
Válasz Prof. Dr. Pócsi István bírálataira

Tisztelt Bíráló!

Hálásan köszönöm a Bírálónak, hogy elvállalta dolgozatom bírálatát és külön köszönöm kritikai megjegyzéseit és kérdéseit. Dolgozatom valóban terjedelmes. Megírásakor az volt a célom, hogy egy több mint 10 éves kutatómunka eredményeit mutassam be, a kérdésfelvetéstől a kérdés megválaszolásáig bejárva ezt az utat, láttatva közben a molekuláris mikrobiológiai módszerek fejlődését, és az ezekben rejlő lehetőségeket. Bízom benne, hogy ha részlegesen is, de sikerült ezt a célt elérnem. Bírálóm részletes kritikai észrevételeire és kérdéseire az alábbi válaszokat adom:

- 1. A Bíráló felveti, hogy „a *Betaproteobacteria* osztály (ma már *Burkholderiales* rend)” megfogalmazás a megfelelő szakirodalmi ismeretek nélkül nehezen érthető. Kérdésként merül fel a Bíráló részéről, hogy ez a besorolás a GTDB (Genome Taxonomy Database) teljes genom alapú taxonómiai alkalmazásából következik-e?**

Az utóbbi néhány évben maga a „*Betaproteobacteria*” osztály, és azon belül is jó néhány, kutatásomat is érintő család jelentős taxonómiai revízióon esett át. Kissé szerencsétlen módon az általam részletesen vizsgált baktériumok jelentős része 2017-ben Boden és mtsai. által (2017) újonnan létrehozott családokba lettek besorolva. Az addig a *Rhodocyclaceae* családba tartozó *Zoogloea* nemzetség a *Zoogloaceae* család névadó nemzetsége lett, és ebbe a családba kerültek a *Thauera*, *Azoarcus* és *Uliginosibacterium* nemzetségek is. A *Dechloromonas* és *Quatrionicoccus* nemzetségek ugyanakkor a szintén újonnan létrehozott *Azonexaceae* családba kerültek besorolásra. Később Parks és mtsai. (2018) a Bírálóm által is említett GTDB teljes genom alapú taxonómiai vizsgálataik eredményeképpen a „*Betaproteobacteria*” osztályt a *Gammaproteobacteria* osztályon belüli renddé „degradálták”, és az az általam is használt *Burkholderiales* rend név alatt szerepel jelenleg. A *Zoogloaceae* és *Azonexaceae* családba tartozó nemzetségeket viszont újfent a *Rhodocyclaceae* családhoz sorolja ez a fajta taxonómia. Mindeközben a *Proteobacteria* törzset (phylum) a 2021. év vége óta a *Pseudomonadota* néven kell említenünk. Jól látható,

hogy e fajsúlyos változások több lépésben, néha szinte egymással párhuzamosan, olykor egymásnak ellentmondva történtek meg és okoznak véleményem szerint jelentős zavart. A dolgozat megírásakor komoly dilemma volt számomra, hogy feltüntessem-e ezeket a változásokat, vagy használjam a jól megszokott régi terminológiát. Végül előbbi mellett döntöttem, jelezve ezzel, hogy igyekszem követni a taxonómiai változásokat.

2. A xilol-szennyezési csóva milyen mélységben és miképpen lett meghatározva? Van-e esetleg 3D reprezentációja a szennyezésnek?

Ismereteim szerint a talajvízmintavételi kutakból, tisztító szivattyúzás utáni mintavételből lettek meghatározva a szennyezőanyag koncentrációk. A mintavételi kutak talpmélysége ismereteim szerint 6 méter. A dolgozatban bemutatott térképet nem én készítettem, azt a területet kezelő környezetvédelmi cég szakemberitől kaptam. Tudtommal 3D reprezentációja nem létezik a szennyezésnek.

3. Mit takar a szűk értelmezés a *Gammaproteobacteria* osztály esetében?

Ez esetben a korábbi, még a „*Betaproteobacteria*” osztály nélkül értendő *Gammaproteobacteria* osztályra gondoltam dolgozatomban.

4. Mennyire relevánsak, figyelembe vehetőek a szélsőségesen száraz 2011. január és 2011. májusa között nyert adatok a megfigyelt mikrobaközösségre nézve, a dominanciaviszonyok észlelt változására?

