

Opponensi vélemény

Dr. Ördög Vince (2014) Mikroalgák biotechnológiai alkalmazása a növénytermesztésben és növényvédelemben, Mosonmagyaróvár című, MTA doktori értekezéséről

Ördög Vince, MTA doktori értekezése a fotoszintetizáló, oxigént fejlesztő mikrobák (cianobaktériumok és zöldalgák) lehetséges gyakorlati felhasználásával foglalkozik és a szóbanforgó szervezetek, a növények termesztésében és a mezőgazdasági növényvédelemben felvetődő, felhasználási lehetőségeiről értekezik. Az oxigenikus fotoszintetizáló mikrobák kutatása divatos tudományterület és azt, a biodízel előállításának problémája határozza meg. Ördög Vince, inventív módon, kutatásait az általa izolált „talajalgák” csoportjára koncentrálja és a mezőgazdasági növényekkel kapcsolatos, azokra vonatkozó rendszert dolgoz ki, az izolált talajalgák lehetséges felhasználás-határainak és lehetőségeinek kiderítésére. A fentiekre vonatkozó kutatásait a 121 oldalas tanulmány fejt ki és az értekezést, a kapcsolt Irodalomjegyzék (144-ik oldalig) és a Mellékletek, 172 oldal terjedelemben duzzasztják. A vizsgálatok két részre tagolódnak, a publikált és publikálatlan eredmények bemutatására. A disszertáció világos stílusú, szerkesztési szempontokból bírálható, ugyanakkor originális kutatási eredmények gyűjteménye. A bíráló kiemeli, hogy az értekezés hihetetlen mennyiségű munka összefoglalása és bemutatása. A hatalmas mennyiségű munka, a vizsgálatok sokasága akkor is igaz, ha kiderül a dolgozatból, hogy az, hazai és nemzetközi kooperációk eredménye, a saját önálló és sikeres kutatások mellett. A témaválasztás, nemzetközi kutatási trendek figyelmére számíthat és az eredményeit, a szakirodalom idézi.

A bírálat követi az értekezés szerkezetét és a felvethető kérdéseket két csoportba osztottam, egyrészt, a megbeszélésre érdemes kérdéseket tárgyalom, másrészt, nem törekedve a teljességre, az elírásokat soroltam fel. Ez utóbbiakat, külön pontban összegezem, - ezek azok a megjegyzések, amire nem várok választ, mert azok egyértelműen elírások, olyan hibák, amelyekről nem érdemes diskurálni.

1. Az értekezés szerkesztése, a formai megállapítások

Az értekezés szerkesztése decimális rendszert követ és négy kutatásterületet mutat be: 1.) A Mosonmagyaróvári Alga gyűjtemény (MACC), a törzsgyűjtemény létrehozását és jellemzését; 2.) Az oxigént termelő fotoszintetikus mikrobák növényi hormontermelésének jellemzése, a mezőgazdaság által termesztett növények növekedésének esetleges, mikroalgákkal történő befolyásolására; 3.) A rendelkezésre álló szervezetek, a mikroalgák szűrése („screen”-elése), a betegséget okozó növénypatogén gombák és a mikroalgák esetleges interakciójának kiderítésére, a gombák növekedését

befolyásoló inhibitorok megismerésére; 4.) A feltételezhetően rovar-repellens ill. attraktáns, volatilis anyagot(kat) termelő mikroalgák izolálási technikájának kidolgozása. A bemutatott kísérletek színvonala, a megközelítés racionalitása (gondolatmenete) eltérő, aminek a valószínű oka az, hogy a vizsgálatok eltérő időben és technikai feltételek között születtek és feltehetően manapság, másképpen oldanák meg. A vizsgálatokat a fentebb felsorolt sorrendben, külön fejezetenként kezelte a Jelölt, - mindegyik részben Bevezetés, Irodalmi áttekintés, Anyag és módszer, Kísérleti eredmények, Eredmények megvitatása, értékelése (diszkusszió) fejezeteket kialakítva, nem feltétlenül az előbbi címeket adva a részeknek. Az előbbieket minden fejezetben, az MTA doktori értekezésekben szokatlanul, „*Tervek, jövőkép*” című pontok követik (erről még később ejtünk néhány szót). A disszertációt az Irodalomjegyzék és a Mellékletek című fejezet zárja. Az előbbieket miatt, a módszerekre vonatkozó ismertetések ugyan nem zavaróak, de azok egyetlen fejezetbe történő tömörítése, rövidíthetné a dolgozatot. A „Mellékletek” táblázatokat tartalmaz, - az opponens nem érti miért nem sorolta a Jelölt azokat, a szövegben egyébként is előforduló táblázatok közé.

