Rift Valley. *Extremophiles* 4: 53-60.
- Eiler, A., Langenheder, S., Bertilsson, S., Tranvik, L. J. (2003): Heterotrophic bacterial growth efficiency and community structure at different natural organic carbon concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 3701-3709.
- Einsele, W. (1936): Über die Beziehungen des Eisenkreislaufs zum Phosphatkreislauf im eutrophen See. *Arch. Hydrobiol.* 29: 664-686.
- Eixler, S., Karsten, U., Selig, U. (2006): Phosphorus storage in *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cells and its dependence on phosphate supply. *Phycologia* 45: 53-60.
- Elser, J. J., Bracken, M. E., Cleland, E. E., Gruner, D. S., Harpole, W. S., Hillebrand, H., Ngai, J. T., Seabloom, E. W., Shurin, J. B., Smith, J. E. (2007): Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 10: 1135-1142.
- Felföldi, T., Somogyi, B., Márialigeti, K., Vörös, L. (2009): Characterization of photoautotrophic picoplankton assemblages in turbid, alkaline lakes of the Carpathian Basin (Central Europe). *Journal of Limnology* 68: 385-395.
- Felföldi, T., Somogyi, B., Vörös, L., Márialigeti, K. (2010): Kiskunsági szikes tavaink pikoalgáinak azonsítása és diverzitásának vizsgálata molekuláris biológiai módszerekkel. *Acta Biologica Debrecina* 22: 113-120.
- Felföldy L. (1981): A vizek környezettana. *Mezőgazdasági Kiadó, Bp.* pp:162-165.
- Felske, A., Wolterink, A., Lis, R., Vos, W. M., Akkermans, A. D. (1999): Searching for predominant soil bacteria: 16S rDNA cloning versus strain cultivation. *FEMS Microbiology Ecology* 30: 137-145.
- Fierer, N., Jackson, R. B. (2006): The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 626 -631.
- Filippelli, G. M. (2008): The Global phosphorus cycle: past, present, and future. *Elements* 4: 89-95.

- Fleischer S (1986): Aerobic uptake of Fe(III)-precipitated phosphorus by microorganisms. *Arch Hydrobiol* 107:269–277
- Friedrich, U., Schallenberg, M., Holliger, C. (1999): Pelagic bacteria-particle interactions and community-specific growth rates in four lakes along a trophic gradient. *Microbial Ecology* 37: 49-61.
- Fritze, D., Flossdorf, J., Claus, D. (1990): Taxonomy of Alkaliphilic *Bacillus* Strains. *Int J Syst Bacteriol* 40: 92-97.
- G.-Tóth., L., Langó, Z., Padisák, J., Varga, E. (1994): Terminal electron transport system (ETS)-activity in the sediment of Lake Balaton. Hungary, *Hydrobiologia* 281: 129-139.
- Gächter, R., Meyer, J. S., Mares, A. (1988): Contribution of bacteria to release and fixation of phosphorus in lake sediments, *Limnology and Oceanography* 33: 1542-1558.
- Gächter, R., Meyer, J. S. (1993): The role of microorganisms in mobilization and fixation of phosphorus in sediments. *Hydrobiologia* 253: 103-121.
- Garland J.L., Mills A.L. (1991): Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community level sole-carbon-source utilization. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 2351-2359.
- Garland, J. L. (1997): Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology* 24, 289-300.
- Giorgio, P. A. D., Cole, J. J. (1998): Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 503-541.
- Gloess, S., M. Hupfer, S. Ratering, H.-P. Grossart (2007): Detection and phylogenetic characterization of polyphosphate accumulating bacteria in lake sediments. *Berichte der JGB* 24: 77–88.
- Gloess, S., Grossart, H., Allgaier, M., Ratering, S., Hupfer, M. (2008): Use of laser microdissection for phylogenetic characterization of polyphosphate-accumulating bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* AEM.02545-07.
- Goedkoop, W., Gullberg, K., Johnson, R., Ahlgren, I. (1997): Microbial response of a freshwater benthic community to a simulated diatom sedimentation event: interactive effects of benthic fauna. *Microbial Ecology* 34: 131-143.
- Goedkoop, W., Pettersson, K. (2000): Seasonal changes in sediment phosphorus forms in relation to sedimentation and benthic bacterial biomass in Lake Erken. *Hydrobiologia* 431: 41-50-50.
- Goldberg J., Gonzalez H., Jensen T.E., Corpe W.A. (2001): Quantitative analysis of the elemental composition and the mass of bacterial polyphosphate bodies using STEM EDX. *Microbios* 106:177–188

- Golterman, H. L. (2001): Phosphate release from anoxic sediments or 'What did Mortimer really write?' *Hydrobiologia* 450: 99-106-106.
- Golterman, H. L. (2004): The chemistry of phosphate and nitrogen compounds in sediments. Springer.
- Gomez E., Garland J., Conti M. (2004): Reproducibility in the response of soil bacterial community-level physiological profiles from a land use intensification gradient. *Appl. Soil Ecol.* 26: 21-30.
- Grant W.D. (1992): Alkaline Environments. In: Lederberg J. ed.. *Encyclopedia of Microbiology*. Academic Press, New York. pp. 73-80.
- Haack, S., Garchow, H., Klug, M., Forney, L. (1995): Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1458-1468.
- Halpern, M., Senderovich, Y., Snir, S. (2007): *Rheinheimera chironomi* sp. nov., isolated from a chironomid (Diptera; Chironomidae) egg mass. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 1872-1875.
- Hamamoto T., Horikoshi K. (1992): Alkaliphiles. *Encyclopedia of Microbiology*. Vol. 1. pp. 81-87.
- Herodek, S., (1984): The eutrophication of Lake Balaton: Measurements, modelling and management. *Verh. int. Ver. Limnol.* 22: 1087-1091.
- Herodek, S., Istvánovics, V. (1986): Mobility of phosphorus fractions in the sediments of Lake Balaton. *Hydrobiologia* 135: 149-154.
- Hertkorn, N., Claus, H., Schmitt-Kopplin, P., Perdue, E. M., Filip, Z. (2002): Utilization and transformation of aquatic humic substances by autochthonous microorganisms. *Environmental Science & Technology* 36: 4334-4345.
- Heyman, J. B., Eagle, L. M., Greben, H. A., Potgieter, D. J. J. (1989): Isolation and characterization of volutin granules as subcellular components involved in biological phosphorous removal. *Water Science and Technology* 21: 397-408.
- Heyrman, J., Logan, N. A., Rodriguez-Diaz, M., Scheldeman, P., Lebbe, L., Swings, J., Heyndrickx, M., De Vos, P. (2005): Study of mural painting isolates, leading to the transfer of '*Bacillus maroccanus*' and '*Bacillus carotarum*' to *Bacillus simplex*, emended description of *Bacillus simplex*, re-examination of the strains previously attributed to '*Bacillus macroides*' and description of *Bacillus muralis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 55: 119-131.
- Hoppe, G., Giesenhausen, H. C., Gocke K. (1998): Changing patterns of bacterial substrate decomposition in a eutrophication gradient. *Aquatic Microbial Ecology* 15: 1-13.
- Horikoshi K. (1991): Microorganisms in alkaline environments. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.