A kérdést, hogy az ebben az időszakban megfigyelt változások mennyire függenek össze a csapadékszegény időjárással, illetve más környezeti paraméterekkel, pontosan nem tudom megválaszolni, mert ilyen irányú statisztikai és egyéb vizsgálatokat nem végeztem. Célom csupán az volt, hogy a megfigyelt C23O genotípusokat adott taxon jelenlétéhez, illetve aktivitásához tudjam kötni. Ugyanakkor a megfigyelt dominanciaviszony változások voltak azok, amelyek lehetővé tették e célom elérését.

5. A Bíráló felveti, hogy a *Zoogloea oleivorans* izolálásához felhasznált biofilm eredete némileg eltér a 98. és 99. oldalakon, így ennek pontosítását kéri.

A Bírálónak igaza van, a két kérdéses oldalon nem konzekvensen van leírva a biofilm eredete. A kérdéses biofilm egy, a mintavételi kútban lévő bűvárszivattyú rozsdamentes felületén alakult ki.

6. **A *Zoogloea oleivorans*-szal kapcsolatban a Bíráló felveti azt is, hogy annak benzol, toluol és etilbenzol-lebontó tulajdonsága fontos, ám ennek ellenére nem mutattam be az ehhez kapcsolódó eredményeket a dolgozatban.**

A Bírálónak igaza van, ezeket az adatokat bemutathattam volna a dolgozatban. Mentségemre szóljon, hogy e baktérium esetében főleg annak toluol-lebontó képességét vizsgáltuk részletesen. A benzol, toluol és etilbenzol-lebontó képességét műszeres analitikai méréssel vizsgáltuk ugyan, és meg is állapítottuk ebbéli képességét, de a továbbiakban nem vizsgáltuk részletesen. Ennél fogva az eredmények tudományos igényű bemutatását nem láttam kivitelezhetőnek. Ráadásul e vizsgálatokat később, a fajleíró vizsgálatok tudományos közzététele után végeztük el, amikor lehetőségünk adódott arra, hogy a laboratóriumban mi magunk végezzünk műszeres analitikai vizsgálatokat.

7. **A stabil izotópos kísérlethez kapcsolódó metatranszkriptom eredmények ismertetésekor írtam dolgozatomban, hogy a „nehéz”, tehát jelölődött mRNS frakcióban a második legnagyobb csoportot a másodlagos anyagcseretermékek bioszintéziséhez köthető mRNS-ek alkották. Bírálóban ezzel kapcsolatban merült fel a kérdés, hogy milyen típusú szekunder metabolitokat termelhetnek ezek a baktériumok? Vajon miért ilyen nagyfokú ezeknek a géneknek az expressziója?**

A talajvízben élő baktériumok esetében nagyon kevés információ áll rendelkezésünkre e kérdést illetően. Ugyanakkor ökológiai szempontból mindenképpen érdekes kérdést tesz fel a Bíráló. E másodlagos anyagcseretermékek feltehetően mikrobiális növekedést befolyásoló (gátló vagy serkentő) anyagok. Heterogén és tápanyagban szegény talajkörnyezetben a mikroorganizmusok számos más, taxonómiailag eltérő mikroszervezettel találkozhatnak és léphetnek kölcsönhatásba. A mikrobiális növekedést gátló vegyületek előállítása nyilvánvalóan hasznos stratégia lehet a tápanyagokért folytatott küzdelemben a versenytársakkal szemben. Másfelől viszont a felszín alatti közegek oligotróf mivolta miatt a baktériumok profitálhatnak is e másodlagos metabolitok egymás közötti átadásából (Geesink és mtsai., 2018). Ahogy azt egyes kutatási eredményeim is mutatják, e környezetekben

számos olyan mikroszervezet él, amely szélsőségesen redukált genommal rendelkezik (lásd például a *Saccharibacteria* törzsbe tartozó fajok). E parazita, vagy szimbionta baktériumok életstratégiájának elengedhetetlenül szükséges részét képezik az inter- és intraspecifikus kapcsolatok. Véleményem szerint mindezek együttesen okozhatják a másodlagos anyagcseretermékeket kódoló gének fokozott expresszióját a vizsgált ökoszisztémában.

8. Szintén e kísérlettel kapcsolatban Bírálóm felveti, hogy proteom vizsgálatra lenne szükséges ahhoz, hogy megvizsgáljuk, a katekol 2,3-dioxigenáz enzimek mennyisége arányos-e az őket kódoló gének expressziójával.

