

kerine.borsodi.andrea_3_22

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**SZÉLSŐSÉGES KÖRNYEZETI PARAMÉTEREKHEZ
ALKALMAZKODOTT EXTREMOFIL PROKARIÓTA KÖZÖSSÉGEK
TAXONÓMIAI ÉS ANYAGCSERE SOKFÉLESÉGE**

Kériné Borsodi Andrea

Eötvös Loránd Tudományegyetem
Természettudományi Kar
Biológiai Intézet
Mikrobiológiai Tanszék

Budapest
2022

1. BEVEZETÉS

Földünkön az élet alapját a prokarióták több mint 3,5 milliárd éve létező, sokszínű és folytonosan változó világa képezi. E szabad szemmel láthatatlan szervezetek mára minden lehetséges élőhelyet benépesítettek. Globális elterjedésüket nagymértékben elősegítette, hogy mikroszkopikus méretüknek köszönhetően számos közeg közvetítésével, rendkívül könnyen és gyorsan, nagy távolságokra képesek eljutni. A mikroorganizmusok bár többnyire egysejtűek, mégis jellemzően komplex mikrobiális közösségekben (pl. biofilmekben) élnek, ahol életképességüket és aktivitásukat az egymással, környezetükkel és más szervezetekkel kialakuló interakciók sokasága szabályozza.

A modern prokarióta világ a geológiai-fizikai-kémiai tényezők széles keretei között létezik, és egyebek mellett olyan megnyilvánulási formáival találkozhatunk, melyek alkalmazkodtak az ember számára rendkívüli geofizikai (pl. hőmérséklet, nyomás) és geokémiai (pl. szalinitás, pH, oxigénhiány, redox-potenciál) körülményekhez (Madigan & Marris 1997; Pikuta és mtsai 2007; Gupta és mtsai 2014; Coker 2019; Shu & Huang 2022). Az ún. extrémofil szervezetek gyakran egy vagy akár több környezeti paraméter tekintetében is extrém körülmények között találják meg létfeltételeik optimumát, ezért teljes életciklusukat ilyen környezetben élik le (Rothschild & Mancinelli 2001). Növekedésük és szaporodásuk optimális körülményei az emberi léptékűnek tekintett környezeti feltételeken (37 °C hőmérséklet, pH = 7,4 kémhatás, 101,3 kPa nyomás, ~10 mM (édesvíz) és ~0,6 M (tengervíz) közötti sókoncentráció stb.) jelentősen kívül eső értékeken figyelhetők meg (Pakchung és mtsai 2006).

A szélsőséges körülményeket kedvelő extrémofilek az élővilág mindhárom (Bacteria, Archaea, Eukarya) doménjében előfordulnak. Osztályozásuk általában azon a rájuk jellemző sajátos környezeti tényezőn alapul, ami számukra az optimális növekedéshez és szaporodáshoz szükséges (**1. táblázat**) (Madigan & Marris 1997; Rampelotto 2013; Gupta és mtsai 2014).

1. táblázat Szélsőséges környezeti tényezőkhöz alkalmazkodott mikroorganizmus csoportok példákkal (Rothschild és Mancinelli 2001; Madigan és mtsai 2021 nyomán)

Környezeti tényező	Megnevezés	Növekedési optimum	Mikroorganizmus (Domén)
Hőmérséklet	Hipertermofil	>80 °C	<i>Methanopyrus kandleri</i> (Archaea)
	Termofil	60-80 °C	<i>Synechococcus lividus</i> (Bacteria)
	Pszichrofil	<15 °C	<i>Psychromonas ingrahamii</i> (Bacteria)
Kémhatás (pH)	Acidofil	pH <3	<i>Picrophilus oshimae</i> (Archaea)
	Alkalofil	pH >9	<i>Natronobacterium gregoryi</i> (Archaea)
Szalinitás	Halofil	2-5 M NaCl	<i>Halobacterium salinarium</i> (Archaea)
Nyomás	Barofil (piezofil)		<i>Moritella yayanosii</i> (Bacteria)
Kiszáradás	Xerotoleráns		<i>Xeromyces bisporus</i> (Eukarya)
Sugárzás	Sugárrezisztens		<i>Deinococcus radiodurans</i> (Bacteria)

Az extrémofilektől vagyis a szélsőségeket kedvelőktől azonban meg kell különböztetnünk azokat a szervezeteket, amelyek különféle adaptációs mechanizmusok révén elviselik, túlélnek az extrém körülményeket. Utóbbiakat extrémotoleránsoknak nevezzük. Ezek túlélő képletek vagy változatos molekuláris mechanizmusok segítségével képesek a kedvezőtlen környezeti feltételeket átvészelni (Rampelotto 2013; Gupta és mtsai 2014).

A természetben az extrém környezeti feltételek gyakran nem külön-külön, hanem együttesen fordulnak elő (pl. magas hőmérséklet és alacsony pH, vagy alacsony hőmérséklet és nagy nyomás párosul egymással). Az ilyen többszörösen extrém körülményeket kedvelő szervezeteket poliextremofileknek nevezzük. A Földön számos olyan különleges élőhelyet találunk, amelyek emberi szemszögből nézve élehetetlenek, de amelyekhez a mikroorganizmusok az élővilág fejlődéstörténete során alkalmazkodni tudtak.

Az extremofilek és poliextremofilek kutatásának egyik jelentőségét ezért kétségkívül a földi élet határainak a megismerése adja. A Földön az élet korlátait elsődlegesen az energiaforrások (pl. a napsugárzás vagy a redox-reakciók), a folyékony halmazállapotú oldószer (a víz) és az építőelemek (pl. a nukleotidok és az aminosavak) elérhetősége jelöli ki, amire a környezeti tényezők (pl. a hőmérséklet, a pH, a nyomás) is számottevő hatással vannak. Extremofil mikroorganizmusokban bővelkedő élőhelyek közé tartoznak például a vulkanikus hőforrások, a sarkvidéki tengereket vagy tavakat borító jégpáncélok, a gleccserek, olyan talajok vagy vizes élőhelyek, ahol a $\text{pH} \leq 2$ vagy ≥ 10 , illetve a mélytengerek, ahol a nyomás meghaladhatja az 1000 atmoszférát (Schmid és mtsai 2020; Shu & Huang 2022).

Az utóbbi évtizedek extremofilekkel kapcsolatos kutatásainak eredményeképpen egyre inkább kitolódtak azok a környezeti határok, melyek között az élet bizonyítottan létezni képes (Madigan & Marris 1997; Rothschild & Mancinelli 2001; Harrison és mtsai 2013; Merino és mtsai 2019; Madigan és mtsai 2021; Shu & Huang 2022). Ez egyrészt az extrém élőhelyek meghódítását segítő modern technológiai eszközöknek, másrészt a rendelkezésünkre álló mikrobiológiai vizsgálati módszerek rohamos fejlődésének köszönhető. Ennek ellenére valószínű, hogy az abszolút határokat, ha ilyenek léteznek egyáltalán, még nem fedezték fel.

Az extremofilekről szerzett ismeretek támpontot adhatnak az általunk ismert fizikai és kémiai törvények által meghatározott, lehetséges extraterresztriális életformák kutatásához is (Cavicchioli 2002; Cayol és mtsai 2015; Coker 2019). Az extremofilekkel benépesült egyes földi élőhelyek (az ún. Mars-analóg területek) hasonlítanak a más bolygókon jellemző körülményekhez, ezért az extremofilek adaptációs és túlélési mechanizmusainak a megismerése hozzásegít bennünket a Földön kívüli élet lehetőségének megértéséhez is (Cavicchioli 2002). A mikroorganizmusok nemcsak a Föld rendkívül szélsőséges körülményei között képesek szaporodni, hanem túlélhetik a világűr mostoha körülményeit (pl. az erős sugárzást, a mikrogravitációt, a szélsőségesen változó hőmérsékletet) is (Merino és mtsai 2019).

Az extremofilek és poliextremofilek genetikai és anyagcsere sokféleségével, változó és szélsőséges feltételekhez történő adaptációs mechanizmusaival, továbbá a környezetükkel való kölcsönhatásokkal kapcsolatos kutatások eredményei jelentős mértékben hozzájárultak ahhoz, hogy megismerjük ezeknek a különleges mikroorganizmusoknak az elemek biogeokémiai ciklusaiban a lokális léptéktől egészen akár a globális mértékig játszott szerepét (Sorokin és mtsai 2014; Martínez-Espinosa 2020; González & Terrón 2021).

Kiemelkedő jelentőséggel bír, hogy sokszor nemcsak maguk az extremofilek vagy a felépítésükben és működésükben résztvevő makromolekulák, hanem anyagcseretermékeik is különlegesek. Ezáltal nemcsak természetes környezetükben tölthetnek be specifikus feladatokat, hanem az emberiség szolgálatában is. Az extremofilek és extremozimeik (az extremofilek által termelt enzimek) sokoldalú alkalmazása ma már vitathatatlanul mindennapi életünk részét képezi (Coker 2016).

2. A KUTATÁSOK CÉLKITŰZÉSEI

Az értekezésben foglalt kutatások célja különböző szélsőséges fizikai-kémiai tulajdonságokkal jellemezhető, elsősorban hazai élőhelyek és egy távoli földrész többszörösen extrém körülményei között előforduló és a különleges feltételekhez alkalmazkodott, extremofil és poliextremofil prokarióta közösségek taxonómiai összetételének feltárása és az ismert taxonok anyagcsere képességei alapján a mikroorganizmusok biogeokémiai ciklusokban betöltött lehetséges szerepének a felvázolása volt.

- Kutatásaink során célul tűztük ki magyarországi szikes élőhelyek alkalofil és halofil mikrobiális taxonómiai és anyagcsere diverzitásának feltárását és összehasonlítását,
 - a szélsőséges időjárás természetes és mesterséges alkalikus-sós állóvizek planktonikus baktériumközösségeire gyakorolt hatásának vizsgálatával,
 - a kiskunsági szikes talajok sótűrő növénytársulásainak rizoszférájában élő baktériumközösségek taxonómiai összetétele, metabolikus potenciálja és a szélsőséges időjárási körülmények közötti összefüggések elemzésével,
 - a tudományra nézve új extremofil baktériumfajok polifázikus taxonómiai jellemzésével.
- Céljaink között szerepelt hazai mélyfúrású kutak termálvizére jellemző termofil/hipertermofil baktérium és archaea közösségek összetétele és a vizek fizikai-kémiai tulajdonságai közötti összefüggések megismerése,
 - termálfürdőket ellátó kutak termálvizének és biofilmképző prokarióta közösségeinek taxonómiai diverzitás vizsgálatával,
 - energetikai célra hasznosított dél-alföldi termálkutak vizéből kimutatható prokarióta diverzitás felderítésével.
- Célunk volt a hipogén karsztosodási folyamatokhoz kapcsolódó poliextremofil mikroorganizmusok morfológiai és taxonómiai változatosságának felderítése,
 - a Budai-termálkarszt (BTK) központi és déli megcsapolódási területén a termálvizek és a biofilmképző baktériumközösségek taxonómiai sokféleségének feltárásával,
 - a BTK egyik forrásbarlangjában *in situ* végbemenő biofilm képződés nyomon követésével,
 - egy hazai regionális karsztrendszer megcsapolódási végpontjain a különböző típusú hipogén barlangi mikrohabitatok baktériumközösségeinek összehasonlításával,
 - a tudományra nézve új extremofil baktériumfajok polifázikus taxonómiai jellemzésével.
- Célul fogalmaztuk meg az Ojos del Salado (Száraz-Andok) vizes élőhelyeinek szélsőséges környezeti feltételeihez alkalmazkodott poliextremofil prokarióta közösségek taxonómiai változatosságának feltérképezését,
 - negatív vízháztartású magashegységi sekély sós tavak halofil és sugárrezisztens baktériumközösségeinek diverzitás vizsgálatával,
 - egy permafroszt olvadéktóban a pszichofil, oligokarbofil és xerotoleráns baktériumközösségek sokféleségének tanulmányozásával,
 - az Ojos del Salado egyik vulkáni kráter-tavában előforduló acidofil és termofil baktériumközösségek vizsgálatával.