- Horikoshi, K. (1999): Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63: 735-750.
- Hugenholtz, P., Goebel, B. M., Pace, N. R. (1998): Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J. Bacteriol.* 180, 4765-4774.
- Humayoun, S. B., Bano, N., Hollibaugh, J. T. (2003): Depth Distribution of Microbial Diversity in Mono Lake, a Meromictic Soda Lake in California. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 1030-1042.
- Hupfer, M., Rübe, B., Schmieder, P. (2004): Origin and diagenesis of polyphosphate in lake sediments: a ^{31}P NMR study. *Limnology and Oceanography* 49: 1-10.
- Hupfer, M., Gloess, S., Grossart P. H. (2007): Polyphosphate-accumulating microorganisms in aquatic sediments. *Aquatic Microbial Ecology* 47: 299-311.
- Hupfer, M., Glöss, S., Schmieder, P., Grossart, H. (2008): Methods for detection and quantification of polyphosphate and polyphosphate accumulating microorganisms in aquatic sediments. *International Review of Hydrobiology* 93: 1-30.
- Hupfer, M., Lewandowski, J. (2008): Oxygen controls the phosphorus release from lake sediments – a long-lasting paradigm in limnology. *International Review of Hydrobiology* 93: 415-432.
- Hurst, C.J., Knudsen, G.R., McInerney, M., Stetzenbach, L.D., Walter, M.V. (1997): *Manual of environmental microbiology*. ASM Press. pp: 238., 343-349.
- Istvánovics, V. (1988): Seasonal variation of phosphorus release from the sediments of Shallow Lake Balaton (Hungary). *Water Research* 22: 1473-1481.
- Istvánovics, V. (1993): Transformations between organic and inorganic sediment phosphorus in Lake Balaton. *Hydrobiologia* 253: 193-201.
- Istvánovics, V., Osztóics, A., Honti, M. (2004): Dynamics and ecological significance of daily internal load of phosphorus in shallow Lake Balaton, Hungary. *Freshwater Biology* 49: 232-252.
- Istvánovics, V., Clement, A., Somlyódy, L., Specziár, A., G.-Tóth, L., Padisák, J. (2007): Updating water quality targets for shallow Lake Balaton (Hungary). recovering from eutrophication, *Hydrobiologia* 581: 305-318.
- Ito, S., Kobayashi, T., Ara, K., Ozaki, K., Kawai, S., Hatada, Y. (1998): Alkaline detergent enzymes from alkaliphiles: enzymatic properties, genetics, and structures. *Extremophiles* 2: 185-190.
- Ivanova, E., Zhukova, N., Gorshkova, N., Chaikina, E. (2001): Characterization of *Aeromonas* and *Vibrio* species isolated from a drinking water reservoir. *Journal of Applied Microbiology* 90: 919-927.

- Jacobson, L., Halmann, M. (1982): Polyphosphate metabolism in the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Plankton Research* 4: 481-488.
- Jansson, M., Olsson, H., Pettersson, K. (1988): Phosphatases; origin, characteristics and function in lakes. *Hydrobiologia* 170: 157-175-175.
- Jenkins, D., Richard, M. G., Daigger, G. T. (2004): Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems. IWA Publishing.
- Jeppesen, E., Søndergaard, M., Jensen, J. P., Havens, K. E., Anneville, O., Carvalho, L., Coveney, M. F., Deneke, R., Dokulil, M. T., Foy, B., Gerdeaux, D., Hampton, S. E., Hilt, S., Kangur, K., Köhler, J., Lammens, E. H., Lauridsen, T. L., Manca, M., Miracle, M. R., Moss, B., Nøges, P., Persson, G., Phillips, G., Portielje, R., Romo, S., Schelske, C. L., Straile, D., Tatrai, I., Willén, E., Winder, M. (2005): Lake responses to reduced nutrient loading - an analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. *Freshwater Biology* 50: 1747-1771.
- Jones B.E., Grant W.D., Duckworth A.W., Owenson G.G. (1998): Microbial diversity of soda lakes. *Extremophiles* 2: 191-200.
- Jones, R.D. (2000): Phosphorus Cycle IN *Encyclopedia of Microbiology*, Vol. 3, Second Edition, Academic Press, pp 614-617.
- Jooste, P. J., Hugo, C. J. (1999): The taxonomy, ecology and cultivation of bacterial genera belonging to the family Flavobacteriaceae. *International Journal of Food Microbiology* 53: 81-94.
- Jørgensen, K. S., Pauli, A. S. (1995): Polyphosphate accumulation among denitrifying bacteria in activated sludge. *Anaerobe* 1: 161-168.
- Joshi, A., Kanekar, P., Kelkar, A., Shouche, Y., Vani, A., Borgave, S., Sarnaik, S. (2008): Cultivable bacterial diversity of alkaline Lonar Lake, India. *Microbial Ecology* 55: 163-172.
- Kamekura, M. (1998): Diversity of extremely halophilic bacteria. *Extremophiles* 2: 289-295.
- Karner, M., Fuks, D., and Herndl, G. J. (1992): Bacterial activity along a trophic gradient. *Microb Ecol* 24, 243-257.
- Kawaharasaki, M., Tanaka, H., Kanagawa, T., Nakamura, K. (1999): In situ identification of polyphosphate-accumulating bacteria in activated sludge by dual staining with rRNA-targeted oligonucleotide probes and 4',6-diamidino-2-phenylindol (DAPI) at a polyphosphate-probing concentration. *Water Research* 33: 257-265.
- Kersters, I., Huys, G., Van Duffel, H., Vancanneyt, M., Kersters, K., Verstraete, W. (1996): Survival potential of *Aeromonas hydrophila* in freshwaters and nutrient-poor waters in comparison with other bacteria. *Journal of Applied Microbiology* 80, 266-276.

