

Opponensi vélemény

Tóth Erika: „Új prokarióta taxonok leírása és módszerfejlesztések alkalmazott mikrobiológiai és mikrobiális ökológiai kutatások során” c. akadémiai doktori értekezéséről

Az akadémiai doktori értekezés témája Tóth Erika eddigi munkásságának csaknem teljes körű, olvasmányos feldolgozása. A dolgozat a több mint két évtizedes munka tudományos eredményeit, pontosabban néhány kiemelt környezet-mikrobiológiai területen született eredményeit és azok hasznosítását foglalja össze. Az értekezés a szokványos disszertáció struktúrájától kissé eltérően szerkesztett, 123 oldal terjedelmű alkotás. A disszertáció tartalmazza mindazon fejezeteket, amelyek a követelményrendszerben meghatározottak, még ha jelölt más néven is illeti őket, így a Bevezetés, Célkitűzés, Irodalmi áttekintés, Anyag és módszer, „Saját kutatások”, A taxonómiai kutatások részletes eredményei, Összefoglalás magyar és angol nyelven, Felhasznált irodalom, Köszönetnyilvánítás.

A jelölt célul tűzi ki, hogy áttekintést adjon a prokarióta taxonómia fejlődéséről napjainkig, szem előtt tartva a módszertanban bekövetkező változásokat. A célkitűzés megfogalmazásakor jelentkezik az a szemlélet és közlésmód, melyet nem tartok szerencsésnek. Hiszen a tudományos életben, így a mikrobiális ökológiában feltett kérdések különböző szinteken más-más formában kell, hogy megjelenjenek. Egy akadémia dolgozatban „Ki van ott?; „Mit csinál ott?”; Mi lehet a szerepe?” kérdések egy személyes megbeszélésen, vagy tudományos ismeretterjesztő előadáson elférnek, de írott szakmai és még inkább akadémiai területen nem megengedhető. Szakmailag jól megfogalmazott kérdéseket és válaszokat kell, hogy tartalmazzon egy akadémiai dolgozat, mely alap és példa lehet a napjainkban gyakran tapasztalható pongyola közlésmóddal szemben. A bevezetésben használt, érzésem szerint közvetlenséget célzó kifejezésmód a dolgozat más fejezeteiben is érvényesül, amelynek én nem tudok örülni

Az **Irodalmi áttekintés** 35 oldal terjedelmű igen alapos, jól megírt és olvasmányos fejezet. Kezdetektől fogva mutatja be a prokarióta taxonómia változását az alábbi felosztásban: A prokarióta taxonómia kezdete és fejlődése napjainkig, A prokarióta fajfogalom/fajdefiníció problematikája, A leírt prokarióta taxonok számának változása napjainkig. Prokarióta taxonok jelenleg használt, általános vizsgálati módszerei, Morfológiai, fiziológiai és anyagcsere sajátosságok, Fiziológiai és ökológiai vizsgálatok, Az anyagcsere vizsgálatok, Gyorsdiagnosztikai eljárások, Kemotaxonómiai vizsgálatok, Genetikai analízis, Prokarióta taxonok leírásának módszertana és annak fejlődése 2010-től napjainkig.

Nagyon jól összefoglalt mindent, amit a baktériumok faj azonosításáról és a rendszerezés alapelveiről tudni kell, illetve az is, hogyan változott/modernizálódott a fajleírás az utóbbi évtizedekben. Igazán jó összefoglalása ennek a területnek, melyet ajánlok oktatóként és kutatóként egyaránt. Így külön kiemeli és magyarázza a klasszifikáció fogalmát, mely nem választható el az identifikációtól, de leírva annak eltérő elemeit, illetve a prokarióta fajfogalom fejlődését is nyomon követhetjük a laboratóriumi technikák fejlődésével párhuzamosan. A „genetikai” alapon meghatározott fajfogalom - melynek alapja a 16S rRNS gének teljes szekvencia analízise alapján 97% vagy annál nagyobb hasonlósága, továbbá a teljes genom DNS-DNS hibridizációjának 70% vagy annál nagyobb hasonlósági értéke -, mellett bemutatja két genom között az átlagos nukleotid azonosság (ANI= Average Nucleotide Identity) meghatározását is, mely most (a dolgozat készítésekor) a legalkalmasabb a genetikai fajhatárok megállapítására. Így nem szükséges a teljes genom összetételének pontos ismerete, elegendő a genom kb. 20%-ának random szekvenálását elvégezni.