3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

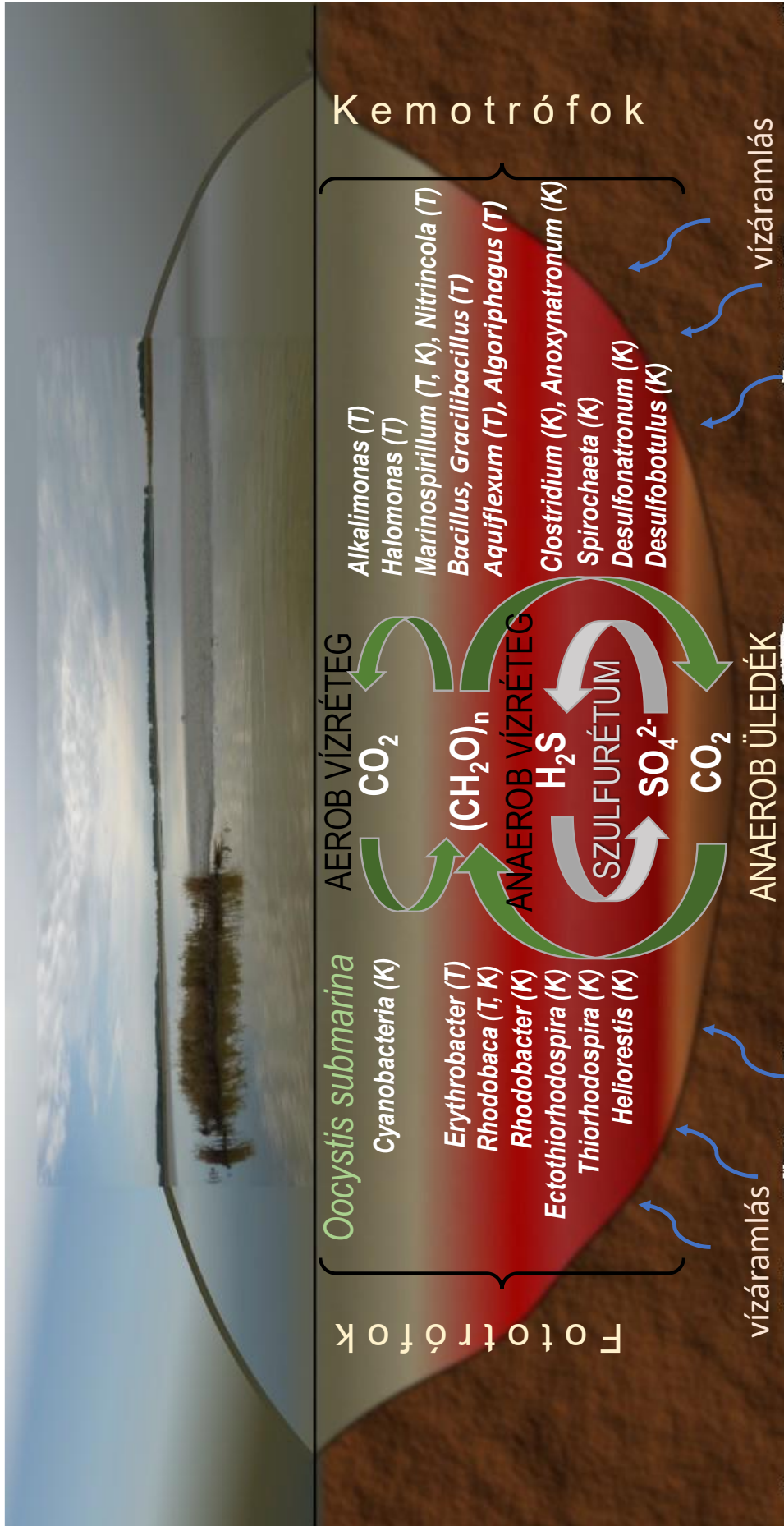
3.1. Magyarországi alkalikus-sós vizes és teresztrikus élőhelyek extremofil baktériumközösségeinek taxonómiai és anyagcsere diverzitása

3.1.1. A szélsőséges időjárás hatása természetes és mesterséges alkalikus-sós állóvizek planktonikus baktériumközösségeire

A Dunatétlenhez közeli Böddi-szék egyike a Kiskunsági Nemzeti Park területén fekvő, fehér színű, zavaros vizű, nagy kiterjedésű, sekély szikes (Na^+ , $\text{Cl}^- > \text{HCO}_3^-$) vizeknek (Ecsedi & Boros 2013). 2008 júniusában egy több napos szélesenedés időszakban az intenzív napsugárzás hatására fellépő erőteljes párolgás a szikes víztest kiszáradásához vezetett. Ezt megelőzően a mindössze kb. 5-6 cm-es vízrétegben egy szokatlan jelenséget, zöldalga (*Oocystis submarina* Lagerheim) tömegprodukciónak figyeltünk meg. A rendkívül sekély vízben két réteg különült el egymástól, a felszíni vízréteg sárgászöld színű volt, míg az üledékfelszínnel határos vízréteg rózsaszínből bíborba hajló biogén elszíneződést mutatott. A helyszíni mérések alapján a mintavétel idején a víz hőmérséklete 33 °C-os, a fajlagos elektromos vezetőképesség 15,7 mS cm⁻¹, a pH 9,7, az oldott oxigén tartalom 32,7 mg l⁻¹ (458%) volt (Borsodi és mtsai 2013). Észlelésünket megelőzően Euráziában hasonló jelenségről csak sekély vizű mongóliai szikesek esetében számoltak be (Sorokin és mtsai 2004).

Vizsgálatunk során e különleges környezeti körülmények között kialakult planktonikus tömegprodukciónak hátterében szerveződött mikrobiális közösség összetételének és lehetséges anyagcsere kapcsolatrendszerének a megismerésére törekedtünk tenyésztésen alapuló és molekuláris klónozásos módszerek párhuzamos alkalmazásával (Borsodi és mtsai 2013).

A Böddi-szék rendkívül sekély víztestjében kialakult kettős rétegű vízvirágzás idején gyűjtött vízminták kombinált módszertani megközelítéssel elvégzett mikrobiológiai vizsgálata során alkalofil és halofil baktériumok nagy taxonómiai diverzitását tártuk fel (Borsodi és mtsai 2013). Az azonosított taxonok metabolikus képességeinek ismeretében azt feltételeztük, hogy nemcsak a különleges környezeti tényezők, hanem a víztestben jelenlévő extremofil prokarióta szervezetek közötti változatos anyagcsere-kapcsolatok is nagymértékben hozzájárulhattak az *Oocystis submarina* zöldalga tömegprodukciónak visszavezethető, felső zöld színű és az anoxikus bíbor kén- és nemkén baktériumok tömeges elszaporodásával összefüggő, alsó bíborvörös színű rétegek kialakulásához (**I. ábra**). Ebben a közösségi anyagcsere-hálózatban elsősorban a biológiai szén- és kén-ciklusban szerepet játszó szervezetek szoros összefonódását valószínűsítettük. A víztest felső, oxigénben dús részében a primer produkció (oxigéntermelő fotoautotróf anyagcsere) fő letéteményesei a zöldalgák, kisebb mértékben a cianobaktériumok lehettek. Az ez alatti fénysegény és oxigénhiányos környezet az anoxikus fototróf anyagcserét folytató bíbor kén és nem-kén baktériumok, valamint heliobaktériumok szaporodásának kedvezett, melyek redukált kénvegyületek és hidrogén (fotolitotróf) vagy egyszerű szerves anyagok (fotoorganotróf) oxidációjával állíthatták elő a számukra szükséges energiát. A felső vízrétegben az aerob kemoorganotróf heterotróf anyagcserét folytató baktériumok vehettek részt a primer produkció során keletkezett szerves szénvegyületek teljes lebontásában (mineralizáció). Az alsó vízrétegben a komplex szerves anyagok biodegradációja az elsődleges fermentálók által végzett részleges lebontással kezdődhetett (acidogenezis). Ehhez kapcsolódhatott a fermentációs végtermékeket (pl. szerves savakat) részleges vagy teljes oxidációval hasznosító szulfátredukálók anyagcsereje. Utóbbiak a szulfát disszimilatorként redukációjával biztosíthatták az anoxikus fototrófok számára szükséges redukált kénvegyületeket. A metabolikus kapcsolatok eredményeképpen a vízvirágzás idején ily módon egy szulfurétumnak is nevezett, lokális biológiai kén-ciklus is kialakulhatott.



I. ábra A Böddi-szék vizéből a 2008-as *Oocystis submarina* zöldalga tömegtermelési idején azonosított extrémofil baktériumfajok anyagcsere tulajdonságai alapján feltételezett kapcsolatok a szén és a kén lokális biogeokémiai ciklusokban (Rövidítések: tenyésztés, T; klónozás, K.)

A kiskunsági szikes vizekben észlelthez hasonló, rózsaszínből bíbor színbe váltó vízvirágzás a nyári időszakokban évről évre megfigyelhető volt egy, a délföldi régióban található és energetikai célra hasznosított, termásvíz időszakos befogadására szolgáló hűtő-tározótóban is. A közel É-D-i tájolású Therm-Organ (TO) tavat egy kiépített csöcsonkból egész évben csurgalékvízzel táplálják. A tározott vizet a fűtési időszakban (október és április között) szakaszosan ürítik le a tó közepén elhelyezett leeresztő műtárgyon keresztül (nyáron nincs vízelvezetés). A tó vízmélysége egy működési év folyamán átlagosan 42 ± 3 cm és 146 ± 14 cm között változik. A vizsgált időszakban a víz hőmérséklet $14,4$ °C és $27,6$ °C között változott. A víz Secchi-átlátszósága a vízmélység növekedésével, valamint a nyár előrehaladtával fokozatosan csökkent, augusztus végére már csak 5 cm volt. A fajlagos elektromos vezetőképesség értékek $4,0$ - $5,7$ mS cm⁻¹ értékek között mozogtak. A vízszint és a sótartalom változásától függetlenül a TO-tó vize stabilan alkalikus volt, a pH értéke $8,7$ és $9,3$ között maradt. A vizsgált alkalikus és nagy sótartalmú tározótó vizére jellemző általános fizikai és kémiai tulajdonságok hasonlóak voltak a kiskunsági szikes tavakéhoz. A TO-tóban ugyanakkor a tározási időszak alatt mindvégig jelentős, a használt termásvízből származó aromás szénhidrogén koncentrációt mértek. A szintén kombinált (mikroszkópos, tenyésztéses és molekuláris klónozásos) módszertani megközelítéssel kapott eredményeink alapján kimutattuk, hogy a tározótó vizének kémiai tulajdonságai és biológiai minősége a tározási időszakban a befolyó termál csurgalékvíz mennyiségétől és tartózkodási idejétől, valamint a szennyezőanyagok átalakításában résztvevő mikrobaközösségek összetételétől és aktivitásától függően jelentősen megváltozott. A kialakult vízvirágzásért a fotoszintetizáló, planktonikus cianobaktériumok mellett az anoxikus fototróf bíbor kén- és nemkén baktériumok (többnyire nitrogénfixációra is képes) fajai lehettek felelősek. A különleges környezeti viszonyokhoz alkalmazkodott extremofilek változatos módon (pl. oxigéntermelő és anoxikus fotoszintézissel, a szerves anyagok, beleértve a szénhidrogének aerob/anaerob lebontásával, denitrifikációval, nitrogénkötéssel, szulfátredukcióval) járulhattak hozzá a TO-tározótóban végbemenő komplex mikrobiológiai folyamatokhoz. A szerves anyagok lebontását végző kemoorganotrófok között nagy arányban mutattunk ki aromás szénhidrogének aerob vagy anaerob lebontására képes alkalofil és/vagy halofil, denitrifikáló és szulfátredukáló baktériumokat, melyek anyagcseréjükkel számottevő mértékben hozzájárulhattak a tóvíz szerves szennyezőanyag tartalmának a tározási idő alatt bekövetkezett jelentős csökkenéséhez. Vizsgálataink eredményeink megerősítették, hogy az energetikai célú hasznosításra kinyert termásvizek átmeneti hűtőtavas tározása után az élővízbe való elvezetés nem a legmegfelelőbb eljárás, azonban a vizsgált tó extrém környezeti feltételeihez adaptálódott baktériumközösségek xenobiotikum degradációs aktivitásuk révén képesek jelentősen mérsékelni a technológiával kapcsolatos környezetszennyezési kockázatokat (Borsodi és mtsai 2016).

3.1.2. Kiskunsági szikesekben élő sótűrő növénytársulások talaj baktériumközösségeinek taxonómiai összetétele, összefüggésben a szélsőséges időjárási körülményekkel

A Kiskunsági Nemzeti Parkban Apajpuszta területén a szolonyec a jellemző genetikai talajtípus, de mozaikosan más szikes talajok (szoloncsák-szolonyec és szoloncsák) is előfordulhatnak (Kuti és mtsai 2003). A térségben a felszínközeli sókoncentráció alakulásában és ezáltal a jellegzetes, mozaikos növénytársulások létrejöttében meghatározó szerepe van a mikrodomborzati (akár néhány 10 cm-nyi) térszint különbségeknek (Molnár & Borhidi 2003; Borhidi 2007). A szélsőségesen változó időjárási körülmények, pl. a kiszáradás-nedvesedés ciklusok szembevető, sőt olykor drámai változásokat idéznek elő ezekben a szikes talajokban. Egy ilyen kiszáradás-nedvesedés ciklus két végállapotában vizsgáltuk a különleges időjárási viszonyok hatását jellegzetes kiskunsági szikes növénytársulások talajában a mikrobaközösségek metabolikus aktivitására és taxonómiai diverzitására (Borsodi és mtsai 2021). Vizsgálatainkhoz a talajok mikrobiológiai szempontból legaktívabbnak tekintett 0-10 cm-es rétegéből gyűjtöttünk mintákat 2014 júniusában és szeptemberében. A mikrobaközösségek katabolikus

aktivitásának térbeli és időbeni változását MicroResp technikával hasonlítottuk össze. Horikoshi-féle alkalikus (DSM 940) és módosított R2A (DSM 830) táptalajokon kitenyésztett törzsekkel a tenyésztethető, Roche GS Junior platformon végzett piroszekvenálással a tenyésztéstől független taxonómiai diverzitást határoztuk meg, a baktériumok 16S rRNS génszakaszának bázissorrend elemzése alapján.