- Kevbrin V.V., Zhilina T.N., Rainey F.A., Zavarzin G.A. (1998): *Tindallia magadii* gen. nov., sp. nov.: an alkaliphilic anaerobic ammonifier from soda lake deposits. *Curr. Microbiol.* 37: 94-100.
- Khmelenina N.V., Kalyuzhnaya M.G., Starostina N.G., Suzina N.E., Trotsenko Y.A. (1997): Isolation and characterisation of halotolerant alkaliphilic metanotrophic bacteria from Tuva Soda Lakes. *Curr. Microbiol.* 35: 257-261.
- Khoshmanesh, A., Hart, B. T., Duncan, A., Beckett, R. (2002): Luxury uptake of phosphorus by sediment bacteria. *Water Research* 36: 774-778.
- Kim, K., Rao, N. N., Fraley, C. D., Kornberg, A. (2002): Inorganic polyphosphate is essential for long-term survival and virulence factors in *Shigella* and *Salmonella* spp. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 7675 -7680.
- Kim, B., Weon, H., Yoo, S., Kwon, S., Cho, Y., Stackebrandt, E., Go, S. (2006): *Paracoccus homiensis* sp. nov., isolated from a sea-sand sample. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 2387-2390.
- Kirchman, D. L. (1994): The uptake of inorganic nutrients by heterotrophic bacteria. *Microbial Ecology* 28: 255-271.
- Kirchman, D. L. (2002): The ecology of Cytophaga–Flavobacteria in aquatic environments. *FEMS Microbiology Ecology* 39: 91–100.
- Koizumi, Y., Kojima, H., Fukui, M. (2003): Characterization of depth-related microbial community structure in lake sediment by denaturing gradient gel electrophoresis of amplified 16S rDNA and reversely transcribed 16S rRNA fragments. *FEMS Microbiology Ecology* 46: 147-157.
- Konopka, A., Oliver, L., Turco, J. (1998): The use of carbon substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology. *Microbial Ecology* 35: 103-115.
- Kornberg, A. (1995): Inorganic polyphosphate: toward making a forgotten polymer unforgettable. *J. Bacteriol.* 177: 491-496.
- Kotsis, I., Fehér, E., Cziráki, R. (1982): A Balaton nyílt vize baktériumnépességének összetételéről. *MTA Biol. Oszt. Közl.* 25: 245-260.
- Kovács, A. W., Koncz, E., Vörös, L. (2003): Akinete abundance of N₂-fixing cyanobacteria in sediment of Lake Balaton (Hungary). *Hydrobiologia* 506-509: 181-188-188.
- Kroll, R.G. (1990): Alkalophiles. In: *Microbiology of Extreme Environments* pp: 55-92.
- Krulwich, T.A., Guffanti, A.A. (1989): Alkalophilic bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 43: 435-463.
- Krulwich, T. A., Ito, M., Guffanti, A. A. (2001): The Na⁺-dependence of

- alkaliphily in *Bacillus*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics 1505: 158-168.
- Kulaev, I., Kulakovskaya, T. (2000): Polyphosphate and phosphate pump. Annu. Rev. Microbiol. 54: 709-734.
- Kulp, T. R., Han, S., Saltikov, C. W., Lanoil, B. D., Zargar, K., Oremland, R. S. (2007): Effects of imposed salinity gradients on dissimilatory arsenate reduction, sulfate reduction, and other microbial processes in sediments from two California soda lakes. Appl. Environ. Microbiol. 73: 5130-5137.
- Lane, D.J. (1991): 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E. & M. Goodfellow, eds. Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics. John Wiley & Sons, New York: 115-175.
- Langó, Z., (1987): Studies on the *Bacillus*-population of the NW-littoral zone of the Lake Balaton (Hungary). Archiv für Hydrobiologie 108: 449-464.
- Langó, Z., Borsodi, A. K., Micsinai, A. (2002): Comparative studies on *Aeromonas* strains isolated from Lakes Balaton (Hungary) and Ferto/Neusiedlersee (Hungary). Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica 49: 37-45.
- LeChevallier, M. W., Evans, T. M., Seidler, R. J., Daily, O. P., Merrell, B. R., Rollins, D. M., Joseph, S. W. (1982): *Aeromonas sobria* in chlorinated drinking water supplies. Microb Ecol 8: 325-333.
- Li, W., Chen, H., Kim, C., Zhang, Y., Park, D., Lee, J., Xu, L., Jiang, C. (2005): *Nesterenkonia sandarakina* sp. nov. and *Nesterenkonia lutea* sp. nov., novel actinobacteria, and emended description of the genus *Nesterenkonia*. Int J Syst Evol Microbiol 55: 463-466.
- Liu, W., Nielsen, A. T., Wu, J., Tsai, C., Matsuo, Y., Molin, S. (2001): *In situ* identification of polyphosphate- and polyhydroxyalkanoate-accumulating traits for microbial populations in a biological phosphorus removal process. Environmental Microbiology 3: 110-122.
- Logan, N. A., Lebbe, L., Verhelst, A., Goris, J., Forsyth, G., Rodríguez-Díaz, M., Heyndrickx, M., De Vos, P. (2004): *Bacillus shackletonii* sp. nov., from volcanic soil on Candlemas Island, South Sandwich archipelago. Int. J. Syst. Evol. Microbiol 54: 373-376.
- Long, R., Lappin-Scott, H., Stevens, J. (2009): Enrichment and identification of polycyclic aromatic compound-degrading bacteria enriched from sediment samples. Biodegradation 20: 521-531.
- Luettich, R. A., Harleman, D. R. F., Somlyódy, L. (1990): Dynamic behavior of suspended sediment concentrations in a shallow lake perturbed by episodic wind events. Limnology and Oceanography 35: 1050-1067.

- Ma Y., Zhang W., Xue Y., Zhou P., Ventosa A., Grant W.D. (2004): Bacterial diversity of the Inner Mongolian Baer Soda Lake as revealed by 16S rRNA gene sequence analyses. *Extremophiles* 8: 45–51.
- Maassen, S., Röske, I., Uhlmann, D. (2003): Chemical and microbial composition of sediments in reservoirs with different trophic state. *International Review of Hydrobiology* 88: 508-518.
- Maassen, S., Uhlmann, D., Röske, I. (2005): Sediment and pore water composition as a basis for the trophic evaluation of standing waters. *Hydrobiologia* 543: 55-70.
- MacGregor, B. J., Moser, D. P., Baker, B. J., Alm, E. W., Maurer, M., Neilson, K. H., Stahl, D. A. (2001): Seasonal and spatial variability in Lake Michigan sediment small-subunit rRNA concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 3908-3922.
- Mackereth, F. H. J., Heron, J., Talling, J. F. (1978): Water analysis: some revised methods for limnologists. Freshwater Biology Association, Scientific Publication 36, London
- Malmaeus, J., Håkanson, L. (2004): Development of a lake eutrophication model, *Ecological Modelling* 171: 35-63.
- Massol-Deya, A. A., D. A. Odelson, R. F. Hickey & J. M Tiedje, (1995): In Akkermans, A. D. L., J. D. van Elsas, F. J. deBruijn, eds. *Molecular microbial ecology manual*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 3.3.2: 1-8.
- McDignum M., Matthijs H.C.P., Pel R., Laanbroek H.J., Mur L.R. (2005): Nutrient limitation of freshwater cyanobacteria. In: Huisman J, Matthijs HCP, Visser PM (eds) *Harmful cyanobacteria*. Springer, Heidelberg, p 65–86
- Megyeri J. (1999): A szikes tavak és élőviláguk: vizsgálatok a Kiskunsági Nemzeti Park szikes tavain. *Acta Biol. Debr. Oecol. Hung.* 9: 161-169.
- Mesbah, N., Abou-El-Ela, S., Wiegel, J. (2007): Novel and Unexpected Prokaryotic Diversity in Water and Sediments of the Alkaline, Hypersaline Lakes of the Wadi An Natrun, Egypt. *Microbial Ecology* 54: 598-617-617.
- Micsinai, A., Borsodi, A., Horváth, A., Oravecz, O., Reskóné, N.M., Márialigeti, K.(2001): Velencei-tavi egészséges és pusztuló nádasok rizómáinak bakteriológiai vizsgálata. *Hidr. Közl.* 81: 407-409,
- Mino, T., van Loosdrecht, M., Heijnen, J. (1998): Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water Research* 32: 3193-3207.
- Monfort, P., Baleux, B. (1990): Dynamics of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, and *Aeromonas caviae* in a sewage treatment pond. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1999-2006.
- Montigny, C., Prairie, Y. T. (1993): The relative importance of biological