Az Irodalomjegyzék bőséges, lefedi a felvetett tudományos kérdést és arról tanúskodik, hogy a Jelölt ismeri a nemzetközi irodalmat. A hivatkozott publikációk száma 22 oldalas irodalomjegyzékben található (oldalanként 15-16 referenciával), - ez a szám megfelel annak, amennyi ismertetendő abból az 5-6 ezerből, ami egy témát manapság reprezentál és egy színvonalas dolgozatban elvárható. Dicséretes, hogy a Jelölt a legújabb munkák mellett, az algák felhasználására vonatkozó törekvéseket a 19 sz. végétől áttekintette, nem mellőzve a hazai törekvéseket sem. A dolgozatban előforduló elütések, értelmezhetetlen mondatok száma elhanyagolható.

2. Az értekezés tartalmi véleményezése

A bíráló, az értekezés szokatlan szerkezete miatt (a bíráló nem kérdőjelezi meg a választott struktúrát) úgy gondolja, hogy a véleményének kifejtése során követi a Jelölt által választott szerkezetet, következésképpen az opponensi vélemény is négy részre tagolódik. Ez annyiban könnyíti meg az opponens munkáját, hogy a véleménye kifejtése, a dolgozat olvasásának folyamatában tehető meg.

2.1. Az Algagyűjtemény (MACC) kialakítása Mosonmagyaróváron

Csak elismerés illeti Ördög Vince törekvéseit, hogy sok-sok éven át, munkát és erőforrást nem kímélve létrehozott egy prosperáló algagyűjteményt (2.3., 2.4., 2.8., 2.10. ábrák). Ráadásul, a bíráló, személyesen is ismeri a kiváló törzsgyűjteményt és meggyőződéssel emeli ki annak szakmai kvalitásait. Láthatóan, hozzáértéssel kezeli a gyűjteményt és a kutatásai igazolják, hogy eredményesen használja azt, a különböző alapkutatási- és a gyakorlati problémák megoldására. A Jelölt joggal tekinti munkássága, egyik leghangsúlyosabb részének az oxigént-termelő fotoszintetikus mikrobák törzsgyűjteményének létrehozását. A leírt mikrobiológiai munka hozzáértésről tanúskodik és dicsérendő, hogy axenikus tenyészetek kialakítására törekszik. A Jelölt az algatörzsek mikrobiális kontaminációját szénforrásban gazdag táptalajon (1 % pepton, élesztő kivonat, glükóz, - valószínű minden összetevő koncentrációja 1 %, nem közöl irodalmi forrást) ellenőrizte. Kipróbálták-e a tesztet, alacsony szénforrás tartalmú agaron [pl. 0,2 % glükóz, 0,02 % casamino sav (pepton)] - ismert, hogy számos kontamináló heterotróf mikroba nem nő, szénforrást nagy koncentrációban tartalmazó, agarral szilárdított táptalajon [Rippka, R. (1988) *Methods in Enzymology*, vol. 167, p. 27].