A legutóbbi időkig a prokarióták körében a taxonómiai leírások esetén a polifázikus eljárásokat javasolták: mind fenotípusos (klasszikus fenotípusos tesztek, ökológiai vizsgálatok, gyorsdiagnosztikai eljárások, kemotaxonómiai analízisek), mind genetikai analízissel vizsgálni egy adott (lehetséges új) taxonómiai csoportot. Kihangsúlyozva, hogy még napjainkban is a valódi faj „fogalom” alapja a tenyésztetheység. Ugyanakkor a „modern” fajfogalom a genomikát is bevonja a gyakorlatba, és 2018 óta a fajleírások már megkövetelik a típusörzs teljes genomjának szekvencia-meghatározását és legalább a nyers genom adatainak közzétételét. A genomszekvenálás eredményeként a fajhatárt jelző 16S rRNS gén hasonlóságot 98,7%-ra emelték; emellett bemutatja az OTU (Operatív Taxonómiai Egység) és a faj kapcsolatát is.

Az élvezetes, és szakmailag igen jól megfogalmazott fejezet az elírások és formai pontatlanságok miatt sajnos veszít értékéből, melyet még az oda nem illő személyes megjegyzések is erősítenek.

Az **Anyag és módszer fejezet** két alfejezetből áll, melyek közül az első Környezetmikrobiológiai/környezet diagnosztikai vizsgálati módszereket és elemzéseket mutat be, illetve a másik részben Taxonómiai leírások során alkalmazott módszereket ismerteti. Habár 13 oldalon keresztül történik a Tenyésztés és nem tenyésztésen nyugvó módszerek bemutatása - így a Baktériumtörzsek tenyésztése, Morfológiai vizsgálatok, ökológiai és fiziológiai tolerancia vizsgálatai, Biokémiai tesztek, Gyorsdiagnosztikai eljárások, Kemotaxonómiai vizsgálatok, Genetikai vizsgálatok -, mégis hiányosnak érzem ezt a fejezetet. A 4.1.1 pontban a tenyésztés módszerek leírása történik, illetve az újonnan kidolgozott módszereké, bár véleményem szerint itt nincs új technikáról, módszerről szó csak a 4.1.1.3 fejezetben, ahol egy már leírt módszert módosítottak.

Az 5. fejezet az alábbi címet viseli: **Saját kutatások, amelyekben taxonómiai eredményinket különböző problémák megoldására, illetve különböző környezetek bakteriológiai diverzitásának leírására használtuk fel.**

Kicsit érthetetlen ez, és nem találok megfelelőnek ezt a címet. Érzem, mit szeretne kifejezni, de címválasztása nem jó. Ezt ez érzést tovább erősíti a forma, melyet használ: több fajta betűméret, és nagy sortávolság, mintha csak a fejezetnek a hosszát igyekezne növelni. Korántsem kelti a letisztultság érzetét.

Nagyon jó, sőt elengedhetetlen, hogy az adott területen született publikációk egyértelműen beazonosíthatók legyenek, erre több igen jó és szemléletes példát lehetett volna találni, de nem sikerült. Továbbá nem követendő példaként említem meg azokat a személyes megjegyzéseket is, melyek nem hozzák közelebb sem a témát, sem nem a közvetlenség érzetét, én inkább zavarónak érzem ezeket. („Munkában J.L.Khoga PhD hallgatóként és Hell Éva MSc hallgatóként vett részt; megjegyzés: ezt a témát csak a teljesség kedvéért tettem bele a dolgozatba, hogyan is nyílt ki az érdeklődésem az alkalmazott kutatások irányába, azaz valóban a kezdetek.... részletesebb információkat ld. a kapcsolódó további cikkekben).