- and chemical processes in the release of phosphorus from a highly organic sediment. *Hydrobiologia* 253: 141-150.
- Mortimer, C. H. (1941): The exchange of dissolved substances between mud and water in lakes. I. *J. Ecol.* 29: 280-329; 30: 147-201.
- Muyzer, G., de Waal, E. C., Uitterlinden, A. G. (1993): Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA., *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 695-700.
- Muyzer, G. (1999): DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. *Current Opinion in Microbiology* 2: 317-322.
- Nakayama, A., Yano, Y., Kobayashi, S., Ishikawa, M., and Sakai, K. (1996): Comparison of pressure resistances of spores of six *Bacillus* strains with their heat resistances. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 3897-3900.
- Nealson, K. H. (1997): Sediment Bacteria: Who's There, What Are They Doing, and What's New?, *Annu. Rev. Earth. Planet. Sci.* 25: 403-434.
- Nercessian, O., Noyes, E., Kalyuzhnaya, M. G., Lidstrom, M. E., Chistoserdova, L. (2005): Bacterial populations active in metabolism of C1 compounds in the sediment of Lake Washington, a freshwater lake. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 6885-6899.
- Nielsen, P., Rainey, F. A., Outtrup, H., Priest, F. G., Fritze, D. (1994): Comparative 16S rDNA sequence analysis of some alkaliphilic bacilli and the establishment of a sixth rRNA group within the genus *Bacillus*. *FEMS Microbiology Letters* 117: 61-65.
- Nielsen, P., Fritze, D., Priest, F. G. (1995): Phenetic diversity of alkaliphilic *Bacillus* strains: proposal for nine new species. *Microbiology* 141: 1745-1761.
- Nogi, Y., Takami, H., Horikoshi, K. (2005): Characterization of alkaliphilic *Bacillus* strains used in industry: proposal of five novel species. *Int J Syst Evol Microbiol* 55: 2309-2315.
- Nold, S. C., Zwart, G. (1998): Patterns governing forces in aquatic microbial communities. *Aquatic Ecology* 32: 17-35.
- Oren, A. (2008): Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Systems* 4: 2.
- O'Sullivan, L. A., Weightman, A. J., Fry, J. C. (2002): New degenerate cytophaga-flexibacter-bacteroides-specific 16S ribosomal DNA-targeted oligonucleotide probes reveal high bacterial diversity in river taff epilithon. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 201-210.
- Padan, E., Bibi, E., Ito, M., Krulwich, T. A. (2005): Alkaline pH homeostasis in bacteria: New insights, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1717: 67-88.
- Padisák, J., Reynolds, C. S. (1998): Selection of phytoplankton associations in Lake Balaton, Hungary, in response to eutrophication and restoration

- measures, with special reference to the cyanoprokaryotes. *Hydrobiologia* 384: 41-53.
- Pagaling, E., Wang, H., Venables, M., Wallace, A., Grant, W. D., Cowan, D. A., Jones, B. E., Ma, Y., Ventosa, A., Heaphy, S. (2009): Microbial biogeography of six salt lakes in inner Mongolia, China, and a salt lake in Argentina. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 5750-5760.
- Page, K. A., Connon, S. A., Giovannoni, S. J. (2004): Representative Freshwater Bacterioplankton Isolated from Crater Lake, Oregon. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 6542-6550.
- Palleroni, N. J. (2008): The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In: Cornelis, P. ed. *Pseudomonas: genomics and molecular biology*. Horizon Scientific Press, pp: 1-18.
- Papp, F. (2004): Zsuzsanna és az algák – avagy a Keszthelyi-medence vízminőségi kotrása. www.aquadocinter.hu/themes/Vandorgyules/pages/3szekcio/papp.htm
- Podani J. (1997): Bevezetés a többváltozós biológiai adatfeltárás rejtelseibe. Scientia Kiadó, Budapest. pp. 212-227.
- Poindexter, J. S. (1991): Dimorphic prosthecate bacteria: the genera *Caulobacter*, *Asticcacaulis*, *Hyphomicrobium*, *Hyphomonas* and *Thiodendron*. In Balows, A., H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder & K. Schleifer, eds. *The Prokaryotes*. Springer-Verlag, New York: 2176–2196.
- Pollák B., Rusznyák A., Palatinszky M., Márialigeti K., Borsodi A. (2006): Tiszántúli szikes tavak baktériumközösségeinek összehasonlító vizsgálata. *Hidrol. Közl.* 86: 88-90.
- Pourcher A.M., Sutra L., Hébé I., Moguedet G., Bollet C., Simoneau P., Gardan L. (2001): Enumeration and characterisation of cellulolytic bacteria from refuse of a landfill. *FEMS Microbiol. Ecol.* 34: 229-241.
- Présing, M., Herodek, S., Vörös L., Kóbor, I. (1996): Nitrogen fixation, ammonium and nitrate uptake during a bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Lake Balaton. *Arch. Hydrobiol.* 136: 553–562.
- Rappe, M. S., Giovannoni, S. J. (2003): The uncultured microbial majority. *Annu. Rev. Microbiol.* 57: 369-394.
- Rees, H. C., Grant, W. D., Jones, B. E., Heaphy, S. (2004): Diversity of Kenyan soda lake alkaliphiles assessed by molecular methods. *Extremophiles* 8: 63-71.
- Reitzel, K., Ahlgren, J., Gogoll, A., Jensen, H. S., Rydin, E. (2006): Characterization of phosphorus in sequential extracts from lake sediments using ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 63: 1686-1699.