Az apajpusztai térségben gyűjtött felszínközeli talajminták közül a legnagyobb fajlagos elektromos vezetőképesség és pH értékekkel jellemezhető (vagyis a legextrémebb) vakszik minták esetében mutattuk ki a mikrobaközösségek katabolikus aktivitásában és OTU számában a legkisebb értékeket. Ezek az értékek fokozatosan emelkedtek a szikfok, az ürmös és a füves szikes pusztai minták irányában (vagyis az extremitás csökkenésével párhuzamosan). Tenyésztéssel főként az Actinobacteria és a Firmicutes törzsekbe sorolt növény-asszociált, alkalofil és halofil fajok tág tűrőképességű és széleskörű anyacsere képességgel rendelkező képviselőit azonosítottuk. 16S rRNS gén alapú amplikon-szekvenálással a leggyakoribb Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Gemmatimonadetes és Bacteroidetes törzsekbe sorolt filotípusok relatív abundanciájában a kiszáradás-nedvesedés ciklus során jelentős változásokra derítettünk fényt. Az extremitással összefüggő legszorosabb kapcsolatot az Acidobacteria törzshez tartozó szekvenciák esetében figyeltük meg, gyakoriságuk a fajlagos elektromos vezetőképesség csökkenésével és a talaj szervesanyag-tartalmának növekedésével párhuzamosan nőtt. A Gemmatimonadetes törzs képviselői esetében fordított tendenciát találtunk, különösen az újranedvesedés során. Összességében megállapítottuk, hogy a kiskunsági szoloncsák szikes talajok szalinitása és alkalinitása – a térfelszín néhányszor tíz centiméteres egyenetlenségétől és a vízellátási viszonyoktól függően változó szikes növénytársulások típusán keresztül – jelentős hatással volt a mikrobaközösségek aktivitására és összetételére is. A szikesek specifikus tulajdonságaival (mindenekelőtt a fajlagos elektromos vezetőképesség különbségeivel) összhangban kialakult eltérő vegetációtípusok – a köztük lévő csekély földrajzi távolság ellenére is – nagyobb hatást gyakoroltak a talaj mikrobaközösségek anyacsere aktivitására és taxonómiai összetételére, mint az időjárási szélsőségek. Az extrém időjárási körülmények hatásai az egyes taxonómiai csoportok relatív abundanciájának változásában mutatkoztak meg (Borsodi és mtsai 2021).

3.1.3. Hazai szikes környezetekből izolált, a tudományra nézve új extrémofil baktériumfajok polifázikus taxonómiai jellemzése

A hazai szikes élőhelyek környezeti körülményeihez alkalmazkodott extrémofil baktériumközösségek tenyésztésen alapuló vizsgálata során több törzset is jellemeztünk a bakteriológiai fajleírásban előírt polifázikus taxonómiai megközelítéssel (Vandamme és mtsai 1996; Prakash és mtsai 2007), majd azokat a tudományra nézve új alkalofil vagy alkalitoleráns és mérsékelten halofil vagy halotoleráns baktériumfajokként írtuk le. Ezek az alábbiak voltak:

Pannonibacter phragmitetus gen. nov., sp. nov. (Borsodi és mtsai 2003);

Bacillus aurantiacus sp. nov. (Borsodi és mtsai 2008);

Bacillus alkalisediminis sp. nov. (Borsodi és mtsai 2011);

Bacillus kiskunsagensis sp. nov. (Borsodi és mtsai 2017c);

Anaerobacillus alkaliphilus sp. nov. (Borsodi és mtsai 2019);

Cellulomonas phragmiteti sp. nov. (Rusznyák és mtsai 2011);

Nesterenkonia pannonica sp. nov. (Borsodi és mtsai 2017b);

Nitrincola alkalilacustris sp. nov. (Borsodi és mtsai 2017a).

3.2. Hazai mélyfúrású kutak termálvizére jellemző extremofil prokarióta közösségek taxonómiai összetétele

3.2.1. Termálfürdőket ellátó kutak hévizében és biofilmjében előforduló prokarióta közösségek morfológiai és taxonómiai diverzitása

Hazánk kedvező hidrogeológiai adottságainak köszönhetően rendkívül gazdag termál és gyógyvizekben. A Harkányi Gyógyfürdőt ellátó 60 °C-os termálvizet szolgáltató 50-75 m talpmélységű kutak a fürdő területén találhatóak. A dolomitos mészkőrétegből kinyert karsztvíz hidrogén-karbonátos és magas ásványianyag tartalmú. Relatív nagy a szulfid, nátrium és klorid tartalma. A termálvizek a Villányi-hegység mélységi fedett karszt, illetve szénhidrogén-tartó metamorf kőzetek határzónájából származnak. A harkányi termálkút vizének mikrobiológiai vizsgálata során arra a kérdésre kerestünk választ, hogy milyen összefüggés mutatható ki a termálvíz fizikai-kémiai tulajdonságai és a baktériumközösségek összetétele között.

A Budai-termálkarszt (BTK) területén a hidrogeológiai viszonyok (pl. a források/kutak elhelyezkedése, a termálvíz hőmérséklete és a benne oldott ásványi anyagok eredete és koncentrációja) alapján három megcsapolódási rendszer különíthető el egymástól (Alföldi és mtsai 1968; Eröss és mtsai 2012; Déri-Takács és mtsai 2015; Mádl-Szőnyi és mtsai 2017, 2018). A Széchenyi Gyógyfürdőt ellátó városligeti II. sz. termálkút 1246 m mélységben éri el a felső-triász dachsteini mészkövet (Alföldi és mtsai 1968). A kalcium – magnézium – hidrogén-karbonátos termálvíz (73,7 °C) viszonylag nagy mennyiségben tartalmaz nátriumot, szulfátot és kloridot is. A mért redox-potenciál és az összes szerves szén, szulfid, nitrit és nitrát mennyisége alapján a városligeti II. sz. kút (Anda és mtsai 2015) és a harkányi termálkút (Miseta és mtsai 2012) vize hasonlóságot mutat egymással. A városligeti II. sz. termálkút hévizének és a csővezetékben képződött biofilmnek a vizsgálata során a prokarióta közösségek morfológiai struktúrájának és taxonómiai összetételének megismerését tűztük ki célul.

A termálvíz és biofilm minták Bacteria és Archaea közösségeinek összetételét 16S rRNS gén alapú molekuláris klónozással tártuk fel, a biofilm minták szerkezetét pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) technikával is tanulmányoztuk (Miseta és mtsai 2012, 2013; Anda és mtsai 2015). A városligeti és a harkányi termálkutak vízmikrobiótájának összehasonlításával hasonló hidrogeológiai helyzetű és vízkémiai tulajdonságokkal rendelkező karsztos területeken általánosan előforduló extremofilek jelenlétét valószínűsítettük.

Eredményeink alapján a harkányi termálkút vizében a specifikus környezeti feltételekhez alkalmazkodott többségében termofil kemolitotrófok jelenlétére mutattunk rá. Ezek a baktériumok anyagcseréjük révén elsősorban a hévíz kén körforgalmában, azon belül is a szulfid koncentráció szabályozásában vehettek részt (Miseta és mtsai 2012, 2013). A városligeti víz- és biofilm minták klónkönyvtárainak elemzése összességében viszonylag egyszerű, de egymástól jól elkülönülő közösségi szerkezetet mutatott, termofil kemolitotróf fakultatív anaerob (nitrát- és Fe(III)-redukáló) prokarióták dominanciájával. A klónkönyvtárakat a kén- és hidrogénoxidáló baktériumokhoz (*Thiobacillus* és *Sulfurihydrogenibium*), valamint az ammóniaoxidáló ösbaktériumokhoz (*Nitrosocaldus* és *Nitrososphaera*) sorolt filotípusok uralták (Anda és mtsai 2015). A városligeti és a harkányi termálkutakból nyert vízminták baktériumközösségeinek klónkönyvtár alapú vizsgálati eredményei a két hasonló tulajdonsággal jellemezhető karsztos élőhelyen a Betaproteobacteria osztályba tartozó molekuláris klónok dominanciájára világítottak rá. A termofil, kemolitotróf anyagcserére képes kénoxidáló taxonok közül nemzetség szinten azonban csak a *Sulfurihydrogenibium* képviselőinek előfordulása volt közös. Az alacsonyabb taxonómiai szinten feltárt eltérések hátterében a két élőhely közti különbségek (pl. a termálvíz hőfoka, kinyerési mélysége) mellett a klónkönyvtárak korlátozott taglétszámából adódó torzító hatások is felmerültek (Miseta és mtsai 2012; Anda és mtsai 2015).

3.2.2. Energetikai célra hasznosított dél-alföldi termálkutak hévízének extremofil prokarióta diverzitása

A dél-alföldi régióban számos mélyfúrású kutat létesítettek az 1980-as években folytatott szénhidrogén kutatások során. A Szarvas környéki kutak termálvize balneológiai célokra nem alkalmas, ezért azt ipari és mezőgazdasági létesítmények fűtésére használják (Pekár 2008). A vizsgálatba vont működő, 1790-2223 m-es talpmélységű kutakból több mint 90 °C-os hőmérsékletű termálvíz nyerhető ki. A termelőkutak vize enyhén lúgos kémhatású (pH 7,9-8,5) és nagy sótartalommal jellemezhető. Emellett a termálvizek összes fenol, KOI_k és BOI₅ értékei is magasak (Németh és mtsai 2014).

Ezeknek a különleges élőhelyeknek a mikrobiális közösségéről kutatásunkat megelőzően még semmilyen ismerettel sem rendelkezünk. Vizsgálatunk során három mélyfúrású kút termálvizében előforduló Bacteria és Archaea közösségek taxonómiai összetételét térképeztük fel 16S rRNS gén alapú molekuláris klónkönyvtárak létrehozásával (Németh és mtsai 2014).

A mélyfúrású kutak forrásponthoz közeli vizéből azonosított hipertermofil prokarióta közösségek nagymértékben különböztek a termálfürdőkétől, mindenképp az előbbieken mért jóval magasabb (>90 °C-os) vízhőmérséklet, a nagy fajlagos elektromos vezetőképesség és a szerves anyag (fenol) tartalom miatt. A detektált filotípusok többsége hasonló geotermális környezetekből leírt termofil/hipertermofil fajokkal mutatta a legközelebbi rokonságot. Ezeknek az extremofil fajoknak az anyagcsere tulajdonságai alapján a Szarvas környéki kutak vizében élő prokarióták esetében a különféle szerves anyagok (pl. aromás szénhidrogének) transzformációjához is kapcsolódó fakultatív anaerob nitrát-léggző és obligát anaerob szulfát- és kénléggző anyagcserét, továbbá a metanotróf baktériumok, valamint az acetotróf és a hidrogenotróf metanogének által hajtott biológiai metán-ciklus működésére következtítettünk (Németh és mtsai 2014).

3.3. Hipogén karsztosodási folyamatokhoz kapcsolódó oligotróf és sugárrezisztens mikrobaközösségek morfológiai és taxonómiai változatossága

3.3.1. A Budai-termálkarszt központi és déli megcsapolódási területére jellemző termálvizek és biofilmképző baktériumközösségek taxonómiai sokfélesége

A Dunántúli-középhegység észak-keleti peremén, a Budai-termálkarszt (BTK) triász és eocén karbonátos kőzeteiben száznál is több barlang húzódik (Leél-Össy 1995; Leél-össy & Virág 2018). Budapest lakott területe alatt, a fedett és fedetlen karbonátos víztartó rétegek határán, a megcsapolódási pontoknak tekintett kutakon és forrásokon keresztül számos különböző eredetű és hőmérsékletű termálvíz jut a felszínre (Mádl-Szőnyi & Tóth 2015; Déri-Takács és mtsai 2015; Mádl-Szőnyi és mtsai 2017). A központi megcsapolódási területhez tartozó Molnár János-barlang Európa legnagyobb, napjainkban is aktív, hipogén termálkarsztos barlangja (Leél-Össy 1995; Goldscheider és mtsai 2010). A BTK központi termálkarsztos területén az oldott anyagokban gazdag mélységi eredetű, felszálló termálvizek és a csapadékból származtatható, meteorikus karsztvíz keveredése tágas barlangrendszerek kialakulásához vezetett. A barlangvíz nyomelem összetételének és radionuklid tartalmának elemzésével Erőss és mtsai (2012) két szélsőtag, egy meteorikus és egy hidrotermális összetevő különböző mértékű keveredésére visszavezethető korróziós barlangképződési folyamatot igazoltak. A BTK déli megcsapolódási területén ugyanakkor nem találtak számottevő különbséget a felszínre jutó források kémiai összetételében és hőmérsékletében. A Gellért-hegy előterében fakadó és több (pl. Rác-, Rudas-, Gellért) gyógyfürdőt tápláló termálforrásokban a radionuklid elemzések alapján csak hidrotermális összetevőt tudtak azonosítani (Erőss és mtsai 2012). A déli termálkarsztos területen található

lencseszerű, kisebb méretű forrásbarlangokban a mélységi fluidumok és az oldott gázok nagyon változatos karsztos formák kialakulását eredményezték. Itt a meteorikus vizeknek a karsztfejlődési folyamatokhoz való hozzájárulása elhanyagolható (Virág és mtsai 2013).

