

kerine.borsodi.andrea_3_22

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

**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

kerine.borsodi.andrea_3_22

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
2.1. Extremofilek és az élet peremfeltételei	6
2.2. Acidofilek, élőhelyeik és taxonómiai diverzitásuk	9
2.3. Alkalofilek és a szikes környezetek mikrobiális diverzitása	10
2.4. Halofilek és az atalasszohalin vizes élőhelyek mikrobiális diverzitása	15
2.5. Termofilek, hipertermofilek és a teresztrikus geotermális környezetek taxonómiai diverzitása	17
2.6. Pszichofilek és a permafroszt mikrobiális diverzitása	19
2.7. Mikroorganizmusok extrém környezeti feltételeket toleráló képessége	21
2.7.1. Xerotoleránsok és a mikroorganizmusok kiszáradással szembeni rezisztenciája.....	21
2.7.2. A baktériumok radioaktív és elektromágneses sugárzással szembeni ellenállóképessége	22
2.8. Poliextremofilek élőhelyei és taxonómiai diverzitása	24
2.8.1. Karsztbarlangok és poliextremofil mikrobaközösségeik.....	24
2.8.2. Az Andok Mars-analóg régiói és poliextremofil mikrobaközösségeik	28
2.9. Az extremofilekkel kapcsolatos mikrobiológiai kutatások jelentősége	31
3. A KUTATÁSOK CÉLKITŰZÉSEI.....	33
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	34
4.1. Mintavétel.....	34
4.2. Mikroszkópos vizsgálatok.....	34
4.3. Tenyésztésen alapuló vizsgálatok	35
4.3.1. Extremofil baktériumok tenyésztése.....	35
4.3.2. Baktériumtörzsek fenotípusos és kemotaxonómiai jellemzése.....	35
4.3.3. Baktériumtörzsek genotípusos jellemzése	35
4.4. Közösségi szénforrás hasznosítás alapú funkcionális diverzitás vizsgálat.....	36
4.5. Közösségi DNS kivonáson alapuló diverzitás elemző eljárások.....	36
4.5.1. Környezeti DNS kivonás	36
4.5.2. DGGE molekuláris ujjlenyomat vizsgálat	36
4.5.3. Molekuláris klónkönyvtár létrehozása.....	36
4.5.4. 16S rRNS gén alapú ampikon-szekvenálás	37
4.6. Taxonómiai identifikáció és bioinformatikai adatelemzés	38
4.7. Statisztikai értékelés	38

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	39
5.1. Magyarországi alkalikus-sós vizes és teresztrikus élőhelyek extremofil baktériumközösségeinek taxonómiai és anyagcsere diverzitása	39
5.1.1. A szélsőséges időjárás hatása természetes és mesterséges alkalikus-sós állóvizek planktonikus baktériumközösségeire.....	39
5.1.2. Kiskunsági szikesekben élő sótűrő növénytársulások talaj baktériumközösségeinek taxonómiai összetétele összefüggésben a szélsőséges időjárási körülményekkel	50
5.1.3. Hazai szikes környezetekből izolált a tudományra nézve új extremofil baktériumfajok polifázikus taxonómiai jellemzése.....	58
5.2. Hazai mélyfúrású kutak termálvizére jellemző extremofil prokarióta közösségek taxonómiai összetétele	68
5.2.1. Termálfürdőket ellátó kutak hévizében és biofilmjében előforduló prokarióta közösségek morfológiai és taxonómiai diverzitása	68
5.2.2. Energetikai célra hasznított dél-alföldi termálkutak hévizének extremofil prokarióta diverzitása.....	75
5.3. Hipogén karsztosodási folyamatokhoz kapcsolódó oligotróf és sugárrezisztens mikrobaközösségek morfológiai és taxonómiai változatossága.....	77
5.3.1. A Budai-termálkarszt központi és déli megcsapolódási területére jellemző termálvizek és biofilmképző baktériumközösségek taxonómiai sokfélesége	77
5.3.2. A Rudas Gyógyfürdő forrásbarlangjában in situ végbemenő biofilm képződés nyomon követése mikroszkópos és új generációs piroszekvenálási módszerekkel.....	95
5.3.3. Egy hazai regionális karsztrendszer forrásfeltörési végpontjain a különböző típusú hipogén barlangi mikrohabitatok baktériumközösségeinek összehasonlítása új generációs ampliton-szekvenálással	100
5.3.4. Hazai hipogén termálkarsztból izolált a tudományra nézve új sugárrezisztens baktériumfajok polifázikus taxonómiai jellemzése	106
5.4. Az Ojos del Salado (Száráz-Andok) vizes élőhelyeinek szélsőséges környezeti feltételeihez alkalmazkodott (poli)extremofil prokarióta közösségek taxonómiai változatossága.....	109
5.4.1. Negatív vízháztartású magashegységi sekély sós tavak halofil és sugárrezisztens baktériumközösségei	109
5.4.2. Egy magashegyi permafroszt olvadéktó pszichofil, oligokarbofil és xerotoleráns baktériumközösségei	116
5.4.3. Az Ojos del Salado aktív vulkáni kráter környezetének acidofil és termofil baktériumközösségei	121
6. A LEGFONTOSABB ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK MEGÁLLAPÍTÁSAI	128
7. KUTATÁSAINK JELENTŐSÉGE, KITEKINTÉS	133
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	135
9. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK.....	137
9.1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények jegyzéke	137
9.1.1. Magyarországi szikes környezetek alkalofil és halofil mikrobaközösségei	137
9.1.2. Hazai termálfürdők és energetikai célú kutak hévizének termofil mikrobaközösségei	138