- Reskóné, N.M., Alföldi, A., Kiss, G., Balogi, Zs., Tóth, E., Borsodi, A. (2006): A Balaton mederüledékének minősége, mikroba közösségeinek jellemzése. *Hidrol. Közl.* 86 (6): 155-158
- Rhodes, M. W., Kator, H. (1994): Seasonal occurrence of mesophilic *Aeromonas* spp. as a function of biotype and water quality in temperate freshwater lakes. *Water Research* 28: 2241-2251.
- Rose, C., and Axler, R. P. (1997): Uses of alkaline phosphatase activity in evaluating phytoplankton community phosphorus deficiency. *Hydrobiologia* 361: 145-156-156.
- Rusznayk, A., Vladár, P., Szabó, G., Márialigeti, K., and Borsodi, A. (2008): Phylogenetic and metabolic bacterial diversity of *Phragmites australis* periphyton communities in two Hungarian soda ponds. *Extremophiles* 12: 763-773.
- Rüger, H.J., Höfle, M.G. (1992): Marine star-shaped-aggregate-forming bacteria: *Agrobacterium atlanticum* sp. nov.; *Agrobacterium meteori* sp. nov.; *Agrobacterium ferrugineum* sp. nov., nom. rev.; *Agrobacterium gelatinovorum* sp. nov., nom. rev.; and *Agrobacterium stellulatum* sp. nov., nom. rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42 (1) : 133-143
- Sander, B. C., Kalff, J. (1993): Factors controlling bacterial production in marine and freshwater sediments. *Microbial Ecology* 26: 79-99.
- Schallenberg, M., Kalff, J. (1993): The ecology of sediment bacteria in lakes and comparisons with other aquatic ecosystems. *Ecology* 74: 919-934.
- Schmidt, A., Fehér, G. (2001): Water chemical and algological investigations of sodic ponds in the Kiskunság National Park KNP II.. *Hidrológiai Közlöny*, 81: 455-456.
- Schmidt, A. (2003): Kiskunsági szikes tavak (KNP II) összehasonlító vízkémiai vizsgálata. *Természetvédelmi Közlemények* 10: 153-162.
- Schulze, R., S. Spring, R. Amann, I. Huber, W. Ludwig, K. H. Schleifer & P. Kampfer, (1999): Genotypic diversity of *Acidovorax* strains isolated from activated sludge and description of *Acidovorax defluvii* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology* 22: 205-214.
- Selig, U., Hübener, T., Michalik, M. (2002): Dissolved and particulate phosphorus forms in a eutrophic shallow lake. *Aquatic Sciences - Research Across Boundaries* 64: 97-105-105.
- Serafim, L. S., Lemos, P. C., Levantesi, C., Tandoi, V., Santos, H., Reis, M. A. M. (2002): Methods for detection and visualization of intracellular polymers stored by polyphosphate-accumulating microorganisms. *Journal of Microbiological Methods* 51: 1-18.
- Seufferheld, M. J., Alvarez, H. M., Farias, M. E. (2008): role of polyphosphates in microbial adaptation to extreme environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 5867-5874.
- Seviour, R. J., Mino, T., Onuki, M. (2003): The microbiology of biological

- phosphorus removal in activated sludge systems. FEMS Microbiology Reviews 27: 99-127.
- Shiah F.-K., Ducklow H. W. (1994): Temperature and substrate regulation of bacterial abundance, production and specific growth rate in Chesapeake Bay, USA. Marine Ecology Progress Series 103: 297-308.
- Sidat, M., F. Bux, H. C. Kasan, (1999): Polyphosphate accumulation by bacteria isolated from activated sludge. Water SA 25: 175-179.
- Sipos, R., Székely, A. J., Palatinszky, M., Révész, S., Márialigeti, K., Nikolausz, M. (2007): Effect of primer mismatch, annealing temperature and PCR cycle number on 16S rRNA gene-targeting bacterial community analysis. FEMS Microbiology Ecology 60: 341-350.
- Slepecky, R.A., Hemphill, H.E. (1999): The Genus *Bacillus*-Nomenclature. In: Dworkin (ed. in-chief) The Prokaryotes 3. eds. Springer-Verlag New York.
- Smalla, K., Wachtendorf, U., Heuer, H., Liu, W., Forney, L. (1998): Analysis of BIOLOG GN substrate utilization patterns by microbial communities. Appl. Environ. Microbiol. 64: 1220-1225.
- Smibert, R.M. Krieg, N.R. (1994): Phenotypic Characterization. In: Gerhardt, P, Murray, Rge, Wood, Wa, Krieg, Nr Ed. Methods for General and Molecular Bacteriology, American Society for Microbiology, Washington, DC, pp 603-711.
- Smit, E., Leeftang, P., Gommans, S., van den Broek, J., van Mil, S., Wernars, K. (2001): Diversity and seasonal fluctuations of the dominant members of the bacterial soil community in a wheat field as determined by cultivation and molecular methods. Appl. Environ. Microbiol. 67: 2284-2291.
- Smith, V. H., Tilman, G. D., Nekola, J. C. (1999): Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. Environmental Pollution 100: 179-196.
- Somlyódy, L., Honti, M. (2005): A Balaton vízutánpótlása: lehetünk-e elég elővigyázatosak? Magyar Tudomány 5: 570
- Somogyi, B., Felföldi, T., Vanyovszki, J., Ágyi, Á., Márialigeti, K., Vörös, L. (2009): Winter bloom of picoeukaryotes in Hungarian shallow turbid soda pans and the role of light and temperature. Aquat Ecol 43: 735-744.
- Somogyi, B., Borsodi, A., Czeibert, K., Knáb, M., Vanyovszky, J., Márialigeti, K., Vörös, L. (2010): Bíorbaktérium-tömegtermelés a Bóddi-székben. Acta Biologica Debrecina 22: 99-112.
- Sorokin D.Y., Tourova T.P., Lysenko A.M., Mityushina L.L., Kuenen J.G. (2001): *Thioalkalivibrio thiocyanoxidans* sp. nov. and *Thioalkalivibrio paradoxus* sp. nov., novel alkaliphilic, obligately autotrophic, sulfur-