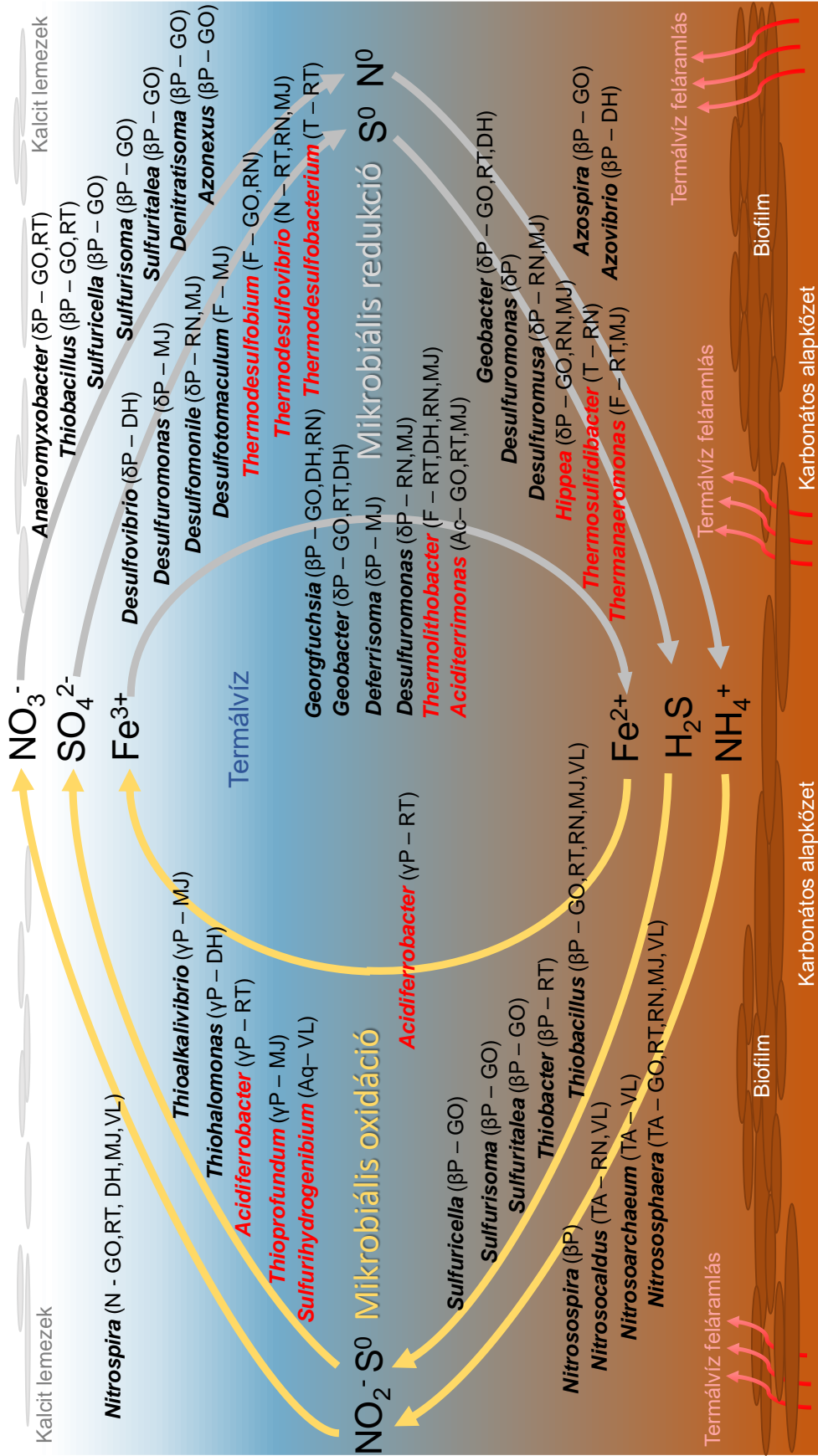
Az első mikrobiológiai kutatásokat a BTK egyik központi és egyik déli megcsapolódási pontjánál hipogén karsztfelszínen fejlődött biofilmeken végeztük (Borsodi és mtsai 2012). A két forrásfeltörési ponton a biofilmek mikroszkópos morfológiai és taxonómiai diverzitás vizsgálatával is egymástól eltérő közösségszerkezetet tártunk fel. A Molnár János-barlang biofilmjében hasonló méretű, hosszú fonalas és pálca alakú sejteket figyeltünk meg többé-kevésbé homogén eloszlásban, ezzel szemben a Rudas-Török-forrásbarlang biofilmjében nagyon változatos morfológiájú sejtek fordultak elő nagy mennyiségű amorf szerves anyag mátrixba (EPS, extracellular polymeric substances) ágyazódva. A filogenetikai elemzések mindkét helyen főként a kén- és a vas-biogeokémiai ciklusában résztvevő, mezofil és termofil baktériumokkal rokon molekuláris klónok meglepően nagy diverzitását mutatták. Ennek ellenére a Molnár János-barlangból származó mintát a Firmicutes törzs, míg a Rudas-Török-forrásbarlangból származót a Deltaproteobacteria osztály képviselői dominálták (Borsodi és mtsai 2012).

Mindez arra ösztönzött bennünket, hogy a BTK területén behatóbban vizsgáljuk az aktív karsztfejlődési (oldódási és kiválási) folyamatokkal összefüggésben lévő (pl. termálvízhez, kőzetfelszíni biofilmhez, vízfelszíni és hipogén barlangi biogeokémiai kiválásokhoz társítható) extrémofil mikrobaközösségeket. A BTK központi és déli megcsapolódási területén a különböző forrásbarlangi élőhelyekhez kapcsolódó mikrobióta morfológiai tulajdonságainak és taxonómiai összetételének átfogó elemzését pásztázó elektronmikroszkópos (SEM), tenyésztéses, molekuláris klónozásos és új generációs pirosekvenálási módszerek alkalmazásával végeztük el. A 2012-ben megkezdett vizsgálataink során választ kerestünk a mikroorganizmusok karsztfejlődési folyamatokban és lokális biogeokémiai ciklusokban betöltött lehetséges szerepére is (Anda és mtsai 2017; Borsodi és mtsai 2018; Enyedi és mtsai 2019).

Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a BTK területén kialakult biofilmek morfológiai szerkezetét és taxonómiai összetételét nagymértékben befolyásolták a felszínalatti vizek regionális áramlási rendszerei, a feltörő forrásvizek fizikai és kémiai tulajdonságai és a forrásbarlangok anyakőzetének a típusa is. A BTK különböző megcsapolódási pontjairól származó biofilm minták SEM felvételein ásványi szemcséket és főként nagy mennyiségű EPS mátrixba ágyazott, hálózatos szerkezetű fonalas baktériumot figyeltünk meg és feltártuk a biofilmeket alkotó baktériumsejtek morfológiai változatosságát is (Anda és mtsai 2017; Borsodi és mtsai 2018).

A BTK egyedi hidrogeológiai sajátosságainak köszönhetően a kutatásba vont molekuláris klónok a legnagyobb szekvencia-egyeztést főként más karsztbarlangi és termálforrás-környezetből származó, de tenyésztésbe még nem vont környezeti klónszekvenciákkal mutatták. A legközelebbi rokon fajok ismert metabolikus tulajdonságai alapján azonban feltételezhető, hogy a mezofil és termofil, anaerob kén-, szulfát-, nitrát- és vas(III)-redukáló kemoorganotróf, valamint kén-, ammónia- és nitritoxidáló kemolitotróf prokarióták komplex anyagcsere-hálózatokat tartanak fenn a vizsgált biofilmekben (2. ábra). Ez egyúttal rávilágít a nitrogén-, a kén- és a vas-körforgalomban részt vevő mikrobiális anyagcsere-folyamatok nagy változatosságának a jelentőségére ebben az afotikus, igen alacsony autochton szerves széntartalmú, különleges környezetben (Anda és mtsai 2017; Borsodi és mtsai 2018).

A biofilm minták részletes összehasonlító elemzése során nagyon változatos, a Proteobacteria, az Acidobacteria, az Aquificae, a Chlorobi, a Chloroflexi, a Firmicutes, a Nitrospirae, a Planctomycetes, a Parcubacteria és a Thaumarchaeota törzsekbe sorolt filotípusok által dominált taxonómiai kompozíciót tártunk fel, molekuláris klónozással és új generációs pirosekvenálással egyaránt. A termálkarszt vizében ezzel szemben nagymértékben leegyszerűsödött, csaknem kizárólagosan Betaproteobacteria filotípusok által uralt közösségi összetételt mutattunk ki.



2. ábra A BTK biofilm mintákból azonosított baktérium nemzetségeknek a nitrogén-, a kén- és a vas biogéokémiai ciklusában feltételezett szerepe (Rövidítések: MJ – Molnár János-barlang; RN – Rác Nagyforrás; RT – Rudas-Török forrásbarlang; DH – Diana-Hygieia termálforrás; GOB – Gellért-Ósforrás; Aq – Aquificae; Ac – Actinobacteria; F – Firmicutes; N – Nitrospirae; BP – Betaproteobacteria; γP – Gammaproteobacteria; δP – Deltaproteobacteria; T – Desulfobacterota; TA – Thaumarchaeota. A piros színnel jelölt nemzetségeknek termofil/hipertermofil taxonokra utalnak.)

Különböző erősségű gamma-sugárzással kombinált tenyésztési vizsgálataink során az Actinobacteria, a Firmicutes, a Proteobacteria, a Bacteroidetes és a Deinococcus-Thermus taxonok közel 100 különböző baktériumfajának, akár 15 kGy sugárdózissal szemben rezisztenciát mutató képviselőjét vontuk tenyésztésbe a BTK kőzetfelszíni biofilmjéből. A besugárzott minták tenyészhető baktériumai között a Gram-pozitív, spóráképző vagy pigmenttermelő törzsek domináltak, amelyek ily módon is alkalmazkodtak a hipogén barlangok szélsőséges környezeti feltételeihez (Enyedi és mtsai 2019). Kutatásaink eredményeinek összegzésekként megállapíthatjuk, hogy a komplex módszertani megközelítés alkalmasnak bizonyult a BTK központi és déli megcsapolódási területére jellemző termálvizek és biofilmképző extrémofil baktériumközösségek taxonómiai sokféleségének tanulmányozására és megismerésére, a mintavételi helyek és mintatípusok szerinti fizikai-kémiai és mikrobiológiai különbségek feltárására, a lehetséges ok-okozati összefüggések elemzésére, a tenyészhető sugárrezisztens baktériumok azonosítására és toleranciaképességének tesztelésére (Anda és mtsai 2017; Borsodi és mtsai 2018; Enyedi és mtsai 2019).

3.3.2. A Rudas Gyógyfürdő forrásbarlangjában *in situ* végbemenő biofilm képződés nyomon követése mikroszkópos és új generációs piroszekvenálási módszerekkel

A BTK központi és déli megcsapolódási területén végzett átfogó vizsgálatok eredményei egybehangzóan azt mutatták, hogy a barlangi kőzetfelszínen kifejlődött és a karsztosodási folyamatokban kulcsfontosságú szerepet játszó biofilm közösségek morfológiai és taxonómiai komplexitásukban is alapvetően eltérnek a mélyből feltörő termálvizek mikrobiótájától. Kutatásunk folytatásként ezért a BTK-ra jellemző biofilm képződés folyamatát a Rudas-Török forrásbarlang medencéjében – mint egy antropogén hatásoktól mentes „természetes laboratóriumban” – monitoroztuk. Az *in situ* kísérlet egy éve alatt, rendszeres mintavételezéseket követően, mikroszkópos technikákkal vizsgáltuk a mesterséges szubsztrátumon fejlődő biofilm morfológiai szerkezetében bekövetkező változásokat, és nagy áteresztőképességű 16S rRNS gén alapú piroszekvenálással követtük nyomon a baktériumközösségek taxonómiai összetételének átalakulását (Anda és mtsai 2020).

A fizikai és kémiai paraméterek alapján viszonylag állandónak tekinthető környezetben – a mikroszkópos megfigyelések és a 16S rRNS gén alapú piroszekvenálási vizsgálatok eredményeiből számított fajszámbecslés és diverzitás index eredmények alapján – a morfológiailag komplex, érett biofilm szerkezet kialakulásához 9-12 hétre volt szükség. Bár a törzs (phylum) szintű taxonómiai diverzitás már a biofilm képződés 3. hetében elérte a maximumot, a kísérlet teljes időtartama alatt egyes taxonómiai csoportok relatív abundanciájában jelentős változásokat mutattunk ki, ami a közösségen belüli kapcsolatrendszerek folyamatos átstrukturálódására utalt. A Chloroflexi törzs képviselői a teljes egyéves vizsgálati időszakban a biofilmek baktériumközösségének csaknem egynegyedét tették ki. A *Nitrospira* nemzetség (Nitrospirota) képviselői a 6. héten voltak a biofilm leggyakoribb közösségalkotói, míg a Planctomycetota törzs tagjai a 12. héttől kezdve váltak dominánssá. A Proteobacteria törzs jelentős taxonómiai diverzitást mutatott mind a víz-, mind a biofilm mintákban. A BTK mintákban a kísérleti idő előrehaladtával, vagyis a biofilm érése során a nem osztályozható Bacteria taxonok aránya folyamatosan nőtt. Mindez a BTK különleges környezeti feltételeihez alkalmazkodni képes, mindeztáig ismeretlen extrémofil prokarióta közösségnek meglepően nagy, de még mindig javarészt rejtőzködő taxonómiai sokféleségéről árulkodott. Egy év elteltével a mesterséges aljzaton kifejlődött biofilm közösségszerkezete nagyfokú hasonlóságot mutatott a barlangok kőzetfelszínén természetes körülmények között képződött biofilmekével, de jelentősen eltért a környező barlangvíz planktonikus baktériumközösségeinek összetételétől. A termálvíz mintát egyetlen OTU dominálta, ami a kemolitotróf kénoxidáló *Sulfuritortus calidifontis* (Kojima és mtsai 2017) baktériumfajjal mutatta a legnagyobb (93,4%-os) szekvencia-hasonlóságot (Anda és mtsai 2020).

3.3.3. **Egy hazai regionális karsztrendszer forrásfeltörési végpontjain a különböző típusú hipogén barlangi mikrohabitatok baktériumközösségeinek összehasonlítása új generációs amplikon-szekvenálással**

A BTK-ban elvégzett mikrobiológiai vizsgálataink eredményei rámutattak arra, hogy a termálkarszt barlangok változatos élőhelyeket kínálnak a prokarióta szervezetek számára. A Molnár János-barlangból származó termálvízből, kőzetfelszíni biofilmből és karbonátkiválásokból mikroszkópos és klónozási technikákkal egymástól jelentősen eltérő összetételű baktériumközösségeket mutattunk ki (Anda és mtsai 2017). További kutatásaink során ezért arra törekedtünk, hogy regionális léptékben is feltárjuk hogyan hatnak a hasonló hidrogeológiai tulajdonságokkal jellemezhető hipogén karsztbarlangok sajátos fizikai-kémiai tulajdonságai (pl. a hőmérséklet, a pH, a redox-potenciál, az ionösszetétel, a felület típusa) az eltérő mikrokozmoszok mikrobiótájának összetételére. Ehhez a Dunántúli-középhegység két szélső forrásfeltörési pontján található, de ugyanahhoz a regionális áramlási rendszerhez tartozó hipogén barlangot vizsgáltunk (Mádl-Szőnyi & Tóth 2015). Egyik a BTK területén található freatikus hipogén Molnár János-barlang volt, a másik a Hévízi-tó alatt található szublakusztis Amphora forrásbarlang. A nagy áteresztőképességű Illumina MiSeq 16S rRNS gén amplikon-szekvenálás alkalmazása lehetővé tette számunkra, hogy az eddigieknél részletesebb betekintést nyerjünk a különböző természetes barlangi mikro-habitatok (a különböző hőmérsékletű forrásvizek, a kőzetfelszíni biofilmek és a karbonátkiválások) baktérium diverzitásába, és hogy összehasonlítsuk a barlangok egyedi sajátosságainak a különböző baktériumtaxonok előfordulására gyakorolt hatását (Borsodi és mtsai 2022a).