Az értekezés, a 11. oldalon felveti a törzsgyűjteményeket fenntartók egyik dilemmáját: „nagy szakértelmet igénylő feladat ... a gyűjtemény mikroalga törzseinek taxonómiai azonosítása”. A dolgozat nem említ határozóműveket, amelyek alkalmasak az oxigént termelő fotoszintetikus

szervezetek morphospecies-einek identifikálására. A bíráló semmiképpen nem ért egyet a Jelölttel abban, hogy „Célunk nem törzsek eladása, hanem hazai és nemzetközi kutatási projektekben való részvétel. Egyedi kutatási témáinkban való részvételre és kétévente szervezett tudományos üléseinken a részvételre növekvő hazai és nemzetközi igény van.” (p. 40, 2. bekezdés, 9. sor). A tudományok internacionalitása, a publikációs kényszer, a hivatkozások hajszolása és főleg a tudományok fejlődése és fejlesztése korában, az előbbi nem érthető. Az opponens azzal egyetért, hogy nem kell a törzsekért pénzt kérni, de ha nem publikálják a gyűjteményt, nem számíthatnak kutatási témákban való részvételre és az eredmények érvényes közlésére. A törzsgyűjtemények legnagyobb értéke azok nyilvánossága. Hogyan hasonlíthatná gyűjteményét, az európai gyűjteményekhez, ha azokat nem publikálták volna (lásd alább).

A Jelölt, ebben a fejezetben a törzsgyűjtemény előzetes molekuláris taxonómiai vizsgálatát, a MAAC törzsek rendszertani pozíciójának és produktivitásának analizisét veti fel és a gyűjtemény, európai algagyűjtemények között elfoglalt helyét taglalja. A gyűjteményben 970 törzset tartanak fel (hihetetlen sok munkát és időt kíván), amelyek ~ 1/3-a cianobaktérium, a többi oxigenikus eukarióta fotoautotróf szervezet – az izolátumok 134 genushoz és 315 fajhoz (morphospecies) tartoznak. A törzsgyűjteményt, az izolátumok száma (pl. 2.5., 2. 15. ábrák), taxonómia pozíciójának százalékos megoszlása (pl. 2.6., 2.18. ábrák) alapján jellemzi. A dolgozat kitér, a kiválasztott izolátumok törzsenkénti produktivitásának ($\text{g L}^{-1} \text{ nap}^{-1}$; pl. 2.12., 2.19., 2.20. ábrák) jellemzésére is, amit a különböző táptalajok alkalmasságának kiválasztására használ.

A gyűjtemény prosperálóan működik, de a Jelölt, teljes egészében nem publikálta a fajlistát. Az algasejteknél előforduló növényi hormonok kutatása során, a gyűjteményben található algatörzsekkel dolgozott és azok publikációja megtörténtnek vehető. Az előbbieket miatt, a különböző alapon kiválasztott szempontok (taxonómia, produktivitás stb.) százalékos megoszlása nem informatív, hiszen az izolált és az izolálendő törzsek számának gyarapodásával változik (meggyőződésem, hogy további törzsiszolálás folyamatosan történik a gyűjteményben). A Jelölt kihasználhatta volna a jelen értekezést arra, hogy a Mellékletekben, a gyűjtemény törzsléírását, a törzsek pedigéjét, a törzsek történetét (strain history) megadja, és ettől kezdve az publikáltnak számíthatott volna.