- oxidizing bacteria capable of growth on thiocyanate, from soda lakes. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 2157-2163.
- Sorokin D.Y., Lysenko A.M., Mityushina L.L., Tourova T.P., Jones B.E., Rainey F.A., Robertson L.A., Kuenen G.J. (2003): *Thioalkalimicrobium aerophilum* gen. nov., sp. nov. and *Thioalkalimicrobium sibericum* sp. nov., and *Thioalkalivibrio versutus* gen. nov., sp. nov., *Thioalkalivibrio nitratis* sp. nov. and *Thioalkalivibrio denitrificans* sp. nov., novel obligately alkaliphilic and obligately chemolithoautotrophic sulfur-oxidizing bacteria from soda lakes. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53: 1779-1783.
- Spanggard, R. J., Spain, J. C., Nishino, S. F., Mortelmans, K. E. (1991): Biodegradation of 2,4-dinitrotoluene by a *Pseudomonas* sp. Appl. Environ. Microbiol. 57: 3200-3205.
- Specziár, A., (2008): Life history patterns of *Procladius choreus*, *Tannypus punctipennis* and *Chironomus balatonicus* in Lake Balaton. Annales de Limnologie-International Journal of Limnology 44: 181-188.
- Spring, S., Schulze, R., Overmann, J., Schleifer, K. (2000): Identification and characterization of ecologically significant prokaryotes in the sediment of freshwater lakes: molecular and cultivation studies, FEMS Microbiology Reviews 24: 573-590.
- Stackebrandt E., Liesack W. (1993): Nucleic acids and classification. In: Goodfellow M., O'Donnel A. (eds.), Handbook of New Bacterial Systematics. Academic Press, New York, pp. 151-194.
- Suzuki, M., Giovannoni, S. (1996): Bias caused by template annealing in the amplification of mixtures of 16S rRNA genes by PCR. Appl. Environ. Microbiol. 62: 625-630.
- Szabó, G., Borsodi, A., Vladár, P., Cech, G., Tóth, E., Boros, E., Márialigeti, K. (2004): Kiskunsági Nemzeti Park szikes tavainak bakteriológiai vizsgálata. Hidrol. Közl. 84 (5-6): 147-150
- Szabó, Zs: (1982): A Balaton-mederiszap baktériumnépességének számítógépes analízise. I. A Micromonospora -populáció. MTA Biol. Oszt. Közl. 25: 201–226
- Tamaki, H., Sekiguchi, Y., Hanada, S., Nakamura, K., Nomura, N., Matsumura, M., Kamagata, Y. (2005): Comparative analysis of bacterial diversity in freshwater sediment of a shallow eutrophic lake by molecular and improved cultivation-based techniques. Appl. Environ. Microbiol. 71: 2162-2169.
- Tamásné D. Zs. (1999): Hazai szikes vizeink kémiai jellege. Acta Biol. Debr. Oecol. Hung. 9: 281-292.
- Tátrai, I., Mátyás, K., Korponai, J., Szabó, G., Pomogyi, P., Héri, J. (2005): Response of nutrients, plankton communities and macrophytes to fish

- manipulation in a small eutrophic wetland lake. *Internat. Rev. Hydrobiol.* 90: 511–522.
- Tátrai, I., Istvánovics, V., Tóth, L., Kóbor, I. (2008): Management measures and long-term water quality changes in Lake Balaton (Hungary), *Fund. App. Lim.* 172: 1-11.
- Tiago, I., Chung, A. P., and Verissimo, A. (2004): Bacterial diversity in a nonsaline alkaline environment: heterotrophic aerobic populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 7378-7387.
- Tindall B.J. (1988): Procaryotic life in alkaline, saline, athalassic environment. In: Rodriguez-Valera (ed.): *Halofilic bacteria* Alicante, Spain: CRC Press Inc., Boca Raton, Florida pp. 31-67.
- Tóth, E., (1996): The species composition of oligotrophic bacterial communities of Lake Balaton – a numerical analysis. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 43: 333-338.
- Törnblom, E., Rydin, E. (1997): Bacterial and phosphorus dynamics in profundal Lake Erken sediments following the deposition of diatoms: a laboratory study. *Hydrobiologia* 364: 55-63.
- Tsubokura, A., Yoneda, H., Mizuta, H. (1999): *Paracoccus carotinifaciens* sp. nov., a new aerobic Gram-negative astaxanthin-producing bacterium. *Int J Syst Bacteriol* 49: 277-282.
- Uhlmann, D., Bauer, H. (1988): A remark on microorganisms in lake sediments with emphasis on polyphosphate-accumulating bacteria. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 73: 703-708.
- V.-Balogh, K., Vörös, L., Tóth, N., Bokros, M. (2003): Changes of organic matter quality along the longitudinal axis of a large shallow lake (Lake Balaton). *Hydrobiologia* 506-509: 67-74.
- V-Balogh, K, Németh B., Vörös L. (2010): Szerves anyagok magyarországi fehér színű szikes tavakban. *Acta Biologica Debrecina* 22: 75-86.
- Vallaëys, T., Topp, E., Muyzer, G., Macheret, V., Laguerre, G., Rigaud, A., Soulas, G. (1997): Evaluation of denaturing gradient gel electrophoresis in the detection of 16S rDNA sequence variation in rhizobia and methanotrophs. *FEMS Microbiology Ecology* 24: 279-285.
- Váradi, Z., Fehér G. (2010): Kiskunsági szikes tavak kémiai vizsgálata. *Acta Biologica Debrecina* 22: 53-74.
- Ventosa, A., Márquez, M. C., Garabito, M. J., and Arahal, D. R. (1998): Moderately halophilic gram-positive bacterial diversity in hypersaline environments. *Extremophiles* 2: 297-304.
- Victorio, L., Gilbride, K. A., Allen, D. G., Liss, S. N. (1996): Phenotypic fingerprinting of microbial communities in wastewater treatment systems. *Water Research* 30: 1077-1086.
- Vogel, B., Jorgensen, K., Christensen, H., Olsen, J., Gram, L. (1997):

- Differentiation of *Shewanella putrefaciens* and *Shewanella alga* on the basis of whole-cell protein profiles, ribotyping, phenotypic characterization, and 16S rRNA gene sequence analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2189-2199.
- Vollenweider, R. A. & J. Kerekes, (1982): Eutrophication of waters. Monitoring, assessment and control. OECD Cooperative programme on monitoring of inland waters (Eutrophication control). Environment Directorate, OECD, Paris. 154 p.
- Vörös, L., Callieri, C., Balogh, K., Bertoni, R. (1998): Freshwater picocyanobacteria along a trophic gradient and light quality range. *Hydrobiologia* 369-370: 117-125.
- Vörös, L., V-Balogh, K., Boros, E. (2005): Pikoplankton dominancia szikes tavakban. *Hidrológiai Közlöny* 85: 166-168.
- Vörös, L., Mózes, A., Somogyi, B. (2009): A five-year study of autotrophic winter picoplankton in Lake Balaton. *Hungary, Aquat Ecol* 43: 727-734.
- Vreeland R.H. (1999): The genus *Halomonas*. In: The Prokaryotes 3rd Edition. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., Stackebrandt E. (eds.), Springer, New York, pp. 1098-1109.
- Waara, T., Jansson, M., Pettersson, K. (1993): Phosphorus composition and release in sediment bacteria of the genus *Pseudomonas* during aerobic and anaerobic conditions. *Hydrobiologia* 253: 131-140.
- Wand, H., Laht, T., Peters, M., Becker, P., Stottmeister, U., Heinaru, A. (1997): Monitoring of biodegradative *Pseudomonas putida* strains in aquatic environments using molecular techniques. *Microbial Ecology* 33: 124-133.
- Wang, E., Martínez-Romero, E. (2000): *Sesbania herbacea*–*Rhizobium huautilense* nodulation in flooded soils and comparative characterization of *S. herbacea* -nodulating rhizobia in different environments. *Microbial Ecology* 40: 25-32.
- Warnecke, F., Amann, R., Pernthaler, J. (2004): Actinobacterial 16S rRNA genes from freshwater habitats cluster in four distinct lineages. *Environmental Microbiology* 6: 242-253.
- White, P., Kalff, J., Rasmussen, J., Gasol, J. (1991): The effect of temperature and algal bioass on bacterial production and specific growth rate in freshwater and marine habitats. *Microbial Ecology* 21: 99-118.
- Widdel F., Pfennig N. (1992): The genus *Desulfuromonas* and other Gram-negative sulfur-reducing eubacteria. In: The Prokaryotes 3rd Edition. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., Stackebrandt E. (eds.), Springer, New York, pp. 3379-3389.
- Wintzingerode, F., Göbel, U. B., Stackebrandt, E. (1997): Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-based