A baktériumközösségek 16S rRNS gén alapú amplikon-szekvenáláson alapuló diverzitás vizsgálatával összesen 57 baktérium törzset vagy kandidátus divíziót azonosítottunk a két hipogén termálkarszt barlangból. Közülük csak 10 törzs (Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria, Epsilonbacteraeota, Nitrospirae, Omnitrophicaeota [korábbi OP3 kandidátus osztály], Planctomycetes, Proteobacteria és Verrucomicrobia) volt közös valamennyi mintában. Szinte mindegyik mintatípust a Proteobacteria és/vagy az Epsilonbacteraeota törzsek dominanciája jellemezte. Más abundáns törzsek megoszlásában mind makroszinten (a karsztbarlangrendszer forrásfeltörési végpontjain), mind mikroszinten (a különböző élőhelytípusok vonatkozásában) jelentős különbségeket tártunk fel. A termálvizekből származó filotípusok elsősorban különböző kemolitotróf kénoxidáló baktériumokkal mutattak rokonságot. A környezeti paraméterek különbözőségének megfelelően, a szublakusztis forrásbarlangban a *Thiovirga*, a *Thiofaba* és az *Arcobacter* nemzetségek, míg a freatikus hipogén barlangban a *Sulfurovum*, a *Sulfuricurvum* és a *Sulfurifustis* nemzetségek képviselői voltak meghatározók. Az ammóniaoxidáló (unclassified Nitrosococcaceae) és nitritoxidáló baktériumokkal (*Nitrospira*) rokon szekvenciák azonban csak a hipogén karsztbarlangra voltak jellemzők. Ezzel szemben az oxigéntermelő fotoautotróf baktériumokkal és az aerob kemoheterotróf baktériumokkal rokon szekvenciákat csak a szublakusztis forrásbarlangi mintákból azonosítottuk (Borsodi és mtsai 2022a).

3.3.4. **Hazai hipogén termálkarsztból izolált a tudományra nézve új sugárrezisztens baktériumfajok polifázikus taxonómiai jellemzése**

A BTK területén végzett tenyésztésen alapuló vizsgálataink eredményeképpen eddig két, a tudományra nézve új sugárrezisztens baktériumfajt írtunk le a polifázikus taxonómiai elvek szerint

Deinococcus budaensis sp. nov. (Makk és mtsai 2016) és

Deinococcus fonticola sp. nov. (Makk és mtsai 2019) néven.

3.4. Az Ojos del Salado (Szárz-Andok) vizes élőhelyeinek szélsőséges környezeti feltételeihez alkalmazkodott (poli)extremofil prokarióta közösségek taxonómiai változatossága

A Magyar Szárz-Andok Kutatási Program 2010-ben szervezett először expedíciót a Szárz-Andok különálló hegycsoportjait reprezentáló Ojos del Salado-vidék környezeti változásainak feltárása céljából. Azóta a kihelyezett műszerek segítségével – 4200 m-től 6893 m-ig – 6 magassági szintben folyamatosan monitorozzák az örökfagy jelenlétét, területi elterjedését és degradációját. A kétévente szervezett expedíciók során tanulmányozzák a negatív vízháztartású magashegyi sós tavakban bekövetkező változásokat, az extrém magasságban kialakult (időszakos) hegyi tavak kialakulását, valamint a vulkáni kísérőjelenségek (pl. gőzkitörések) környezetfejlődést befolyásoló szerepét. Ezek a kutatások, melyek a bolygónk egészére jellemző klímaváltozás megismerését célozzák, az egyik legextrémabb földi környezetben végmenő átalakulásokba engednek betekintést.

3.4.1. Negatív vízháztartású magashegységi sekély sós tavak halofil és sugárrezisztens baktériumközösségei

A középső Andok térségében (Altiplano: Bolívia, Chile, Argentína; Atacama-sivatag: Chile északi része és Puna: Chile, Argentína) számos magashegyi (>3000 m tengerszint feletti magasságú) sós tó és vizes élőhely található (Albarracín és mtsai 2015, 2020; Bull és mtsai 2016; Orellana és mtsai 2018). Ezek a sekély, sós vagy hipersós tavak és vizes élőhelyek olyan evaporációs medencékben alakultak ki, ahol a csapadékból, az olvadó hótakaróból és a talajjégből származó víz felhalmozódott (Nagy és mtsai 2019). Kiterjedésüket a talajvíz és a párolgás egyensúlya határozza meg, így a párolgás szezonális változásainak függvényében nőnek vagy zsugorodnak (de la Fuente és mtsai 2021). A sós tavak és vizes élőhelyek rendkívül heterogén ökológiai rendszerek. Sótartalmuk meglehetősen ingadozó, melyekben a szulfátok és a kloridok, ritkábban a nátrium-, a kalcium- és a magnézium-karbonátok dominálnak (Risacher és mtsai 2003). Az aktív vulkánok közelsége miatt kémiai összetételüket befolyásolja a szokatlan ásványi anyagokat (pl. lítiumot, bórt vagy arzént) tartalmazó termálvizek beszivárgása is (Vignale és mtsai 2021). A magashegyi atalasszohalin vízi ökoszisztémákban többszörösen szélsőséges környezeti hatások (pl. a negatív vízháztartásból adódó magas sókoncentráció mellett az erős UV sugárzás, a nagy napi hőmérséklet-ingadozás, az alacsony légköri nyomás) érvényesülnek, ami kedvező életfeltételeket kínál a (poli)extremofil mikroorganizmusok megtelepedéséhez (Albarracín és mtsai 2015, 2020). Kutatásunk során tenyésztési és piroszekvenálási módszerek alkalmazásával bővítettük ismereteinket a Puna de Atacama (Chile) két távoli, magasan fekvő, sekély sós tavában (Laguna Santa Rosa és Laguna Verde) élő (poli)extremofil baktériumközösségek taxonómiai diverzitásáról (Borsodi és mtsai 2022b).

A magashegyi sós tavakból a többszörösen szélsőséges környezeti körülmények dacára nagyfokú bakteriális taxonómiai diverzitást tártunk fel. A bentikus baktériumközösségeket mindkét tóban a Proteobacteria és a Bacteroidetes törzsekbe tartozó szekvenciák dominálták. A Bacteroidetes törzs képviselőinek aránya majdnem kétszer olyan nagy volt a Laguna Santa Rosa üledékmintákban, mint a Laguna Verde mikrobiális bevonat mintákban. Annak ellenére, hogy a Proteobacteria átlagos abundanciája hasonló volt a két tóban, a mintavételi helyek között figyelemre méltó különbségeket lehetett megfigyelni. Alacsonyabb taxonómiai szinteken mind az élőhely típusa (tavi üledék vs. mikrobiális bevonat), mind a mintavételi helyek szerint nagyfokú változatosságot tapasztaltunk. Ez arra utalt, hogy a földrajzi és éghajlati hasonlóságok ellenére a helyi környezeti hatások nagymértékben befolyásolhatták a mikrobiális diverzitást. Így az élőhely típusától függően különböző baktériumok vehettek részt a helyi szén-, nitrogén- és kén körforgalomban, beleértve a fototrófián alapuló elsődleges termelésben és a szerves anyagok főként anaerob biodegradációjában (Borsodi és mtsai 2022b).

3.4.2. *Egy magashegyi permafroszt olvadéktó pszichrofil, oligokarbofil és xerotoleráns baktériumközösségei*

A permafroszt területek mikrobiális ökológiai vizsgálata – a kutatások asztrobiológiai és klimatikus jelentősége miatt is – az utóbbi évtizedekben az érdeklődés fókuszába került. A permafroszt (vagyis az örökfagy birodalma) meglehetősen ősi és stabil környezetnek tekinthető, napjaink globális klímaváltozásának hatására mégis szembetűnő átalakulásokon megy keresztül (Cheng & Wu 2007; Schuur és mtsai 2015). Degradációja gyakran olvadéktavak kialakulását eredményezi, amely jelenségről nemcsak a sarkvidékekről számoltak be (Laurion és mtsai 2010), hanem magashegységi permafroszt környezetből is (Nagy és mtsai 2019; Kereszturi és mtsai 2020). Az 5000 m-es magasság felett található olvadéktavak ugyanakkor sokkal ritkábbak, mint a síkvidéki periglaciális tavak.

A klímaváltozásnak kitett, permafroszttal jellemezhető magashegységi területek általában mentesek a közvetlen humán behatásoktól, hiszen rendkívül nehezen megközelíthetők. A magashegyi permafroszt olvadéktavak ezért az asztrobiológiai kutatások természetes laboratóriumainak is tekinthetők, mivel egyszerre vizsgálható bennük a nagy tengerszint feletti magasságból eredő extrémítás és az örökfagy hatása. A Száraz-Andok térségét már régóta ún. Mars analóg területként tartják számon (Escudero és mtsai 2007; Cabrol és mtsai 2009; Fariás és mtsai 2011; Dorador és mtsai 2013; Cabrol és mtsai 2018), ahol az elmúlt években egyre nagyobb figyelmet kaptak az 5000 m-nél magasabban fekvő területek (Schmidt és mtsai 2018). Ebben a régióban található a Föld legmagasabban fekvő vulkánja, az Ojos del Salado is, amely több asztrobiológiai vizsgálatra kiválóan alkalmas, permafroszt eredetű magashegyi olvadéktavat rejt magában (Nagy és mtsai 2019). Ezeknek a távoli és érintetlen hegyvidéki permafroszt olvadéktavaknak az extrémofil mikrobiális közösségeiről igen kevés információval rendelkezünk. Jelen kutatásunk során az Ojos del Salado vulkán 5900 m tengerszint feletti magasságában fekvő permafroszt olvadéktavában és környezetében élő poliextremofil baktériumközösségek taxonómiai összetételét vizsgáltuk tenyésztéses és Illumina MiSeq amplikon-szekvenálási módszerek egyidejű alkalmazásával. A mintavételre a 2016. évi februári Földgömb Atacama Klíma-monitorozó Expedíció során került sor a tóvízből és a tavi üledékből, valamint a tó körüli permafroszt aktív rétegéből a tótól különböző távolságokból és a felszín alól különböző mélységekből (Aszalós és mtsai 2020b).

A Föld valószínűleg legmagasabban fekvő permafroszt olvadéktavának és környezetének vizsgálatával a világon első alkalommal nyertünk betekintést a Mars analógnak is tekintett élőhely baktériumközösségeinek összetételébe. Az Ojos del Salado vulkán permafroszt olvadéktava más magashegyi permafroszt által befolyásolt vizes élőhelyekhez hasonlóan – főként az alacsony szerves anyag tartalom miatt – leegyszerűsödött baktériumközösséget rejt magában. Ennek az lehet a magyarázata, hogy a poliextremofil mikrobióta összetételére az erős UV sugárzás mellett jelentős szelekciós hatást gyakorolhatnak a permafroszt felső, aktív rétegére jellemző sorozatos fagyás-felolvadás és kiszáradás-nedvesedés ciklusok. A rendkívül alacsony hőmérséklethez és szerves anyag koncentrációhoz, valamint extrém erős UV sugárzáshoz alkalmazkodott tenyésztésbe vont baktériumtörzsek főleg olyan pszichrofil, xerotoleráns és oligokarbofil baktériumfajok képviselőinek bizonyultak, amelyeket az utóbbi években más magashegységi vagy poláris glaciális környezetekből írtak le. A 16S rRNS gén alapú Illumina MiSeq amplikon-szekvenálás eredményei főként a Patescibacteria, az Acidobacteria, az Actinobacteria, a Bacteroidetes, a Chloroflexi, a Gemmatimonadetes, a Planctomycetes, a Proteobacteria és a Verrucomicrobia törzsekbe tartozó, de ismert fajok hiányában pontosabban nem azonosítható, kandidátus taxonokhoz vezettek. Az eddig „rejtőzködő” baktériumok jelentős részaránya alátámasztotta, hogy az extrémofilek tenyésztésen alapuló elemzése is nélkülözhetetlen jövőbeni potenciális biotechnológiai alkalmazásuk szempontjából (Aszalós és mtsai 2020b).