9.1.3. Hipogén karsztosodási folyamatokban résztvevő poliextremofil mikrobaközösségek	138
9.1.4. A Száraz-Andok (Chile) magashegységi vizes élőhelyeinek poliextremofil prokarióta közösségei.....	139
9.2. Az értekezés témájához kapcsolódó további közlemények jegyzéke	139
10.IRODALOMJEGYZÉK.....	141
11.FÜGGELÉK.....	174
11.1. Függelék táblázatok.....	174
11.2. Függelék ábrák	179

kerine.borsodi.andrea_3_22

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 a Föld minden lehetséges élőhelyét benépesítették. Globális elterjedésüket nagymértékben elősegítette, hogy mikroszkopikus méretüknek köszönhetően számos közeg közvetítésével, rendkívül könnyen és gyorsan, nagy távolságokra képesek eljutni.

A mikroorganizmusok egyedülállóak abban a tekintetben is, hogy a makroorganizmusokhoz képest sokkal változatosabb anyagcsere-képességekkel rendelkeznek. Anyagcsere repertoárjuk a bolygónkon rendelkezésre álló redox-reakciók szinte teljes skáláját felöleli, vagyis termodinamikailag kedvező feltételek esetén csaknem valamennyi redukált vegyületet képesek energiaforrásként hasznosítani. Emellett számos prokarióta nagyfokú anyagcsere rugalmassággal bír, aminek következtében képes a változó környezeti feltételekhez szubsztrát (pl. elektron donor és/vagy akceptor) hasznosításának változtatásával alkalmazkodni.

A mikroorganizmusok bár többnyire egysejtűek, mégis jellemzően komplex mikrobiális közösségekben (pl. biofilmekben) élnek, ahol életképességüket és aktivitásukat az egymással, a környezetükkel és más szervezetekkel kialakuló interakciók sokasága szabályozza. Ezek a különféle intra- és intercelluláris, valamint populációk közötti kölcsönhatások különleges anyagcsere-képességekkel rendelkező mikrobaközösségek kialakulását is eredményezhetik. A heterogén mikrokörnyezetekben kialakuló fizikai-kémiai gradiensek mentén változatos taxonómiai összetételű és funkcionálisan jól tagolt, a környezet hatásaival szemben fokozott toleranciát mutató mikrobaközösségek szerveződhetnek.

Számos mikroorganizmus alkalmazkodott az ember számára megszokott, „normális” körülményektől szélsőségesen eltérő környezeti feltételekhez. Ezek az ún. extremofil szervezetek gyakran egy vagy akár több környezeti paraméter tekintetében is extrém körülmények között találják meg létfeltételeik optimumát.

A prokarióták világára jellemző rendszertani és anyagcsere sokféleség megismerését napjainkban – a korszerű vizsgálati módszerek rohamos léptékű fejlődésének is köszönhetően – a bioszféra egészének működésére ható mikrobiális ökológiai összefüggések keresése hajtja. A mikroorganizmusok környezeti folyamatokban játszott globális szerepe és hatása mára nyilvánvalóvá vált. Vitathatatlan, hogy katalizálják, közvetítik és befolyásolják a Föld egészét érintő környezeti változásokat. A mikroorganizmusok bioszférában betöltött elsődleges szerepét ezáltal az elemek (C, N, S, Fe, etc.) biogeokémiai ciklusainak működtetésében és fenntartásában határozhatjuk meg.

A prokariótáknak ez az ámulatba ejtő taxonómiai és anyagcsere sokfélesége, valamint szélsőséges környezeti paraméterekkel szembeni alkalmazkodóképessége már egyetemi éveim alatt is lenyűgözött. Tanulmányaim befejeztével abban a szerencsés helyzetben volt részem, hogy csatlakozhattam az ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszékének munkaközösségéhez, ahol önálló kutatómunkám kezdetétől a különleges környezeti körülményekhez alkalmazkodott baktériumközösségek szerveződését, taxonómiai összetételét, anyagcsere sajátosságait és ökológiai toleranciaképességeit tanulmányozhattam. Értekezésemben az elmúlt húsz évben az extremofilekkel kapcsolatban megjelent legfontosabb kutatásai eredményeket foglaltam össze.