A Bírálónak e kérdésben igaza van, ilyen irányú vizsgálatra mindenképpen szükség lenne, hogy az esetleges poszt-transzkripcionális folyamatokat is feltárjuk. Az anaerob toluol-lebontásban kulcsszerepet játszó *bssA* génről például jól ismert, hogy egyes törzsekben (*Magnetospirillum* sp. 15-1, *Thauera* sp. DNT-1) oxigén jelenlétében is jelentős aktivitást mutat. Maga az enzim, a benzilszukcinát szintáz alfa alegysége azonban csak anaerob körülmények között mutatható ki esetükben (Meyer-Cifuentes és mtsai., 2020). Meg kell jegyezni azonban, hogy itt egy olyan enzimről van szó, amely molekuláris oxigén jelenlétében gyorsan és visszafordíthatatlan módon inaktiválódik, emiatt fontos, hogy a *bssA* gén expressziója az oxigén jelenlététől függően szabályozott legyen. Ez a szabályozási szint viszont nem egységes az anaerob toluol-lebontó mikroszervezetek körében, hiszen például az *Azoarcus* sp. CIB és a *Magnetospirillum* sp. TS-6 jelű törzsek esetében oxigén jelenlétében a *bssA* gén átíródása nem figyelhető meg. Jól látható tehát, hogy e kérdéseket törzsspecifikusan kell vizsgálni, és szeretném is vizsgálni a jövőben transzkriptomikai és proteomikai vizsgálatok elvégzésével.

9. Milyen ökológiai jelentősége lehet annak, hogy a biofilmben jelenlévő *Pseudomonas* fajok I.2.C C230 genotípusa megegyezett, azaz lehetséges, hogy ennek a génnek a transzfere plazmidon történik?

A horizontális géntranszfernek bizonyosan nagy szerepe van e gének elterjedésében a BTEX-vegyületekkel szennyezett közegekben. Az általam feltárt teljes genomokban az I.2.C-típusú C230 gének mindig olyan génklaszterekben volt megtalálhatóak, amelyek szomszédságában mobilis genetikai elemek voltak megtalálhatóak, vagy fogták közre teljesen az adott génklasztert. *Pseudomonas* törzsek esetében általános jelenség, hogy az aromás

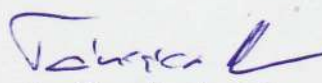
szénhidrogének lebontásához szükséges gének plazmidon kódoltak. Ilyen például a TOL (pWW0) plazmid, amely BTEX-vegyületekkel szennyezett közegekből származó *P. putida* törzsekben általánosan elterjedt. Feltett szándékom, hogy a jövőben *Pseudomonas* törzsek teljes genom szekvenálása segítségével részletesebben vizsgáljam ezt a kérdést. Az azonban már eddigi eredményeimből is látható, hogy a *Pseudomonas* nemzetséghez köthető I.2.C-típusú C23O gének, illetve genotípusok csak a *Pseudomonas* nemzetségen belül fordulnak elő, más nemzetségbeli baktériumtörzs esetében nem figyelhetők meg.

Még egyszer köszönöm bírálóm munkáját, és segítő kritikai megjegyzéseit!

Felhasznált irodalom

- Boden, R., Hutt, L.P., Rae, A.W. (2017) Reclassification of *Thiobacillus aquaesulis* (Wood & Kelly, 1995) as *Annwoodia aquaesulis* gen. nov., comb. nov., transfer of *Thiobacillus* (Beijerinck, 1904) from the *Hydrogenophilales* to the *Nitrosomonadales*, proposal of *Hydrogenophilalia* class. nov. within the 'Proteobacteria', and four new families within the orders *Nitrosomonadales* and *Rhodocyclales*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 67:1191-1205.
- Geesink, P., Tyc, O., Küsel, K., Taubert, M., van de Velde, C., Kumar, S., Garbeva, P. (2018) Growth promotion and inhibition induced by interactions of groundwater bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 94:fiy164.
- Meyer-Cifuentes, I., Gruhl, S., Haange, S.B., Lünsmann, V., Jehmlich, N., von Bergen, M., Heipieper, H.J., Müller, J.A. (2020) Benzylsuccinate synthase is post-transcriptionally regulated in the toluene-degrading denitrifier *Magnetospirillum* sp. strain 15-1. *Microorganisms* 8:681.
- Parks, D.H., Chuvochina, M., Waite, D.W., Rinke, C., Skarszewsko, A., Chaumeil, P.A., Hugenholtz, P. (2018) A standardized bacterial taxonomy based on genome phylogeny substantially revises the tree of life. *Nat. Biotechnol.* 36:996-1004.

Gödöllő, 2022. 08. 22.


Dr. Táncsics András