

# BÍRÁLAT

doktori munkáról

Az értekezést benyújtotta: **Kériné Borsodi Andrea**

Az értekezés címe: **Szélsőséges környezeti paraméterekhez alkalmazkodott extremofil prokarióta közösségek taxonómiai és anyagcsere sokfélesége**

A benyújtott értekezés összefoglalja a Jelölt és kutatócsoportjának eredményeit a bakteriológia egyik gyorsan fejlődő területén, az extrém körülmények között élő közösségek vizsgálatában. Az ismert élővilág túlnyomó része számára elviselhetetlen, de legalábbis rendkívül kedvezőtlen körülményeket kedvelő szervezeteket szokás extremofil élőlényeknek nevezni. A taxonómiai és élettani vonatkozásban valószínűleg legszélesebb diverzitást mutató extremofil közösségeket baktériumok alkotják. Az irántuk megnyilvánuló érdeklődés nem újkeletű, de az utóbbi egy-másfél évtizedben dinamikus növekedésnek indult. Ebbe a tendenciába illik bele az értekezés szerzőjének kutatási tevékenysége. Kialakult körülötte egy műhely, amely hazai vonatkozásban úttörő tevékenységet folytat az extremofil baktériumok kutatásában. Eredményeik nemzetközi vonatkozásban is nagy jelentőségűek, amit jól tükröz a témakörben született 31 angol nyelvű közlemény, melyből 25 a szakterület rangos nemzetközi folyóirataiban került közlésre. A Jelölt 15 esetben volt első szerző és 15 esetben volt utolsó/levelező szerző. Ezekre a munkákra épül az értekezés.

Az értekezés a hagyományos szerkezetet követi. Irodalmi áttekintéssel kezdődik, amelyben a Szerző elhelyezi a munkáját a korszerű bakteriológia világában és részletes áttekintést nyújt az ismert extremofil fajokkal és közösségekkel kapcsolatos ismeretekről. Amennyire meg tudom ítélni (a mikrobiológia más területén dolgozom), idézi, és megfelelő összefüggésekben idézi a szakterület kulcsfontosságú közleményeit és szerzőit.

A következő fejezet a kutatások célkitűzéseit tartalmazza, amelyekből megtudjuk, hogy a Szerző célja az extremofil prokarióta közösségek vizsgálata három hazai és egy dél-amerikai rendkívül extrém élőhely-típusban:

- magyarországi szikes állóvizekben és talajokban,
- hazai mélyfúrású kutak termálvizében,
- hazai barlangokban karsztosodás során kialakuló körülmények között és
- magashegységi sekély sós és olvadék tavakban valamint egy krátertóban az Andokban.

Az Anyag és módszer fejezet vázlatosan összefoglalja az értekezésben bemutatott kutatási projektekben használt mikrobiológiai és molekuláris-biológiai módszereket. Esetenként leírja a módszer elvét, máshol csak felsorolássá egyszerűsödik a bemutatás. Az olvasó a közleményekben találhatja meg a pontosabb kifejtést, vagy helyenként ott is csak irodalmi hivatkozások formájában. Érdekes követni, hogy miként változott a populációk összetételének vizsgálata a kitenyésztéses módszerektől a klónozási módszereken keresztül az ujgenerációs szekvenálási módszerekig. Az utóbbiak hatalmas anyagmennyiséggel (szekvenciával) dolgoznak, de a szekvenciák taxonómiai hovatartozása nem biológiai, hanem statisztikai alapon történik. A 95 %-os nemzetségeken belüli és a 97%-os fajokon belüli szekvencia-azonossági határértékek számos mikroorganizmus-csoportban félrevezetőek lehetnek. Emiatt például az 5.3-17 ábrán bemutatott „16S rRNS gén amplikon-szekvenciák nemzetség szintű megoszlása”-ban a nemzetségek jelentős része csak statisztikai egységnek tekinthető: a

95%-nál nagyobb mértékben hasonló szekvenciák csoportjának. Az értekezésben helyenként olyan hivatkozások szerepelnek, amelyek már túlhaladtak. Például a szekvenciák elemzésénél a mothur program „legfrissebb”, „legutóbbi” változatát használták, de a szerző hivatkozásként egy 14 évvel korábbi (2009-ben megjelent) közleményt ad meg. Mivel ez a programcsomag online használható, a megfelelő linkeket is meg lehetett/kellett volna adni (segítendő az érdeklődő olvasót a tájékozódásban). Hasonló a helyzet „az ARB-SILVA SSU legfrissebb változatának referencia adatbázisával”, amihez egy 2012-es hivatkozás lett csatolva.

Az eredményeket a Szerző a célkitűzéseknek megfelelő felosztásban, négy fejezetbe csoportosítva mutatja be. A bemutatás rendkívül precíz és emiatt helyenként nagyon töménynek is tűnik. Kiemelendő, hogy minden eredményt azonnal nemzetközi összefüggésekbe helyez, idézve a releváns szakirodalmat. A nemzetközi szakirodalmi adatokkal történő összehasonlításnak köszönhetően értékes következtetésekre jut, például a lehetséges metabolikus utak és kölcsönhatások felvázolásánál.