Az 5.1 fejezet címe, „Ahogy kezdődött: a birkák között...” szintén nem a közvetlenség, humor érzetét keltette bennem, mivel ez sem megfelelő nyelvezet egy akadémiai doktori értekezésben. Az összes alfejezet (5.1, 5.2, stb) mind-mind egy régebbi/alkalmazott kutatás rövid leírása, amely eredeti célja lenne, hogy elősegítse a 6. fejezet megértését. De éppen ellenkező hatást ért el azzal hogy, mindenhol jelzi: csak rövid áttekintést nyújt, miközben inkább kérdéseket vet fel a megértés előmozdítása helyett.

A szokványos formától eltér, de ugyanakkor jónak tartom, hogy minden fejezet végén kiemeli az eredményt vagy eredményeket. Ebben a fejezetben például a két legerősebb vonzó hatást mutató baktérium (*R. fascians* és *M. aurum*) szűrlete alapján légycsapdázó anyag összetételére is javaslatot tett.

Az 5.2 fejezetben (Szennyvíziszap vizsgálatok) a legrészletesebben az 5.2.2 alfejezet van kibontva, ami egy ötletes buborék számláló módszer kidolgozásáról szól. Ez a módszer a

digitális képfelismerésen alapuló buborékmérés és -számlálás elvén működik, amellyel alacsony gázhozamú bioreaktorok gáztermelése hatékonyan mérhető. Vitathatatlan ennek a jelentősége a munkában, ugyanakkor inkább külsős mérnöki munkának, nem pedig saját eredménynek tudom be. Mindezt rossz minőségű ábrákkal demonstrálja. Ráadásul az egész csak azért lett bemutatva, mert nem volt pénz megfelelő készülék beszerzésére és ezt a megoldást találták ki helyette. Idézet: "szegény ember vízzel főz". Egyrészt jó, hogy ennyire kreatív ötletek is megvalósulhattak, ugyanakkor ezt sem tartom szerencsésnek ilyen formában megjeleníteni. Új eredményként a metántermelés hatékonyságát potenciálisan befolyásoló tényezőket említ meg, így az optimális hőmérsékletet, melynél a metántermelésért felelős Archaea-k maximális biogáztermelése mellett a szulfátredukáló baktériumok visszaszorulnak.

A parti szűrésű ivóvíz vizsgálata alfejezetben tenyésztési vizsgálataink során több új baktérium taxont fedeztek fel, mely a taxonómiai részben kapott helyett. Az Egy magyarországi erőmű víztisztító rendszerének vizsgálata c. munkánál táptalaj-fejlesztés történt, ami dicséretes. Ugyanakkor itt sem a pontos összetétel megadása, felsorolása lett volna érdekes, azok inkább a mellékletben jobban megfértek volna az új fajleírásokkal.

A fürdő- és természetes vizek vizsgálata c. fejezetben már elérkezünk a jelenhez, ezen kutatások jelen pillanatban is folynak. Új tudományos eredménynek tekintem, hogy nagy számban, elsősorban a nádas vizének mintájából sikerült a tudomány számára nézve új baktérium taxonokat tenyésztésbe vonni: a Proteobacteria, Bacteroidetes és a Verrucomicrobia törzsek képviselőit, közülük ezidáig egy került leírásra, mely a dolgozat taxonómiai részében található.

A taxonómiai kutatások részletes eredményei című fejezetben bemutatásra kerül konkrét adatokkal, hogy Tóth Erika az ELTE Mikrobiológiai Tanszékén számos új baktériumtaxon leírásában vett részt, 2001 óta 40 új baktériumfaj, illetve nemzetség polifázikus vizsgálatában, melyek közül több leírásában kulcsfontosságú szerepet töltött be. Így az alábbiakban is, melyeket szintén új tudományos eredményként fogadok el.