Felvetődik, hogy milyen alapon választották kiindulásként, a törzsek tenyésztéseinek átváltása, a hígítása során, az általánosan használt $10 \text{ g szárazanyag L}^{-1}$ [10 mg ml^{-1} (p. 24., 3. bekezdés, p. 25. 1. bekezdés)] algatömeget ($3,63 \cdot 10^5$ sejt ml^{-1}), - lehet-e általánosítani, hogy az eltérő genus-okhoz ill. fajokhoz tartozó törzsek sejtenkénti szárazanyag tömege azonos? A kérdés különösen a szinkrontenyészetek átváltása során (p. 25., 2. bekezdés) lehet kritikus, hiszen a szárazanyag meghatározás hosszú időt vesz igénybe. Ha klorofill tartalom mérése alapján hígítanak, az sokkal gyorsabban hajtható végre (néhány perc). [Az opponens, a probléma nehézségeit megértve felveti, a sejtszinkronizálás (szinkronitás) nyomon-követésére, az oxigén elektród használatát, ami gyorsabb lehet a fáradságos sejtszámlálásnál, hiszen a milliliterenkénti oxigéntermelés arányos a tenyészet sejtek számával.] A dolgozat, a tenyészetek produktivitását $\text{g szárazanyag L}^{-1} \text{ nap}^{-1}$ algatömegben adja meg. Megvizsgálja, mennyi a száma azoknak a stacioner tenyészeteknek, amelyek szárazanyagtartalma ($\text{g szárazanyag L}^{-1}$) a legnagyobb értéket mutatja. Nem mutat be, az idő függvényében milliliterenkénti sejtszám növekedési kísérleteket, amelyekből a lag fázis, a tenyészetek kettőződési ideje, vagy növekedési állandója számítható lenne, - az előbbi adatokból a törzsek produktivásáról több információ nyerhető. A vizsgálatok során, a törzsek leggyorsabb növekedésének és produktivitásának (termelésének) elérésére a különböző táptalajok optimalizálásával is foglalkoztak. Az érdeklődés szintjén felvetődik, a táptalajban az egyes

mikroelemek mennyisége befolyásolhatja-e a törzsek növekedési rátáját (ismert, hogy Cu, Co ionok mennyisége befolyásolhatja a törzsek növekedését)?

A dolgozat szóbanforgó része foglalkozik, cianobaktérium törzsek előzetes molekuláris taxonómiai jellemzésével (2.3.1. fejezet, p. 26-27). A Jelölt azt írja: „Az eredmények részletes bemutatására nem térek ki, hiszen az elsősorban a PhD hallgatók és témavezetőinek eredménye.” (p.26., 15. sor.) és idézi Makra és Balázs (Támop jelentés, 2014) referenciát, amit nem vesz fel az irodalomjegyzékbe. Ráadásul, a vizsgált törzsekről úgy fogalmazza meg mondanivalóját: „azonosnak tűnik”, majdnem bizonyosan állítható”, „minden bizonynal”, „A két törzs minden bizonynal egy fajhoz tartozik, morfológiailag is azonosnak tekinthető, ennek ellenére, nem állítható biztosan, hogy élettani tekintetben nincsenek különbségek közöttük”. Nem vitatkozva levont következtetéseivel (p. 27, utolsó bekezdés), a kladogramok, a rDNS struktúrák és gének szekvencia analízise nélkül, a megállapítások nem informatívak. Mi több, ha két törzs azonos taxonómiai identitású, a genomja közel áll egymáshoz, „élettanilag” nem különbözhetnek, hacsak a környezeti feltételekben nem tapasztalunk különbséget (lásd pl. enzim indukció és represszió, stb.). A bíráló, a dolgozathoz kihagyta volna ezt a reménykeltő és előzetes vizsgálatokon alapuló fejezetet. Természetesen értjük, hogy ilyenfajta vizsgálatokat a Jelölt szívesen tesz közzé. A bíráló az előbbi adatok helyett, a már publikált *Chlorella minutissima* MACC 360 törzs 16S/18S rRNS alapú azonosítását mutatta volna be, ahogy az a Stirk et al. (2014) Plant Physiol. Biochem. 79. 66-76.-ban leírásra került. A „*Tervek, jövőkép*” című fejezet (p. 42, pl. mikor térnek át a krioprezervációra stb.) nem tartozik a dolgozat témájához.

2.2. A mikroalgák növényi hormontermelése

Az értekezés legsikerültebb fejezete és minden részében publikált eredményeket mutat be. Ebben a részben tárgyalt megközelítések egyik része alapkutatás jellegű (algák növényi hormontermelésének analízise és a sejtciklus szabályozása), más része gyakorlati megközelítés, hogyan lehetne növényi hormonokat, algakivonatokat mezőgazdasági növények hozamának serkentésére felhasználni. A vizsgálatok során, a MACC-ből kiválasztott mikroalga törzsekből auxinokat, kinetineket, gibberellineket, abszcizinsavat, brassinoszteroidokat analizál. Etilént és más hormonhatású komponenseket nem vizsgál, a növényekben általánosan megtalálható komponensekből.