Az értekezésben bemutatott eredmények rendkívül szerteágazók és nagyon sok érdekes populáció-biológiai jelenség és metabolikus folyamat részleteibe adnak értékes betekintést. A legfontosabb eredmények összefoglaló áttekintését tartalmazza a hatodik fejezet. Közülük, egyetértve a szerzővel, én is a következőket tartom a legfontosabbaknak. Kimutatták, hogy

- (1) hasonló metabolikus folyamatokra épülő, de faji összetételükben csak részben hasonló baktériumközösségek jöhetnek létre hasonlóan szélsőséges körülmények között egymástól földrajzilag távoli helyeken,
- (2) viszont lokális fizikai-kémiai különbségek és grádiensek következtében jelentősen eltérő taxonómiai összetételű baktérium-közösségek alakulhatnak ki egyazon élőhelyen belül is,
- (3) különböző anyagcsere-folyamatokkal rendelkező baktériumok egymástól függő és egymással összehangoltan működő hálózatokat hozhatnak létre extrém körülmények között,
- (4) a nagyhatékonyságú DNS-alapú módszerek alkalmazása nagyszámú olyan vonalkód-szekvenciát identifikál a környezeti mintákból, amelyek nem rendelhetők ismert fajokhoz, ami arra utal, hogy a vizsgált extrém körülmények között nagyszámú, még ismeretlen faj él.
- (5) a Szerző kutatócsoportja eddig egy új nemzetséget és 10 új fajt írt le hazai extrém vizes élőhelyek baktérium-közösségeiből.

Az értekezés olvasása során felmerült néhány kérdés:

- (1) Úgy tűnik, hogy a taxonómiai hovatartozás meghatározása szempontjából nem mindegy, hogy milyen adatbázist használunk. Például az 5.1-8 ábra tetején látható szekvencia az INSDC (International Nucleotide Sequence Database Collaboration) adatbázisaiban történő BLAST kereséssel 99%-ot meghaladó azonosságot mutat két *Tebrizicola* faj típus törzsével és csak 97,23% erejéig azonos a *Rhodobacter ovatus* (új néven *Cereibacter ovatus*) típus törzs szekvenciájával. Az ábrán az utóbbi típus törzs a legközelebbi rokon, az előbbi típus törzsek viszont nincsenek is a fán. Lehetséges, hogy az eredmények adatbázis-függőek is lehetnek, vagy csak technikai okokról (pl. eltérő szekvencia-illesztő algoritmusok használatáról) lehet szó?
- (2) Milyen alapon lettek kiválasztva a legközelebbi rokon fajok a törzsfák szerkesztése során? Egy furcsa példa: 5.4-10 ábrán a MH472820 szekvencia (törzs: RS7-3) fajnév nélküli. Az adatbázisban viszont a Szerző a *Daejeonella huanghensis* név alatt jegyezte be. Ez a faj viszont nem is szerepel a bemutatott törzsfán. Azon egy másik faj szerepel a legközelebbi rokonként. A MH472820-val 100%-ban azonos MH667858 (törzs: RS9-

- 3) mellett már a *Daejeonella huanghensis* (szinonim: *Pedobacter huanghensis*) szerepel legközelebbi rokonként az 5.4-9 ábrán.
- (3) A *Nesterenkonia pannonica* fajnév a mai Magyarország területének egy részét képező egykori római tartományra utal. Viszont olyan területen lett felfedezve (a mai Kiskunságban), ami nem tartozott Pannonia provinciához, és a római időkben jazygok lakták. (?*Nesterenkonia jazyga*?, mint pl a fürkész *Neochrysocharis jazyga* Erdős). A Fertő-tóból izolált *Pannonibacter* esetében nem merülhet fel ilyen dilemma.
- (4) A Szerző a 40. oldalon említi, hogy a PCR amplifikációnak és a klónkönyvtárak létrehozásának közösségszerkezeti torzító hatása van. Miként lehet ezt a hatást észlelni?
- (5) A hazai szikes tavakban identifikált baktériumok döntő részét a világ más tájain is megtalálták. A szikes talajok növényinek gyökerein található fajokat úgyszintén. Tekinthető bármelyik vizsgált baktérium-közösség specifikusan hazainak?
- (6) A törzsfák/dendrogramok készítésénél NJ és ML módszereket használtak. Miért kétfélet, és mi alapján dönt el a választás?
- (7) Mit jelentenek a csillagok az 5.4-10 ábrán, a # számok a 5.4-2 ábrán? A felső-indexben hiányzó T azt jelenti, hogy nem típusörzsből származik a szekvencia?

Az értekezésben és a tézisekben összefoglaltak egy nagyívű, igen érdekes eredményekhez vezető kutatási programról tesznek tanúbizonytságot, aminek alapján **javaslom a doktori munka elfogadását és a nyilvános vita kitűzését.**

Debrecen, 2023 június 3.



Sipiczki Máttyás