Schineria larvae gen. nov. sp. nov., nevezéktani revíziója - *Ignatzschineria larvae*

Wohlfahrtiimonas chitiniclastica gen. nov. sp. nov.

Nocardioides hungaricus sp. nov.

Aquipuribacter hungaricus gen. nov. sp. nov.

Gellertiella hungarica gen. nov. sp. nov.

Phragmitibacter flavus gen. nov. sp. nov.

Az Összefoglalás lényegében összefoglalja ennek a szerteágazó munkának a lényegi elemeit, kihangsúlyozva a megfelelő kérdés-feltevés és módszerek fontosságát. A tenyésztési vizsgálatok együttes alkalmazása a modern, molekuláris biológia és kemotaxonómia széles tárházával hihetetlenül gazdag eszközt nyújt ahhoz, hogy megfelelő választ adhassunk a felmerült problémákra. Ennek segítségével az alapkutatás mellett alkalmazott kutatásokra is lehetőség nyílik.

Így a baktériumok volatilis végtermékeinek analizálására kidolgozott módszer segítségével egy potenciális légy-csapdázó anyag kidolgozása vált lehetségessé. Mindemellett új baktérium taxonok: *Schineria (Ignatzschineria) larvae* gen. nov. sp. nov. és *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica* gen. nov., sp. nov. is leírásra kerültek.

A mikrobiális közösségek szerkezetének és működésének feltárására egy jól működő, közösségi kemotaxonómiai módszert dolgoztak ki német kutatókkal, mellyel különböző markerek együttes vizsgálatára nyílt mód. Emellett a Bacteria és Archaea domének szerkezetének és működésének feltárása hozzájárult az üzemi biogáztermelés optimalizálásához egy szennyvíztisztító üzemben

Ivóvízes rendszerekben a klórozás a baktériumok sejtszámát ugyan hirtelen lecsökkenti, de a rendszerben újra-szaporodás tapasztalható, klórozás hatására a mikrobiális közösség jelentősen átrendeződik. Ivóvízbázisok és ultratiszta vizet előállító rendszerek

vizsgálata során új összetételű táptalajokat fejlesztettek ki, amely során több új baktérium taxont izoláltak: *Nocardioides hungaricus* sp. nov., *Tahibacter aquaticus* gen. nov., sp. nov., *Aquipuribacter hungaricus* gen. nov. sp. nov., *Phreatobacter oligotrophus* gen. nov., sp. nov.

Fürdővizek vizsgálata során megállapították, hogy a mikrobiális közösségekre nem csak a fürdőzők mennyisége és a környezeti körülmények vannak erőteljes hatással, hanem a vízkezelés típusa is. A Fertő-tó mikrobiológiai vizsgálatai rávilágítottak, hogy a nádborítottság nagymértékben befolyásolja a víz és az üledék mikrobiális közösségeinek összetételét. Mindkét környezetből új taxonokat írtak le: *Gellertiella hungarica* gen. nov., sp. nov.; *Brevundimonas balnearis* sp. nov., *Phragmitibacter flavus* gen. nov.

Kérdéseim:

1. Véleménye szerint miért vált követelménnyé 2018 óta a fajleírásoknál a teljes genom szekvencia meghatározása?
2. Véleménye szerint a ki nem tenyésztett és csak DNS alapon "azonosított" fajok integrálhatók-e, és ha igen akkor milyen módon a hagyományos fajazonosítási eljárásba?

Összefoglalva, a Jelölt eddigi tudományos és oktatói tevékenysége, valamint az MTA Doktora cím elnyerésére benyújtott disszertációja alapján megállapítható, hogy Dr. Tóth Erika méltó az MTA doktori cím elnyerésére. A doktori értekezés nyilvános vitára bocsátását javaslom, sikeres védelem esetén pedig javaslom az MTA doktora cím odaítélését.

2021. november 26.



Posta Katalin