A kiválasztott módszertani megközelítés, nemzetközi szinten elfogadott metódusok alkalmazását jelenti és az értekezés pontosan leírja, hogyan alkalmazta a bioteszteket (uborka sziklevél, szója kallusz – citokinin, mungó bab hipokotil – auxin). A növényi hormonok analitikája kiemelkedő színvonalú része a dolgozatnak, papír kromatográfia, immuno-affinitás kromatográfia, HPLC, deuterált hormon prekursor metabolitok tömeg-spektrometriás azonosítása és mennyiségi meghatározása, az a módszertani arzenál, amit a Jelölt alkalmazott. A vizsgálatok érdeklődésre tarthatnak számot a növények evolúciós változásának nyomon-követésében. A genom vizsgálatok mellett, az ilyenfajta elemzések adhatnak választ arra kérdésre, hogy az evolúció során hogyan alakult ki, honnan származnak, a növények anyagcsere regulációjában résztvevő növényi hormonok. Megállapították a megvizsgált szervezetekben, hogy a szóbanforgó növényi hormonok előfordulnak az algákban, beleértve a cianobaktériumokat is. A tenyészetek sejtszám-növekedés változásának fiziológiai körülményitől, a tenyészet növekedési fázisaitól függően, a szóbanforgó hormonok „pool” mérete változó.

Az analitikai vizsgálatok során, a különböző izolátumok (MAAC törzsek) hormontermelésében, a hormon-metabolitok „pool” méretében kimutatott különbségek miatt, élettani kísérletek segítségével (szinkronizált sejtszétválású tenyészetek) kívánták megérteni, az eukarióta alga sejtek osztódása során,

a hormon-metabolitok szerepét. A szinkronizált *Chlorella minutissima* tenyészetek fény- és sötétszakaszában megvizsgálták a növényi hormonok változásának dinamikáját. A publikált kísérletekkel kapcsolatban az a kérdés vetődik fel, miért nem alkalmaztak a vizsgálatokban folyamatos megvilágítású kontrollt (3.7. ábra) a fény : sötét, a folyamatos sötét, a folyamatos sötét + glükóz kezelés mellett? Informatív lehet és javasolható, a hormontermelés változásának és a hormon szintek közötti interakció jelntőségének megértésében, a specifikus fehérje- (pl. puromcin), RNS szintézisgátló (pl. aktinomicin D), energia éhezést indukáló vegyületekkel (pl. metiviologén) történő kezelés.

Óvatosságra van szükség a megfogalmazásban olyan megállapításokkal: (i.) „A különböző konjugátumok alapján megállapítható, hogy az aktív növényi hormonok szabályozása zöldalgákban egyszerűbb, mint a magasabb rendű növényekben: (1) kevesebb a tárolt indol konjugátum, és (2) nincsenek dezaktiválási termékek (N-glükozidok)” (p. 70). Az esetleges eltérések a hormon intermedierek „pool” méretében csak annyit jelenthet, hogy az más vagy eltérő. (ii.) Az utóbbi vonatkozik arra a megállapításra is: „A mikroalgákban a GS₆ a domináns biológiailag aktív gibberellin.” (p.73)., mert a sejtekben, ez találták a legnagyobb koncentrációban!?. (iii.) Az eredményes hormon vizsgálatokra vonatkozó kutatómunka eredményeinek közvetlen, a mezőgazdasági növény növekedésének serkentésére történő felhasználása óvatosságra és körütekintésre int, különösen a nyerskivonatok alkalmazása esetén, hiszen a bekövetkező esetleges serkentés nem biztos, hogy a növényi hormonok hatásának következménye.