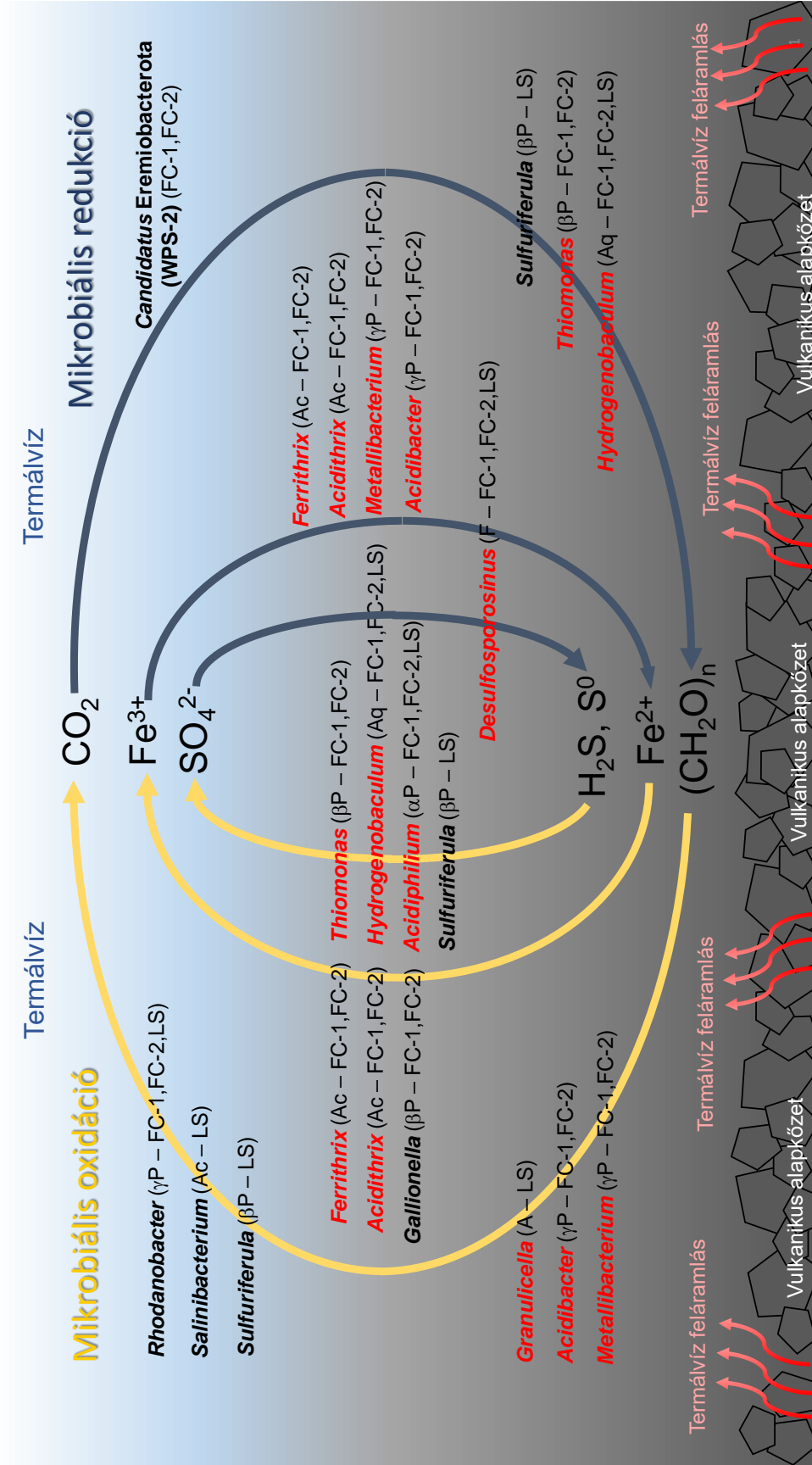
3.4.3. *Az Ojos del Salado aktív vulkáni kráter környezetének acidofil és termofil baktériumközösségei*

A glacio-vulkanizmus olyan a Földön napjainkban is zajló geológiai folyamat, amely jelentős mennyiségű folyékony halmazállapotú víz képződése mellett, éles hőmérsékleti és geokémiai gradienseket eredményező potenciális mikrobiális élőhelyek kialakulásával jár együtt. Az így létrejövő, egyedülálló és többszörösen is szélsőséges környezetekben a poliextremofil mikrobiális kolonizáció számára rendelkezésre álló élőhelyek széles fizikai-kémiai skálán változnak (Cousins & Crawford 2011). A jég és a vulkanizmus kölcsönhatása olyan reaktív környezeteket eredményezhet, amelyek imitálják a Marson uralkodó viszonyokat. Ezek a korábban elérhetetlen „természetes földi laboratóriumok” – pl. az antarktisi Száraz-Völgyekben (Wierzchos és mtsai 2005; Walker & Pace 2007), az Atacama-sivatagban (Navarro-González és mtsai 2003), az evaporit (Rothschild 1990; Edwards és mtsai 2006) és permafroszt (Gilichinsky és mtsai 2007) környezetekben – az extraterresztriális élet lehetőségének kutatása szempontjából is kiváló lehetőséget kínálnak a kutatók számára, ezért egyre nagyobb figyelmet kapnak napjainkban (Cavicchioli 2002; Lage és mtsai 2012; Williford és mtsai 2018).

Az Ojos del Salado térségében a vulkanizmushoz köthető hévforrások előfordulása nem ritka, pl. a 4350 m tszf. magasságon fekvő Laguna Verde sós tó medencéjében is megfigyelték (Nagy és mtsai 2019), de a hóhatár feletti permafroszt régióban csak elvétve fordul elő. Az Ojos del Salado vulkán 6893 m-es főcsúcsától délre, egy mellékráterben található a Föld minden bizonnyal legmagasabban (6480 m-en) fekvő tava, melyet a fumarolákból kiáramló meleg vizű patak mellett a területre hulló hó és a permafroszt olvadékvize táplál (Nagy és mtsai 2019). A Földgömb Atacama Klíma-monitorozó Expedíciók tanúsága szerint a tó medencéjét a 2014-es felfedezése óta jég és hó tölti ki. Kutatásunk során ebben az Ojos del Salado (Száraz Andok) aktív vulkanizmusa által befolyásolt magashegységi krátertóban és a környezetében előforduló poliextremofil baktériumközösségek összetételének a megismerésére törekedtünk tenyésztéses és Illumina MiSeq szekvenálási módszerek együttes alkalmazásával. A feltárt baktériumok taxonómiai diverzitásának ismeretében létrehozott modell segítségével a közösségalkotók lehetséges geomikrobiológiai szerepére következtítettünk (Aszalós és mtsai 2020a).

Az Ojos del Salado kráterkörnyezetéből gyűjtött üledékmintákból szinte kizárólag csak az *Arthrobacter* és a *Pseudarthrobacter* (Actinobacteria) nemzetség pszichrofil és xerotoleráns fajainak a képviselőit sikerült tenyésztésbe vonni. A baktériumközösségek amplikon-szekvenálással feltárt taxonómiai összetételében már törzs (phylum) szinten is jelentős különbségeket mutattunk ki a vulkáni utóműködéstől távolodva megfigyelhető éles hőmérsékleti és pH gradiens mentén. A fumarolás patak üledékéből azonosított acidofil vas(II)- és kénoxidáló, valamint vas(III)- és kénredukáló baktérium-nemzetségekkel nagyfokú szekvencia-egyeztést mutató filotípusok abundáns előfordulása alapján ebben a többszörösen extrém környezetben a vas- és a kén-körforgalmát egymással szorosan összekapcsoló, leegyszerűsödött összetételű baktériumközösség működését sejtjük, amit egy biogeokémiai modellben foglaltunk össze (3. ábra).

Ismerve a Marson feltételezett egykori hidrotermális rendszereket, továbbá a vas és kén feldúsulásokat, a vörös bolygó legvalószínűbb élő szervezetei az általunk is kimutatotthoz hasonló, ősi leszármazási vonalat képviselő, vas- és kénoxidáló kemolitotróf prokarióták lehettek.



3. ábra Az Ojos del Salado kráterében található fumarolás patakból azonosított baktérium nemzetségek feltételezett szerepe a szén-, a kén- és a vas biogeokémiai ciklusában (Rövidítések: *FC-1, FC-2, fumarolás patak üledékminta; LS, a tavi üledék; N/C, permafroszt olvadátkó üledékminta; A, Acidobacteria; Aq, Aquificae; Ac, Actinobacteria; F, Firmicutes; aP, Betaproteobacteria; βP , Betaproteobacteria; γP , Gammaproteobacteria. A piros színnel jelölt nemzetségevek termofil/hipertermofil taxonokra utalnak.)*

4. A LEGFONTOSABB ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK MEGÁLLAPÍTÁSAI

Az extremofil mikroorganizmusok taxonómiai és anyagcsere diverzitásával kapcsolatban végzett eddigi kutatásaink eredményei alapján általános következtetesként állapíthatjuk meg, hogy

- egymástól földrajzilag távol fekvő extrém környezetekben a hasonló szélsőséges környezeti körülmények hatására faji összetételükben ugyan gyakran csak részben átfedő, de hasonló anyagcsere-képességekkel rendelkező, hatékony és sokoldalú metabolikus együttműködésre képes extremofil mikrobiális közösségek alakulhatnak ki;
- a környezeti feltételek lokális változatossága, vagyis az akár mikrométeres távolságokban kialakuló fizikai-kémiai gradiensek még az egymáshoz nagyon közeli területeken (pl. mozaikos szerkezetű szikes talajokban) vagy egymással kapcsolatban álló, de eltérő élőhelytípusokban (pl. hipogén barlangi víztestekben és kőzetfelszíni biofilmekben) is nagymértékben különböző taxonösszetételű mikrobaközösségek létrejöttét eredményezhetik;
- a gyakorta rendkívül zord környezeti feltételek ellenére, a nagyon különböző anyagcsere-képességekkel rendelkező extremofil baktériumok között kialakuló szoros, sejt-sejt szintű kölcsönhatások (pl. biofilmekben), egymástól függő, meglepően változatos és gazdag taxonösszetételű, hatékonyan és szabályozottan működő komplex hálózatok kialakulásához vezethetnek;
- az extrém környezetek (az élőhely típusától, a földrajzi elhelyezkedéstől és a geológiai sajátosságoktól függetlenül) az alkalmazott mikrobiális ökológiai vizsgálati módszerek robbanásszerű fejlődése és a kutatások intenzifikálódása ellenére is ma még nagyrészt ismeretlen, rejtőzködő taxonómiai diverzitással rendelkeznek, ami kiaknázatlan lehetőségek tárházát kínálja a kutatók számára;
- az új extremofil taxonok tenyésztésbe vonása nagy jelentőséggel bír, nemcsak a prokarióta sokféleség feltárása szempontjából, de az új fajok (pl. *Pannonibacter phragmitetus* gen. nov., sp. nov.) lehetséges humánegészségügyi vonatkozásai, valamint mezőgazdasági, ipari-biotechnológiai alkalmazhatósága tekintetében is.

5. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

5.1. Magyarországi szikes környezetek alkalofil és halofil mikrobaközösségei

- Borsodi, A.K.**, Micsinai, A., Kovács, G., Tóth, E., Schumann, P., Kovács, A.L., ... & Márialigeti, K. 2003. *Pannonibacter phragmitetus* gen. nov., sp. nov., a novel alkalitolerant bacterium isolated from decomposing reed rhizomes in a Hungarian soda lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53(2): 555-561.
- Borsodi, A.K.**, Márialigeti, K., Szabó, G., Palatinszky, M., Pollák, B., Kéki, Z., ... & Tóth, 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(4): 845-851.
- Rusznay, A., Tóth, E. M., Schumann, P., Spröer, C., Makk, J., Szabó, G., ... & **Borsodi, A.K.** 2011. *Cellulomonas phragmiteti* sp. nov., a cellulolytic bacterium isolated from reed (*Phragmites australis*) periphyton in a shallow soda pond. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 61(7): 1662-1666.
- Borsodi, A.K.**, Pollák, B., Kéki, Z., Rusznay, A., Kovács, A. L., Spröer, C., ... & Tóth, E.M. 2011. *Bacillus alkalisediminis* sp. nov., an alkaliphilic and moderately halophilic bacterium isolated from sediment of extremely shallow soda ponds. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 61(8): 1880-1886.
- Borsodi, A.K.**, Knáb, M., Czeibert, K., Márialigeti, K., Vörös, L., & Somogyi, B. 2013. Planktonic bacterial community composition of an extremely shallow soda pond during a phytoplankton bloom revealed by cultivation and molecular cloning. *Extremophiles* 17(4): 575-584.
- Bárány, Á., Szili-Kovács, T., Krett, G., Füzy, A., Márialigeti, K., & **Borsodi, A.** 2014. Metabolic activity and genetic diversity of microbial communities inhabiting the rhizosphere of halophyton plants. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 61(3): 347-361.
- Borsodi, A.K.**, Bárány, Á., Krett, G., Márialigeti, K., & Szili-Kovács, T. 2015. Diversity and ecological tolerance of bacteria isolated from the rhizosphere of halophyton plants living nearby Kiskunság soda ponds, Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 62(2): 183-197.
- Borsodi, A.K.**, Szirányi, B., Krett, G., Márialigeti, K., Janurik, E., & Pekár, F. 2016. Changes in the water quality and bacterial community composition of an alkaline and saline oxbow lake used for temporary reservoir of geothermal waters. *Environmental Science and Pollution Research* 23(17): 17676-17688.
- Borsodi, A.K.**, Tóth, E., Aszalós, J. M., Bárány, Á., Schumann, P., Spröer, C., ... & Szili-Kovács, T. 2017. *Bacillus kiskunsagensis* sp. nov., a novel alkaliphilic and moderately halophilic bacterium isolated from soda soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 67(9): 3490-3495.
- Borsodi, A.K.**, Szili-Kovács, T., Schumann, P., Spröer, C., Márialigeti, K., & Tóth, E. 2017. *Nesterenkonia pannonica* sp. nov., a novel alkaliphilic and moderately halophilic actinobacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 67(10): 4116-4120.

- Borsodi, A. K.**, Korponai, K., Schumann, P., Spröer, C., Felföldi, T., Márialigeti, K., ... & Tóth, E. 2017. *Nitrincola alkalilacustris* sp. nov. and *Nitrincola schmidtii* sp. nov., alkaliphilic bacteria isolated from soda pans, and emended description of the genus *Nitrincola*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 67(12): 5159-5164.
- Borsodi A.K.**, Aszalós J.M., Bihari P., Nagy I., Schumann P., Spröer C., Kovács A.L., Bóka K., Dobosy P., Óvári M., Szili-Kovács T., Tóth E. 2018. *Anaerobacillus alkaliphilus* sp. nov., a novel alkaliphilic and moderately halophilic bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 69(3): 631-637.
- Borsodi A.K.**, Mucsi M., Krett G., Szabó A., Felföldi T., Szili-Kovács T. 2021. Variation in sodic soil bacterial communities associated with different alkali vegetation types. *Microorganisms* 9(8): 1673.