Az értekezés alapjául szolgáló kutatások sikerei csapatmunkák eredményei, ezt tükrözi a munkámban végig használt többes szám első személyű megfogalmazás.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Extremofilek és az élet peremfeltételei

Az élet a Földön a mainál sokkal zordabb körülmények között alakult ki és fennmaradt, sőt sok esetben ma is virágzik rendkívül mostoha környezeti feltételek között. A kutatók a szélsőséges paraméterekkel jellemezhető környezeteket hosszú időn keresztül „a priori” élettelennek tekintették. Hosszú időbe telt, míg kiderült, hogy a szélsőséges fizikai-kémiai és éghajlati sajátosságokkal rendelkező környezetekben a különböző mikroorganizmusok nagyfokú taxonómiai és anyagcsere változatosságban képesek megélni (Horikoshi 2008). A modern prokarióta világ sokszínűsége a fizikai-kémiai tényezők széles keretei között fordul elő és egyebek mellett olyan megnyilvánulási formái léteznek, melyek alkalmazkodtak az ember számára rendkívüli fizikai (pl. hőmérséklet, nyomás) és geokémiai (pl. szalinitás, pH, oxigénhiány, redox-potenciál) körülményekhez (Madigan and Marris 1997; Pikuta és mtsai 2007; Gupta és mtsai 2014; Coker 2019; Shu and Huang 2022).

Az ókorban a rómaiak voltak azok, akik tetteikben és gondolkodásukban is átlépték a megszokott határokat, és erre ők használták először az *extremus (superl. exter)* kifejezést (Rothschild and Mancinelli 2001). Az extrém szó jelentése magyarul túlzott, rendkívüli, szélsőséges, végletes, vagyis olyas valami, ami az emberi élettel hosszú távon összeegyeztethetetlen. Az extrém kifejezéssel kapcsolatban tehát felmerül a kérdés, hogy vajon hogyan értelmezzük azt az élő szervezetek szempontjából? Nyilvánvalóan antropocentrikus a megközelítés, hiszen az „átlagos” (normális) jelző azokkal a környezeti feltételekkel meghatározható természetes élőhelyekre utal, ahol mi, emberek jól érezzük magunkat. De vajon ugyanez igaz egy extrémofil élőlényre is? A valódi extrémofilek alkalmazkodtak az általunk extrémnek tekintett környezeti feltételekhez, szaporodási optimumuk egy vagy akár több tényező vonatkozásában is szélsőséges értéken vagy tartományban található, így teljes életciklusukat ilyen környezetben képesek leélni. Az extrémofilekre jellemző, hogy 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). Ezeknek a szervezetnek az életműködése szempontjából az extrém környezetek biztosítják az optimális növekedést és szaporodást, tehát számukra ezek tekinthetők „normális” környezeteknek (Rothschild and Mancinelli 2001).

A mikrobiológiában az extrémofil megnevezéssel először R.D. MacElroy „Some comments on the evolution of extremophiles” című összefoglalójában találkozhatunk, mely az 1973 júniusában Nijmegenben (Hollandia) „The First European Workshop on Microbial Adaptation to Extreme Environments” címmel megrendezett konferencia kötetében jelent meg. A szerző azoknak a mikroorganizmusoknak az elkülönítésére javasolta az extrémofil kifejezés használatát, amelyek stabil sejtfelépítésüknek köszönhetően kedvelik az extrém környezeti feltételeket, és ilyen szélsőséges körülmények között szaporodnak (MacElroy 1974). Az első valóban extrémofil baktériumokat Thomas Brock izolálta a Yellowstone Nemzeti Park hévforrásaiból az 1960-as években. Ezeket a magas hőmérsékletre alkalmazkodott szervezeteket termofileknek nevezte (Brock and Freeze 1969).

Extrémofilek az élővilág mindhárom (Bacteria, Archaea, Eukarya) doménjében előfordulnak. Osztályozásuk általában aszerint a rájuk jellemző sajátos környezeti tényező (hőmérséklet, kémhatás, szalinitás, nyomás stb.) szerint történik, ami számukra az optimális növekedéshez és szaporodáshoz szükséges (**2.1-1. táblázat**) (Madigan & Marris 1997; Rampelotto 2013; Gupta és mtsai 2014). Ily módon a szélsőséges hőmérsékletet előnyben részesítő szervezetek közül termofileknek vagy hipertermofileknek nevezzük a magas hőmérsékletet, míg pszichofileknek az alacsony hőmérsékletet kedvelőket. Az extrém lúgos környezetben szaporodó szervezeteket alkalofileknek, a savas környezeteket preferálókat acidofileknek, a nagy sókoncentrációhoz alkalmazkodott szervezeteket

halofileknek, míg a nagy nyomásértékekhez adaptálódott szervezeteket barofileknek (piezofileknek) hívjuk (Kristjánsson & Hreggvidsson 1995; Madigan & Mairs 1997; Rothschild & Mancinelli 2001). 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 extremofil szervezeteket poliextremofileknek nevezzük (Rampelotto 2013; Gupta és mtsai 2014).