A különböző növényi hormonokkal foglalkozó fejezet mondanivalóját segíthette volna, az ismert növényi hormonok szintézisútjait bemutató ábrák beillesztése, mert nem minden olvasó ismeri(heti) a szóbanforgó anyagcsere utakat. A „Kutatás, jövőkép” fejezetet elhagytam volna, ahogy azt fentebb kifejtettem.

2.3. Mikroalgák hatása növénypatogén gombákra

A felvetés, a MACC törzseinek szűrése és tesztelése agar-diffúziós teszt segítségével a növénypatogén gombák inhibitoraként, érdekes és előremutató törekvés a fungicid és fungosztatikus komponensek kimutatására. Az ilyenfajta vizsgálatok vezethetnek új fungicid hatású vegyületek, később növényvédőszer, növénykezelési módszerek kialakításához. A kiválasztott növénypatogén gombák listája körültekintő módon történt és elismerésre méltó a növény-patogének fajválasztása (9 faj). Az agar diffúziós módszer, a kérdés megközelítésében elfogadható. Az adatok értékelése során, a hatás kimutatására, az interakció bonitálását választották. Mérték ugyan a gátlási zónák átmérőjét, de azokból nem számoltak virtuális 50 %-os effektív koncentrációkat (EC₅₀ értékeket). Felvetődik az eredmények reverz módon történő ellenőrzése, nevezetesen az alga-szuszpenzió és kivonatainak, agarba öntése után, a Petri csészékbe, exponenciálisan növekedő gomba micélium tenyészetekből, steril dűgőfuróval kivágott, propagulumok inokulálása (micélium forrás) és azt követően, az inkubálás során, a micélium növekedés mérése. A növénypatogén gombák és az algakivonatok interakciójával kapcsolatban, a Jelölt a 80-81. oldalon fogalmazza meg a célkitűzéseit. A második pontban összefoglalt cél: az alga törzsek élőhelye, a szóban forgó izolátum taxonómiai pozíciója és a biológia effektivitás között keres kapcsolatot, a nagyobb fungicid találati arány kiderítésére. A bíráló nem érti, hogy a rendelkezésre álló random adatokból (pl. valószínű, hogy véletlen módon gyűjtötték a izolátumokat, nem ismerjük a gyűjteményben található törzslistát és törzsek történetét) hogyan következik ez a megállapítás? A „4.4.2. Biológiai növényvédelem mikroalgákkal” című fejezet megállapítja, hogy a mikroalgák „növénypatogén gombákkal szembeni kontakt fungicid vagy fungisztatikus” hatásuk. Később „A 19 fungicid hatású mikroalga kijutattása a növényekre

helyettesítheti, kiválthatja a szintetikus növényvédőszeret.” (p. 100, 4. bekezdés, 4.sor). A dolgozat végül a „por alakban” növényekre vitt alga a ”gyakorlatiasabb megoldás”. „Újszerű megoldást kínál a sztómákon keresztül a levél mezofill részébe bejutó, apró élő algasejtekből álló szuszpenzió kijuttatása, amelyek a levéllel együtt élve fejtik ki hatásukat.”?! „4.4.2. A biológiai növényvédelem mikroalgákkal” című fejezetben, a növényi hormonok felvázolt szerepe mechanikus és leegyszerűsítő. Az élő sejt anyagcseréjének regulációja, a szignáltranszdukciós utak komplexitása stb. feltétlenül óvatosságra int [lásd Goodman, Király, Wood (1991) A beteg növény biokémiája és élettana, Akadémiai Kiadó, Budapest, p. 457-534]. Nem hiszem, hogy a kép olyan egyszerű, hogy ’beporozzuk, megvédtük, mert ... a hormonok’! Az opponens, a fejezet utolsó megállapításával ért egyet „a rendszer működésének további alapos kutatására és megismerésére van szükség.” (p. 101). „Tervek, jövőkép” irreleváns.