5.2. Hazai termálfürdők és energetikai célú kutak hévizének termofil mikrobaközösségei

- Miseta, R., Palatinszky, M., Márialigeti, K., & **Borsodi, A.** 2009. Molecular biological investigations on the bacterial communities of curative well waters of Harkány Spa. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 56(4): 357-368.
- Miseta, R., Palatinszky, M., Makk, J., Márialigeti, K., & **Borsodi, A.K.** 2012. Phylogenetic diversity of bacterial communities associated with sulfurous karstic well waters of a Hungarian spa. *Geomicrobiology Journal* 29(2): 101-113.
- Miseta, R., Palatinszky, M., Makk, J., Márialigeti, K. & **Borsodi, A.**, 2013. Spatial and temporal changes of bacterial communities inhabiting the well waters of Harkány spa. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 60(3): 329-343.
- Németh, A., Szirányi, B., Krett, G., Janurik, E., Kosáros, T., Pekár, F., ... & **Borsodi, A.** 2014. Prokaryotic phylogenetic diversity of Hungarian deep subsurface geothermal well waters. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 61(3): 363-377.
- Anda, D., Makk, J., Krett, G., Jurecska, L., Márialigeti, K., Mádl-Szőnyi, J., & **Borsodi, A.K.** 2015. Thermophilic prokaryotic communities inhabiting the biofilm and well water of a thermal karst system located in Budapest (Hungary). *Extremophiles* 19(4): 787-797.

5.3. Hipogén karsztosodási folyamatokban résztvevő poliextremofil mikrobaközösségek

- Borsodi, A.K.**, Knáb, M., Krett, G., Makk, J., Márialigeti, K., Eröss, A., & Mádl-Szőnyi, J. 2012. Biofilm bacterial communities inhabiting the cave walls of the Buda Thermal Karst System, Hungary. *Geomicrobiology Journal* 29(7): 611-627.
- Anda, D., Büki, G., Krett, G., Makk, J., Márialigeti, K., Eröss, A., ... & **Borsodi, A.** 2014. Diversity and morphological structure of bacterial communities inhabiting the Diana-Hygieia Thermal Spring (Budapest, Hungary). *Acta microbiologica et immunologica Hungarica* 61(3): 329-346.
- Makk J., Tóth E., Anda D., Pál S., Schumann P., Kovács A.L., Mádl-Szőnyi J., Márialigeti K., **Borsodi A.K.** 2016. *Deinococcus budaensis* sp. nov., a mesophilic species isolated from biofilm sample of a hydrothermal spring cave. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66: 5345-5351.

- Anda, D., Krett, G., Makk, J., Márialigeti, K., Mádl-Szónyi, J., & **Borsodi, A.K.** 2017. Comparison of bacterial and archaeal communities from different habitats of the hypogenic Molnár János Cave of the Buda Thermal Karst System (Hungary). *Journal of Cave and Karst Studies* 79(2): 113-121.
- Borsodi, A.K.**, Anda, D., Makk, J., Krett, G., Dobosy, P., Büki, G., ... & Mádl-Szónyi, J. 2018. Biofilm forming bacteria and archaea in thermal karst springs of Gellért Hill discharge area (Hungary). *Journal of Basic Microbiology* 58(11): 928-937.
- Enyedi N.T., Anda D., **Borsodi A.K.**, Szabó A., Pál S.E., Óvári M., Márialigeti K., Kovács-Bodor P., Mádl-Szónyi J., Makk J. 2019. Radioactive environment adapted bacterial communities constituting the biofilms of hydrothermal spring caves (Budapest, Hungary). *Journal of Environmental Radioactivity* 203: 8-17.
- Makk J., Enyedi N.T., Tóth E., Anda D., Szabó A., Felföldi T., Schumann P., Mádl-Szónyi J. **Borsodi A.K.** 2019. *Deinococcus fonticola* sp. nov., isolated from a radioactive thermal spring in Hungary. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 69(6): 1724-1730.
- Anda D., Szabó A., Kovács-Bodor P., Makk J., Felföldi T., Ács É., Mádl-Szónyi J., **Borsodi A.K.** 2020. In situ modelling of biofilm formation in a hydrothermal spring cave. *Scientific Reports* 10:21733
- Borsodi A.K.**, Anda D., Szabó A., Megyes M., Krett G. 2022. Impacts of different habitats on the composition of bacterial communities at the discharging endpoints of a hypogene thermal karst system. *Geomicrobiology Journal* 39(2): 155-165.

5.4. A Száraz-Andok (Chile) magashegységi vizes élőhelyeinek poliextremofil prokarióta közösségei

- Aszalós J.M., Krett G., Anda D., Márialigeti K., Nagy B., **Borsodi A.K.** 2016. Diversity of extremophilic bacteria in the sediment of high-altitude lakes located in the mountain desert of Ojos del Salado volcano, Dry-Andes. *Extremophiles* 20 (5): 603–620.
- Aszalós J.M., Szabó A., Felföldi T., Jurecska L., Nagy B., **Borsodi A.K.** 2020. Effects of active volcanism on bacterial communities in the highest altitude crater lake of Ojos del Salado (Dry Andes, Altiplano-Atacama region). *Astrobiology* 20(6): 741-753.
- Aszalós J.M., Szabó A., Megyes M., Anda D., Nagy B., **Borsodi A.K.** 2020. Bacterial diversity of a high-altitude permafrost thaw pond located on the Ojos del Salado volcano (Dry-Andes, Altiplano-Atacama Region). *Astrobiology* 20(6): 754-765.
- Borsodi A.K.**, Aszalós J.M., Megyes M., Nagy B. 2022. Benthic bacterial diversity of high-altitude athalassohaline lakes of the Puna de Atacama (Central Andes). *Geomicrobiology Journal* 39(1): 28-38.

6. IRODALOMJEGYZÉK

- Albarracín VH, Galván FS, Fariás ME (2020) Extreme microbiology at Laguna Socompa: A high-altitude Andean lake (3570 m a.s.l.) in Salta, Argentina. In: *Microbial Ecosystems in Central Andes Extreme Environments*. Springer International Publishing, Cham, pp 205–220
- Albarracín VH, Kurth D, Ordoñez OF, et al (2015) High-up: A remote reservoir of microbial extremophiles in Central Andean wetlands. *Front Microbiol* 6:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01404>
- Alföldi L, Bélteky L, Böcker T, et al (eds) (1968) *Budapest hévizei (Thermal waters of Budapest)*. VITUKI, Budapest
- Anda D, Krett G, Makk J, et al (2017) Comparison of bacterial and archaeal communities from different habitats of the hypogenic Molnár János cave of the Buda Thermal Karst System (Hungary). *J Cave Karst Stud* 79:113–121. <https://doi.org/10.4311/2015MB0134>
- Anda D, Makk J, Krett G, et al (2015) Thermophilic prokaryotic communities inhabiting the biofilm and well water of a thermal karst system located in Budapest (Hungary). *Extremophiles* 19:787–797. <https://doi.org/10.1007/s00792-015-0754-1>
- Anda D, Szabó A, Kovács-Bodor P, et al (2020) In situ modelling of biofilm formation in a hydrothermal spring cave. *Sci Rep* 10:21733. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78759-4>
- Aszalós JM, Szabó A, Felföldi T, et al (2020a) Effects of active volcanism on bacterial communities in the highest-altitude crater lake of Ojos del Salado (Dry Andes, Altiplano-Atacama Region). *Astrobiology* 20:741–753. <https://doi.org/10.1089/ast.2018.2011>
- Aszalós JM, Szabó A, Megyes M, et al (2020b) Bacterial diversity of a high-altitude permafrost thaw pond located on Ojos del Salado (Dry Andes, Altiplano-Atacama Region). *Astrobiology* 20:754–765. <https://doi.org/10.1089/ast.2018.2012>
- Borhidi A (2007) *Magyarország növénytársulásai (Plant communities of Hungary)*. Akadémiai Kiadó, Budapest
- Borsodi AK, Anda D, Makk J, et al (2018) Biofilm forming bacteria and archaea in thermal karst springs of Gellért Hill discharge area (Hungary). *J Basic Microbiol* 58:928–937. <https://doi.org/10.1002/jobm.201800138>
- Borsodi AK, Anda D, Szabó A, et al (2022a) Impacts of different habitats on the composition of bacterial communities at the discharging endpoints of a hypogene thermal karst system. *Geomicrobiol J* 39:155–165. <https://doi.org/10.1080/01490451.2021.2023709>
- Borsodi AK, Aszalós JM, Bihari P, et al (2019) *Anaerobacillus alkaliphilus* sp. nov., a novel alkaliphilic and moderately halophilic bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 69:631–637. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003128>
- Borsodi AK, Aszalós JM, Megyes M, Nagy B (2022b) Benthic bacterial diversity of high-altitude athalassohaline lakes of the Puna de Atacama (Central Andes). *Geomicrobiol J* 39:28–38. <https://doi.org/10.1080/01490451.2021.2000072>
- Borsodi AK, Knáb M, Czeibert K, et al (2013) Planktonic bacterial community composition of an extremely shallow soda pond during a phytoplankton bloom revealed by cultivation and molecular cloning. *Extremophiles* 17:575–584. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0540-x>
- Borsodi AK, Knáb M, Krett G, et al (2012) Biofilm bacterial communities inhabiting the cave walls of the Buda Thermal Karst System, Hungary. *Geomicrobiol J* 29:611–627. <https://doi.org/10.1080/01490451.2011.602801>
- Borsodi AK, Korponai K, Schumann P, et al (2017a) *Nitrincola alkalilacustris* sp. nov. and *Nitrincola schmidtii* sp. nov., alkaliphilic bacteria isolated from soda pans, and emended description of the genus *Nitrincola*. *Int J Syst Evol Microbiol* 67:5159–5164. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002437>
- Borsodi AK, Márialigeti K, Szabó G, et al (2008) *Bacillus aurantiacus* sp. nov., an alkaliphilic and moderately halophilic bacterium isolated from Hungarian soda lakes. *Int J Syst Evol Microbiol* 58:845–851. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.65325-0>
- Borsodi AK, Micsinai A, Kovács G, et al (2003) *Pannonibacter phragmitetus* gen. nov., sp. nov., a novel alkalitolerant bacterium isolated from decomposing reed rhizomes in a Hungarian soda lake. *Int J Syst Evol Microbiol* 53:555–561. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.02356-0>

- Borsodi AK, Mucsi M, Krett G, et al (2021) Variation in sodic soil bacterial communities associated with different alkali vegetation types. *Microorganisms* 9:1673. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081673>
- Borsodi AK, Pollák B, Kéki Z, et al (2011) *Bacillus alkalisediminis* sp. nov., an alkaliphilic and moderately halophilic bacterium isolated from sediment of extremely shallow soda ponds. *Int J Syst Evol Microbiol* 61:1880–1886. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.019489-0>
- Borsodi AK, Szili-Kovács T, Schumann P, et al (2017b) *Nesterenkonia pannonica* sp. nov., a novel alkaliphilic and moderately halophilic actinobacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 67:4116–4120. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002263>
- Borsodi AK, Szirányi B, Krett G, et al (2016) Changes in the water quality and bacterial community composition of an alkaline and saline oxbow lake used for temporary reservoir of geothermal waters. *Environ Sci Pollut Res* 23:17676–17688. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6923-7>
- Borsodi AK, Tóth E, Aszalós JM, et al (2017c) *Bacillus kiskunsagensis* sp. nov., a novel alkaliphilic and moderately halophilic bacterium isolated from soda soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 67:3490–3495. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002149>
- Bull AT, Asenjo JA, Goodfellow M, Gómez-Silva B (2016) The Atacama Desert: Technical resources and the growing importance of novel microbial diversity. *Annu Rev Microbiol* 70:215–234. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095236>
- Cabrol NA, Grin EA, Chong G, et al (2009) The high-lakes project. *J Geophys Res Biogeosciences* 114:n/a-n/a. <https://doi.org/10.1029/2008JG000818>
- Cabrol NA, Grin EA, Zippi P, et al (2018) Evolution of Altiplanic lakes at the Pleistocene/Holocene transition: A window into early Mars declining habitability, changing habitats, and biosignatures. In: Cabrol NA, Grin EA (eds) *From Habitability to Life on Mars*. Elsevier, pp 153–177
- Cavicchioli R (2002) Extremophiles and the search for extraterrestrial life. *Astrobiology* 2:281–292. <https://doi.org/10.1089/153110702762027862>
- Cayol J-L, Ollivier B, Alazard D, et al (2015) The extreme conditions of life on the planet and exobiology. In: Bertrand JC, Caumette P, Lebaron P, et al. (eds) *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 353–394
- Cheng G, Wu T (2007) Responses of permafrost to climate change and their environmental significance, Qinghai-Tibet Plateau. *J Geophys Res* 112:F02S03. <https://doi.org/10.1029/2006JF000631>
- Coker JA (2016) Extremophiles and biotechnology: current uses and prospects. *F1000Research* 5:396. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7432.1>
- Coker JA (2019) Recent advances in understanding extremophiles. *F1000Research* 8:1917. <https://doi.org/10.12688/f1000research.20765.1>
- Cousins CR, Crawford IA (2011) Volcano-ice interaction as a microbial habitat on Earth and Mars. *Astrobiology* 11:695–710. <https://doi.org/10.1089/ast.2010.0550>
- de la Fuente A, Meruane C, Suárez F (2021) Long-term spatiotemporal variability in high Andean wetlands in northern Chile. *Sci Total Environ* 756:143830. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143830>
- Déri-Takács J, Erőss A, Kovács J (2015) The chemical characterization of the thermal waters in Budapest, Hungary by using multivariate exploratory techniques. *Environ Earth Sci* 74:7475–7486. <https://doi.org/10.1007/s12665-014-3904-3>
- Dorador C, Vila I, Witzel K-P, Imhoff JF (2013) Bacterial and archaeal diversity in high altitude wetlands of the Chilean Altiplano. *Fundam Appl Limnol* 182:135–159. <https://doi.org/10.1127/1863-9135/2013/0393>
- Ecsedi Z, Boros E (2013) Description of the surveyed natural soda pans. In: Boros E, Ecsedi Z, Oláh J (eds) *Ecology and management of soda pans in the Carpathian Basin*. Hortobágy Environmental Association, Balmazújváros, pp 176–181
- Edwards HGM, Mohsin MA, Sadooni FN, et al (2006) Life in the sabkha: Raman spectroscopy of halotrophic extremophiles of relevance to planetary exploration. *Anal Bioanal Chem* 385:46–56. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0396-3>
- Enyedi NT, Anda D, Borsodi AK, et al (2019) Radioactive environment adapted bacterial communities constituting the biofilms of hydrothermal spring caves (Budapest, Hungary). *J Environ Radioact* 203:8–17. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2019.02.010>