- rRNA analysis. FEMS Microbiology Reviews 21: 213-229.
- Wobus, A., Bleul, C., Maassen, S., Scheerer, C., Schuppler, M., Jacobs, E., Röske, I. (2003): Microbial diversity and functional characterization of sediments from reservoirs of different trophic state. FEMS Microbiology Ecology 46: 331-347.
- Wu, Q. L., Zwart, G., Schauer, M., Kamst-van Agterveld, M. P., Hahn, M. W. (2006): Bacterioplankton Community Composition along a Salinity Gradient of Sixteen High-Mountain Lakes Located on the Tibetan Plateau, China. Appl. Environ. Microbiol. 72: 5478-5485.
- Yiyong, Z., Jianqiu, L., Min, Z. (2002): Temporal and spatial variations in kinetics of alkaline phosphatase in sediments of a shallow Chinese eutrophic lake (Lake Donghu). Water Research 36: 2084-2090.
- Yoon, J., Weiss, N., Kang, K. H., Oh, T., Park, Y. (2003): *Planococcus maritimus* sp. nov., isolated from sea water of a tidal flat in Korea. Int J Syst Evol Microbiol 53: 2013-2017.
- Yoon, J., Kang, S., Schumann, P., Oh, T. (2010): *Jeotgalibacillus salarius* sp. nov., isolated from a marine saltern, and reclassification of *Marinibacillus marinus* and *Marinibacillus campisalis* as *Jeotgalibacillus marinus* comb. nov. and *Jeotgalibacillus campisalis* comb. nov., respectively. Int J Syst Evol Microbiol 60: 15-20.
- Yumoto, I. (2007): Environmental and Taxonomic biodiversities of Gram-positive alkaliphiles. in C. Gerday & N. Glansdorff, Eds. Physiology and Biochemistry of Extremophiles. American Society for Microbiology, 295-310.
- Zhang, H., Sekiguchi, Y., Hanada, S., Hugenholtz, P., Kim, H., Kamagata, Y., Nakamura, K. (2003): *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating microorganism, the first cultured representative of the new bacterial phylum Gemmatimonadetes phyl. nov.. Int J Syst Evol Microbiol 53: 1155-1163.
- Zhang, T., Wang, X., Jin, X. (2007): Variations of alkaline phosphatase activity and P fractions in sediments of a shallow Chinese eutrophic lake (Lake Taihu). Environmental Pollution 150: 288-294.
- Zhilina, T. N., Zavarzin, G. A. (1994): Alkaliphilic anaerobic community at pH 10. Current Microbiology 29: 109-112.

9 Tudományos tevékenység jegyzéke

9.1 Az értekezés témakörében, impakt faktorral rendelkező folyóiratban megjelent publikációk jegyzéke

- Borsodi, A. K., Márialigeti, K., Szabó, G., Palatinszky, M., Pollák, B., Kéki, Z., Kovács, A. L., Schumann, P., Toth, E. M. (2008): *Bacillus aurantiacus* sp. nov., an alkaliphilic and moderately halophilic bacterium isolated from Hungarian soda lakes. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 58: 845-851.
- Szabó, G., Khayer, B., Rusznyák, A., Tátrai, I., Dévai, G., Márialigeti, K., Borsodi, A. (2010) Seasonal and spatial variability of sediment bacterial communities inhabiting the large shallow Lake Balaton. Hydrobiologia, DOI: 10.1007/s10750-010-0574-3.

9.2 Az értekezés témakörében, referált folyóiratban megjelent publikációk jegyzéke

- Borsodi, A., Vladár, P., Rusznyák, A., Szabó, G., Sipos, R. & Márialigeti, K. (2005): Tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független molekuláris biológiai vizsgálatok a Kiskunsági NP szikes tavainak baktériumközösségein. Hidrológiai Közlöny 85: 23-25.
- Borsodi, A., Szabó, G., Rusznyák, A., Vladár, P., Pollák, B., Makk, J., Márialigeti, K. (2010): Kiskunsági székek baktériumközösségeinek filogenetikai diverzitása. Acta Biologica Debrecina 22: 87-98.
- Szabó, G., Borsodi, A., Vladár, P., Cech, G., Tóth, E., Boros, E., Márialigeti, K. (2004): Kiskunsági Nemzeti Park szikes tavainak bakteriológiai vizsgálata. Hidrológiai Közlöny 84 (5-6): 147-150.
- Szabó, G., Borsodi, A., Márialigeti, K., Tátrai, I., Dévai, Gy. (2006): Foszfátáz aktiviást mutató és polifoszfátot felhalmozó baktériumfajok vizsgálata sekély vízterekben. Hidrológiai Közlöny. 86: 116-119.

9.3 Egyéb megjelent publikációk jegyzéke

- Rusznyák, A., Szabó, G., Pollák, B., Vágány, V., Palatinszky, M. (2008): Diversity of reed (*Phragmites australis*) stem biofilm bacterial communities in two Hungarian soda lakes. Acta Microbiol. Immun. Hung. 54:339-352.

- Rusznay, A., Vladár, P., Szabó, G., Márialigeti, K., Borsodi, A. (2008): Phylogenetic and metabolic bacterial diversity of *Phragmites australis* periphyton communities in two Hungarian soda ponds. *Extremophiles* 12: 763-773.
- Tátrai, I., Mátyás, K., Korponai, J., Szabó, G., Pomogyi, P., Héri, J. (2005): Response of nutrients, plankton communities and macrophytes to fish manipulation in a small eutrophic wetland lake. *Internat. Rev. Hydrobiol.* 90: 511–522.