2.4. Illékony szerves vegyületeket termelő MACC törzsek a káposzta gyökérlégy elleni védekezésben

Az értekezés racionalitásán végigvonuló állandó elv, az algák felhasználhatóságának analízise a mezőgazdasági gyakorlatban. A szóbanforgó fejezet kiemelten megfelel ennek a megközelítésnek, - az algák illékony anyagait (AVOC) teszteli káposzta gyökérlégy (*Delia radicum*) peterakási folyamatain, azon meg gondolás alapján, hogy azok volatilis komponensei gátolhatják a peterakást, ami növényvédelmi jelentőségű lehet, nem feledkezve meg arról, hogy a VOC anyagok attraktánsként is viselkedhetnek. A vizsgálatokat kooperációban valósították meg, az MTA Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézet munkatársai segítségével, akik a liofilizált cianobaktérium mintákból, a volatilis anyagokat, az ún. „closed-loop stripping” módszerrel izolálták és megpróbálták azokat azonosítani gázkromatográfiával. Az értekezés, előzetes kutatási eredményeket mutat be, a liofilizált cianobaktérium kivonatok hogyan interferálhatnak a káposzta gyökérlégy peterakási szokásaival. Káposzta gyökérlégy peterakási biotesztjében *Brassica rapa* subsp. *rapa* répastestjének darabjait alkalmazták, amit a liofilezett cianobaktériumok vízben szuszpendált aliquotjaival kezeltek, szűrőpapíron. A répastest darabokat elkülönítették-e, a cianobaktérium liofilizátumot tartalmazó, nedves szűrőpapíroktól, pl. kis Petri csészékkel? Mi bizonyítja, hogy a bemutatott kromatogramon (5.2. ábra), a 6,7 perces komponens „volt felelős” a szaghatásért (p. 112. 4. bekezdés)? Megállapítható-e, a szóbanforgó komponens minden izolátumban történő mennyiségi változása alapján és ’mocsárszaga’ alapján, hogy az a „szaghatásért” felelős komponens? Továbbiakban felvethető, hogy a liofilizálás procedúrája alatt, a nagy vákuum és az emelt hőmérséklet mellett, a preparátumban hogyan maradhatnak illékony anyagok (lehet- e valamiféle kinetikája szóbanforgó komponensek felszabadulásának)? Valószínű, hogy a *Synechococcus* PCC 6301 cianobaktérium törzs (vagy más publikált és vizsgált izolátum), belső standardként felhasználható, hiszen azokból jól definiált kémiai anyagokat publikáltak és „spike” technikával azonosíthatók [Jüttner (1988) Method in Enzymology, 167, 609-616; Jüttner & Watson (2007) Appl. Environ. Microbiol. 73. 4395- 4406]. Ráadásul, a geosmin és a 2-methyl-iso-borneol kapható a Sigma finomvegyszer forgalmazótól, amely közvetlenül használható lehet a káposztalégy tesztekben.

3. Az értekezés új tudományos eredményei

Az MTA doktori szabályzatának megfelelően, új tudományos eredményként, a következőket javaslom elfogadásra:

- i.) A Mosonmagyaróvári Algagyűjtemény (MACC) kialakításáért és fenntartásáért kifejtett erőfeszítéseket. A gyűjteményben deponált közel 1000 törzs, az izolátumok a tudományos kutatásban történő felhasználása indokolja a megállapítást.
- ii.) A gibberellin anyagszere tanulmányozása során, elsőként kimutatták a *Chlorella minutissima* zöldalgákban, a fajra jellemző gibberellin szintézis, sajátos anyagszere metabolitjait és az analitikai módszerekkel kimutatható prekursorok jelenlétét. Az előbbieket mellett, algákban tanulmányozták az auxinok, citokininek, abszcizinsav és a brassinoszteroid anyagszere változásait.
- iii.) A kölcsönhatás esetleges növényvédelmi felhasználása céljából, analizálták a mikroalgák és a növénypatogén gombák interakcióit. Ígéretes, a növénypatogénnal szembeni, antifungális interakciókat mutattak ki, amely hatás esetleges gyakorlati felhasználási lehetőségeit diszkutálták.