- Eröss A, Mádl-Szőnyi J, Surbeck H, et al (2012) Radionuclides as natural tracers for the characterization of fluids in regional discharge areas, Buda Thermal Karst, Hungary. *J Hydrol* 426–427:124–137. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2012.01.031>
- Escudero L, Chong G, Demergasso C, et al (2007) Investigating microbial diversity and UV radiation impact at the high-altitude Lake Aguas Calientes, Chile. In: Hoover RB, Levin G V., Rozanov AY, Davies PCW (eds). p 66940Z
- Fariás ME, Poiré DG, Arrouy MJ, Albarracin VH (2011) Modern stromatolite ecosystems at alkaline and hypersaline high-altitude lakes in the Argentinean Puna. pp 427–441
- Gilichinsky DA, Wilson GS, Friedmann EI, et al (2007) Microbial populations in Antarctic permafrost: Biodiversity, state, age, and implication for astrobiology. *Astrobiology* 7:275–311. <https://doi.org/10.1089/ast.2006.0012>
- Goldscheider N, Mádl-Szőnyi J, Eröss A, Schill É (2010) Review: Thermal water resources in carbonate rock aquifers. *Hydrogeol J* 18:1303–1318. <https://doi.org/10.1007/s10040-010-0611-3>
- González A., Terrón R. (2021) Importance of extremophilic microorganisms in biogeochemical cycles. *GSC Adv Res Rev* 9:082–093. <https://doi.org/10.30574/gscarr.2021.9.1.0229>
- Gupta GN, Srivastava S, Khare SK, Prakash V (2014) Extremophiles: An overview of microorganism from extreme environment. *Int J Agric Environ Biotechnol* 7:371. <https://doi.org/10.5958/2230-732X.2014.00258.7>
- Harrison JP, Gheeraert N, Tsigelnitskiy D, Cockell CS (2013) The limits for life under multiple extremes. *Trends Microbiol* 21:204–212. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.01.006>
- Kereszturi Á, Aszalós JM, Heiling Z, et al (2020) Cold, dry, windy, and UV irradiated: Surveying Mars-relevant conditions in Ojos del Salado Volcano (Andes Mountains, Chile). *Astrobiology* 20:677–683. <https://doi.org/10.1089/ast.2019.2165>
- Kojima H, Watanabe M, Fukui M (2017) *Sulfuritortus calidifontis* gen. nov., sp. nov., a sulfur oxidizer isolated from a hot spring microbial mat. *Int J Syst Evol Microbiol* 67:1355–1358. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001813>
- Kristjánsson JK, Hreggvidsson GO (1995) Ecology and habitats of extremophiles. *World J Microbiol Biotechnol* 11:17–25. <https://doi.org/10.1007/BF00339134>
- Kuti L, Tóth T, Kalmár J, Kovács-Pálffy P (2003) Szikes talajok ásványi összetétele és recens ásványképződés Apajpusztán és Zabszék térségében. *Agrokémia és Talajt* 52:275–292. <https://doi.org/10.1556/Agrokem.52.2003.3-4.3>
- Lage CAS, Dalmaso GZL, Teixeira LCRS, et al (2012) Mini-Review: Probing the limits of extremophilic life in extraterrestrial environment-simulated experiments. *Int J Astrobiol* 11:251–256. <https://doi.org/10.1017/S1473550412000316>
- Laurion I, Vincent WF, MacIntyre S, et al (2010) Variability in greenhouse gas emissions from permafrost thaw ponds. *Limnol Oceanogr* 55:115–133. <https://doi.org/10.4319/lo.2010.55.1.0115>
- Leél-Össy S (1995) A budai Rózsadomb és környékének különleges barlangjai. *Földtani Közlöny* 125:363–432
- Leél-Össy S, Virág M (2018) Az utóbbi 20 év barlangkutatói eredményei a Budai-hegységben (különös tekintettel a Rózsadomb környékére). *Földtani Közlöny* 148:45. <https://doi.org/10.23928/foldt.kozl.2018.148.1.45>
- Madigan MT, Bender KS, Buckley DH, et al (2021) *Brock Biology of Microorganisms*, 16th edn. Pearson Education, Harlow, United Kingdom
- Madigan MT, Mairs BL (1997) Extremophiles. *Sci Am* 276:82–87. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0497-82>
- Mádl-Szőnyi J, Eröss A, Havril T, et al (2018) Fluidumok, áramlási rendszerek és ásványtani lenyomataik összefüggései a Budai Termálkarstzon. *Földtani Közlöny* 148:75. <https://doi.org/10.23928/foldt.kozl.2018.148.1.75>
- Mádl-Szőnyi J, Eröss A, Tóth Á (2017) Fluid flow systems and hypogene karst of the Transdanubian Range, Hungary - With special emphasis on Buda Thermal Karst. In: Klimchouk A, Palmer A, De Waele J, et al. (eds) *Hypogene Karst Regions and Caves of the World. Cave and Karst Systems of the World*. Springer, Cham, pp 267–278
- Mádl-Szőnyi J, Tóth Á (2015) Basin-scale conceptual groundwater flow model for an unconfined and

- confined thick carbonate region. *Hydrogeol J* 23:1359–1380. <https://doi.org/10.1007/s10040-015-1274-x>
- Mádlné Szőnyi J, Erős A, Havril T, et al (2018) Fluidumok, áramlási rendszerek és ásványtani lenyomataik összefüggései a Budai Termálkarszton. *Földtani Közlöny* 148:75. <https://doi.org/10.23928/foldt.kozl.2018.148.1.75>
- Makk J, Enyedi NT, Tóth E, et al (2019) *Deinococcus fonticola* sp. nov., isolated from a radioactive thermal spring in Hungary. *Int J Syst Evol Microbiol* 69:1724–1730. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003383>
- Makk J, Tóth EM, Anda D, et al (2016) *Deinococcus budaensis* sp. nov., a mesophilic species isolated from a biofilm sample of a hydrothermal spring cave. *Int J Syst Evol Microbiol* 66:5345–5351. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001519>
- Martínez-Espinosa RM (2020) Microorganisms and their metabolic capabilities in the context of the biogeochemical nitrogen cycle at extreme environments. *Int J Mol Sci* 21:4228. <https://doi.org/10.3390/ijms21124228>
- Merino N, Aronson HS, Bojanova DP, et al (2019) Living at the extremes: Extremophiles and the limits of life in a planetary context. *Front Microbiol* 10:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00780>
- Miseta R, Palatinszky M, Makk J, et al (2012) Phylogenetic diversity of bacterial communities associated with sulfurous karstic well waters of a Hungarian spa. *Geomicrobiol J* 29:101–113. <https://doi.org/10.1080/01490451.2011.558563>
- Miseta R, Palatinszky M, Makk J, et al (2013) Spatial and temporal changes of bacterial communities inhabiting the well waters of Harkány spa. *Acta Microbiol Immunol Hung* 60:329–343. <https://doi.org/10.1556/AMicr.60.2013.3.8>
- Molnár Z, Borhidi A (2003) Hungarian alkali vegetation: Origins, landscape history, syntaxonomy, conservation. *Phytocoenologia* 33:377–408. <https://doi.org/10.1127/0340-269X/2003/0033-0377>
- Nagy B, Ignéczi Á, Kovács J, et al (2019) Shallow ground temperature measurements on the highest volcano on Earth, Mt. Ojos del Salado, Arid Andes, Chile. *Permafr Periglac Process* 30:3–18. <https://doi.org/10.1002/ppp.1989>
- Navarro-González R, Rainey FA, Molina P, et al (2003) Mars-like soils in the Atacama Desert, Chile, and the dry limit of microbial life. *Science* (80-) 302:1018–1021. <https://doi.org/10.1126/science.1089143>
- Németh A, Szirányi B, Krett G, et al (2014) Prokaryotic phylogenetic diversity of Hungarian deep subsurface geothermal well waters. *Acta Microbiol Immunol Hung* 61:363–377. <https://doi.org/10.1556/AMicr.61.2014.3.9>
- Orellana R, Macaya C, Bravo G, et al (2018) Living at the frontiers of life: Extremophiles in Chile and their potential for bioremediation. *Front Microbiol* 9:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02309>
- Pakchung AAH, Simpson PJJ, Codd R (2006) Life on Earth. Extremophiles continue to move the goal posts. *Environ Chem* 3:77. <https://doi.org/10.1071/EN05093>
- Pekár F (2008) A geotermikus energiahasznosítás alapjai és környezeti hatásai. In: Tamás J (ed) *Agrárium és környezetgazdálkodás*. Mezőgazda Kiadó, pp 195–198
- Pikuta E V., Hoover RB, Tang J (2007) Microbial extremophiles at the limits of life. *Crit Rev Microbiol* 33:183–209. <https://doi.org/10.1080/10408410701451948>
- Prakash O, Verma M, Sharma P, et al (2007) Polyphasic approach of bacterial classification - An overview of recent advances. *Indian J Microbiol* 47:98–108. <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0022-x>
- Rampelotto P (2013) Extremophiles and extreme environments. *Life* 3:482–485. <https://doi.org/10.3390/life3030482>
- Risacher F, Alonso H, Salazar C (2003) The origin of brines and salts in Chilean salars: A hydrochemical review. *Earth-Science Rev* 63:249–293. [https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(03\)00037-0](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(03)00037-0)
- Rothschild LJ (1990) Earth analogs for Martian life. Microbes in evaporites, a new model system for life on Mars. *Icarus* 88:246–260. [https://doi.org/10.1016/0019-1035\(90\)90188-F](https://doi.org/10.1016/0019-1035(90)90188-F)
- Rothschild LJ, Mancinelli RL (2001) Life in extreme environments. *Nature* 409:1092–1101. <https://doi.org/10.1038/35059215>
- Rusznayk A, Tóth EM, Schumann P, et al (2011) *Cellulomonas phragmiteti* sp. nov., a cellulolytic bacterium isolated from reed (*Phragmites australis*) periphyton in a shallow soda pond. *Int J Syst Evol Microbiol* 61:1662–1666. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.022608-0>

- Schmid AK, Allers T, DiRuggiero J (2020) Snapshot: Microbial extremophiles. *Cell* 180:818-818.e1. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.018>
- Schmidt SK, Gendron EMS, Vincent K, et al (2018) Life at extreme elevations on Atacama volcanoes: the closest thing to Mars on Earth? *Antonie Van Leeuwenhoek* 111:1389–1401. <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1066-0>
- Schuur EAG, McGuire AD, Schädel C, et al (2015) Climate change and the permafrost carbon feedback. *Nature* 520:171–179. <https://doi.org/10.1038/nature14338>
- Shu W-S, Huang L-N (2022) Microbial diversity in extreme environments. *Nat Rev Microbiol* 20:219–235. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00648-y>
- Sorokin DY, Berben T, Melton ED, et al (2014) Microbial diversity and biogeochemical cycling in soda lakes. *Extremophiles* 18:791–809. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0670-9>
- Sorokin DY, Gorlenko VM, Namsaraev BB, et al (2004) Prokaryotic communities of the north-eastern Mongolian soda lakes. *Hydrobiologia* 522:235–248. <https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000029989.73279.e4>
- Vandamme P, Pot B, Gillis M, et al (1996) Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol Rev* 60:407–438. <https://doi.org/10.1128/mr.60.2.407-438.1996>
- Vignale FA, Lencina AI, Stepanenko TM, et al (2021) Lithifying and non-lithifying microbial ecosystems in the wetlands and salt flats of the Central Andes. *Microb Ecol*. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01725-8>
- Virág M, Leél-Össy S, Mindszenty A (2013) Szpeleológiai adottságok. A felszín alatti víz oldóhatásának tanúi: A budai barlangok. In: Mindszenty A (ed) Budapest: Földtani értékek és az ember. Városgeológiai tanulmányok. ELTE Eötvös Kiadó, Budapest, pp 105–111
- Walker JJ, Pace NR (2007) Endolithic Microbial Ecosystems. *Annu Rev Microbiol* 61:331–347. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.080706.093302>
- Wierzchos J, Sancho LG, Ascaso C (2005) Biomineralization of endolithic microbes in rocks from the McMurdo Dry Valleys of Antarctica: Implications for microbial fossil formation and their detection. *Environ Microbiol* 7:566–575. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00725.x>
- Williford KH, Farley KA, Stack KM, et al (2018) The NASA Mars 2020 Rover Mission and the Search for Extraterrestrial Life. In: Cabrol NA, Grin EA (eds) *From Habitability to Life on Mars*. Elsevier, pp 275–308