9.4 Az értekezés témakörében elhangzott előadások jegyzéke

- Borsodi, A. K., Vladár, P., Rusznay, A., Szabó, G., Sipos, R., Márialigeti, K.: A Kiskunsági Nemzeti Park szikes tavai baktériumközösségeinek tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független molekuláris biológiai vizsgálata. Magyar Mikrobiológiai Társaság 2004. évi Nagygyűlése, 2004. október 7-9.
- Borsodi, A. K., Vladár, P., Rusznay, A., Szabó, G., Sipos, R., Márialigeti, K.: Tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független molekuláris biológiai vizsgálatok a Kiskunsági Nemzeti Park szikes tavainak baktériumközösségein. XLVI. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2005. október 6-8.
- Szabó, G., Borsodi, A., Márialigeti, K., Tátrai, I., Dévai, Gy.: Foszfátáz aktivitást mutató és polifoszfátot felhalmozó baktériumfajok sekélyvíző tavakban. XLVII. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2005. október 5-7.

9.5 Az értekezés témakörében készült poszterelőadások jegyzéke

- Borsodi, A. K., Szabó, G., Vladár, P., Cech, G., Boros, E., Márialigeti, K.: Comparison of the alkaliphilic bacterial communities isolated from two hungarian soda lakes of Kiskunság National Park 14th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Balatonfüred, Hungary, 7-9 October, 2003.
- Borsodi, A. K., Vladár, P., Rusznay, A., Szabó, G., Sipos, R., Márialigeti, K.: Diversity of bacterial communities in Hungarian soda lakes as revealed by cultivation-based and cultivation-independent approaches. (abstract, p.95.). XXIX International Congress of Limnology (SIL), Lahti, Finland, 8-14 August, 2004.
- Borsodi, A. K., Rusznay, A., Szabó, G., Pollák, B., Palatinszky, M., Márialigeti, K., Tóth, E. M.: Bacterial species diversity in a Kiskunság soda lake (Hungary) evaluated by a polyphasic approach. (poster,

- abstract Acta Microbiol. Immun. Hung. Supplement 52:18). 1st Central European Forum for Microbiology, Keszthely, 26-28 October 2005.
- Borsodi, A. K., Szabó, G., Pollák, B., Tóth, E. M., Rusznyák, A., Révész, S., Márialigeti, K.: Bacterial diversity in a soda lake of Kiskunság National Park (Hungary) evaluated by cultivation based and cultivation independent methods. 2nd FEMS Congress, Madrid, Spain, 4-8 July 2006.
- Borsodi, A. K., Pollák, B., Rusznyák, A., Szabó, G., Palatinszky, M., Tóth, E. M., Márialigeti, K.: Bacterial species diversity in soda lakes of Kiskunság National Park (Hungary) compared by cultivation and 16S rRNA gene cloning. 11th International Symposium on Microbial Ecology, Wien, Austria, 20-25 August 2006.
- Khayer, B., Szabó, G., Márialigeti, K., Borsodi, A. K.: Studies on bacterial polyphosphate accumulation and phosphatase activity in three Hungarian shallow lakes. (abstract, Acta Microbiol. Immun. Hung. Supplement 53: 292). Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely, 18-20. October 2006.
- Khayer, B., Szabó, G., Borsodi, A. K., Márialigeti, K.: Cultivation based bacterial diversity of the sediment of Lake Balaton (abstract, Acta Microbiol. Immun. Hung. Supplement 54: 60) 15th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, 18-20 July 2007.
- Szabó, G., Márialigeti, K., Tátrai, I., Dévai, Gy., Borsodi, A. K.: Bacterial species with phosphatase activity and/or polyphosphate reserve in three Hungarian shallow lakes. (abstract, Acta Microbiol. Immun. Hung. Supplement 52: 146). 1st Central European Forum for Microbiology, Keszthely, 26-28. October 2005.
- Szabó, G., Borsodi, A., Vladár, P., Cech, G., Boros, E., Márialigeti, K.: A Kiskunsági Nemzeti Park szikes tavainak bakteriológiai vizsgálata. XLV. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2003. október 1-3.

10 Függelék

GN2 MicroPlate™

A1 water	A2 α-cyclodextrin	A3 dextrin	A4 glycogen	A5 tween 40	A6 tween 80	A7 N-acetyl-D-galactosamine	A8 N-acetyl-D-glucosamine	A9 adonitol	A10 L-arabinose	A11 D-arabitol	A12 cellobiose
B1 l-erythritol	B2 D-fructose	B3 L-fucose	B4 D-galactose	B5 gentiobiose	B6 α-D-glucose	B7 m-inositol	B8 α-D-lactose	B9 lactulose	B10 maltose	B11 D-mannitol	B12 D-mannose
C1 D-melibiose	C2 8-methyl-D-glucoside	C3 D-psicose	C4 D-raffinose	C5 L-rhamnose	C6 D-sorbitol	C7 sucrose	C8 D-trehalose	C9 turannose	C10 xylitol	C11 methyl pyruvate	C12 mono-methyl succinate
D1 acetic acid	D2 cis-aconitic acid	D3 citric acid	D4 formic acid	D5 D-galactonic acid lactone	D6 D-galacturonic acid	D7 D-gluconic acid	D8 D-glucosaminic acid	D9 D-glucuronic acid	D10 α-hydroxy butyric acid	D11 8-hydroxy butyric acid	D12 γ-hydroxy butyric acid
E1 p-hydroxy phenylacetic acid	E2 itaconic acid	E3 α-keto butyric acid	E4 α-keto glutaric acid	E5 α-keto valeric acid	E6 D,L-lactic acid	E7 malonic acid	E8 propionic acid	E9 quinic acid	E10 D-saccharic acid	E11 sebacic acid	E12 succinic acid
F1 bromo succinic acid	F2 succinamic acid	F3 glucuron. amide	F4 alaninamide	F5 D-alanine	F6 L-alanine	F7 L-alanyl-glycine	F8 L-asparagine	F9 L-aspartic acid	F10 L-glutamic acid	F11 glycyl-L-aspartic acid	F12 glycyl-L-glutamic acid
G1 L-histidine	G2 hydroxy L-proline	G3 L-leucine	G4 L-ornithine	G5 L-phenylalanine	G6 L-proline	G7 L-pyroglutamic acid	G8 D-serine	G9 L-serine	G10 L-threonine	G11 D,L-carnitine	G12 γ-amino butyric acid
H1 urocanic acid	H2 inosine	H3 uridine	H4 thymidine	H5 phenyl ethylamine	H6 putrescine	H7 2-amino ethanol	H8 2,3-butanediol	H9 glycerol	H11 D,L-a-glycerol phosphate	H11 glucose-1-phosphate	H12 glucose-6-phosphate

23. ábra A közösségi anyagcsere mintázat vizsgálatához használt BIOLOG GN lemezek szénforrásai