Az értekezés gondolatmenetét áthatja az a megközelítés, hogy a mezőgazdasági gyakorlatban, az alapkutatói eredmények hogyan hasznosíthatók és alkalmazhatók.

4. Az opponens kérdései a Szerzőhöz

- 1.) Az MACC, főleg talajalgák gyűjteménye, - talált-e mikroaerofil izolátumot(okat), - a talajalgák a szűrt tenyészetekben hogyan viselkednek, vannak-e különbségek az izolátumok között?
- 2.) Mikor és hogyan kívánják publikálni a gyűjteményt (lásd fentebb)?
- 3.) Az értekezés megállapításain végigvonul a dicsérendő gyakorlati felhasználás gondolata. A praxisban, az algakivonatok, akár élő, akár liofilezett, alkalmazása, a felvetett növényi hormonhatások mellett, számtalan más befolyással is bírhatnak [tápelemek, szerves metabolitok (aminosavak, cukrok, zsírsavak, lipidek, nukleinsav prekursorok stb.) a növények növekedésére. Hogyan, milyen kísérleti megközelítéssel zárhatók ki az előbbi interferenciák?
- 4.) Néhány növényi hormon viszonylag olcsón beszerezhető. Miért nem terjedt el a mezőgazdasági gyakorlatban, talán a kertészetet kivéve, azok tömeges alkalmazása?
- 5.) Az algakutatások egyik központi kérdése, a biodizel termelése algákkal. A transzgénikus (génmódosított) lipidtermelésű algák manapság hozzáférhetők, - mi a véleménye az ilyenfajta konstrukciókról annak tudatában, hogy a mezőgazdaság *ab ovo* elzárkózik, a génmódosított növények alkalmazásától Magyarországon?

5. Félreértések, elírások felsorolása

Feltétlenül javítandó a fajok nevének említése azokban az esetekben, amikor a genus név nyilvánvaló: pl. *Chlorella vulgaris* esete és azt követően további, a genushoz tartozó fajok idézése történik és a genus név rövidítése után a fajnév közvetlenül következik, szóköz nélkül (esetünkben *C. minutissima*, ami helyesen *C. minutissima*, szóközzel. Nem törekedve teljességre pl. p. 31, 67, 68, 69, 75 stb..

Pontatlan a megfogalmazás a cianobaktériumok tápoldatáról a 33. oldalon, „ . . .” ami nitrogénmentes lehet a nitrogénkötő cianobaktériumok esetén” – hogyan nőnek nitrogén nélkül, a

tenyészetben átbuborékolatott levegő N₂ gáz tartalma nem nitrogén atomokból áll? – helyesen *kötött*-nitrogén mentes.

A 77. oldalon a 3. bekezdésben említett faj „A *Gloecapsa* sp. zöldalga és ...” – a *Gloecapsa* genus a cianobaktériumhoz tartozik [van den Hoek et al. (1995) *Algae*, Cambridge University Press, p. 33].

A 80. oldal 1. bekezdés, 4. sor: „A mikroalgák szárazanyagában mintegy 50 % a fehérje, a keményítő pedig az elsődleges szén-és energia-forrás.” Az algák és növények esőleges szénforrása a CO₂, primer energia-forrása a Nap sugárzó energiája, a fény. A továbbiakban a megfogalmazás rendben van.

A 103. oldalon, az idézetek közül a 3. bekezdés 4. sorában a „stb.” törlendő, vagy további referenciák beillesztése szükséges.

A Mellékletek M2.1. Táblázatából, a BG-11 tápoldat mikroelem tartalmából véletlenül kimaradt a kobalt (0,17 µM, A₅ + Co) és a tápoldat kötött nitrogén tartalma a NaNO₃ (17,65 µM).

Az előbbieket alapján a nyilvános vita kitűzését javaslom és doktori munka tudományos eredményei megfelelőek a cím, Ördög Vince számára történő odaítélésére.

Debrecen, 2015.június 10.

Borbély György
MTA doktora