2.1-1. táblázat Szélsőséges környezeti tényezőkhöz alkalmazkodott mikroorganizmus csoportok példákkal (Rotschild és Mancinelli 2001; Madigan és mtsai 2021 nyomán)

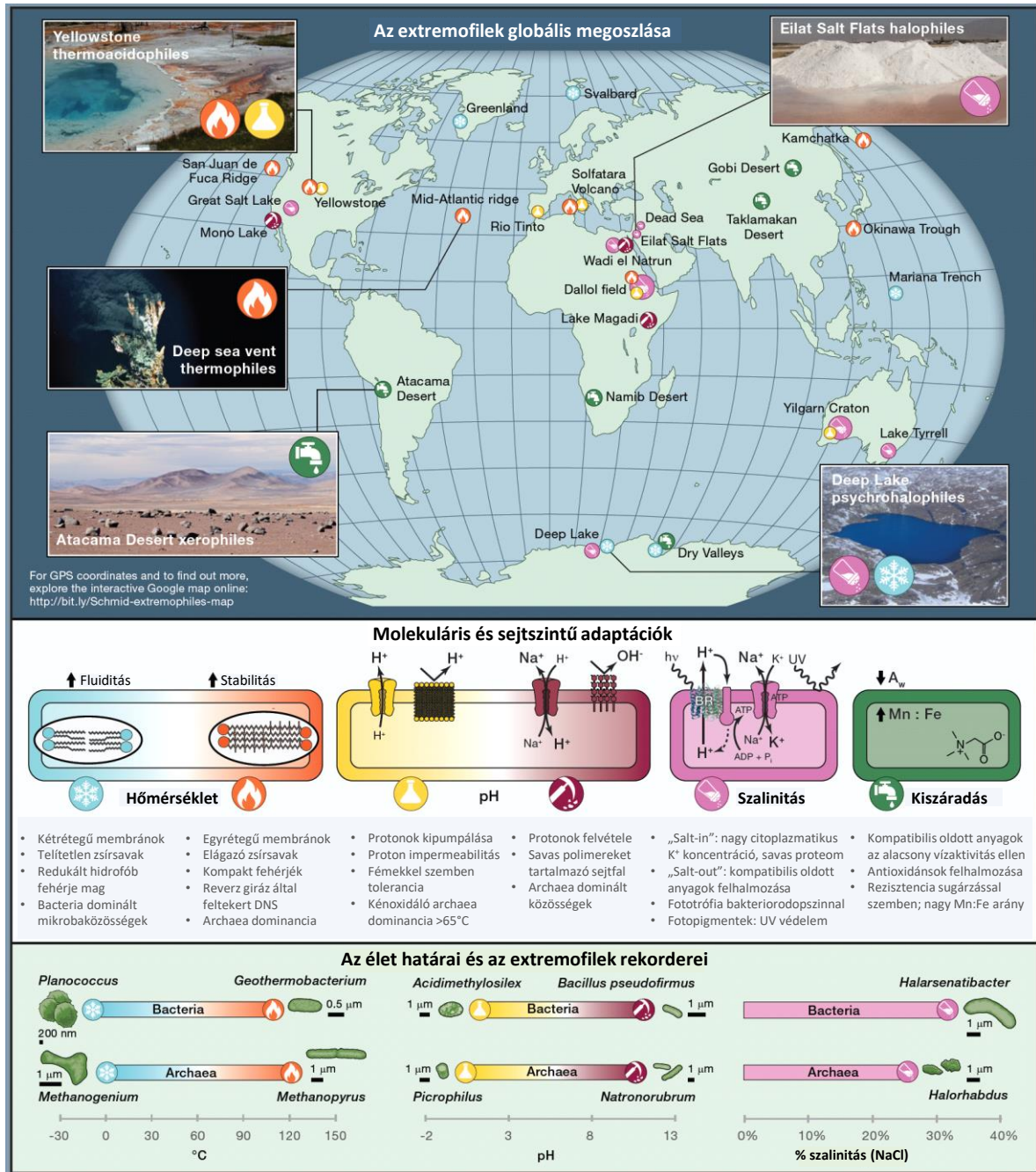
Környezeti tényező	Megnevezés	Növekedési optimum	Mikroorganizmus (Domén)
Hőmérséklet	Hipertermofil	>80 °C	<i>Methanopyrus kandleri</i> (Archaea)
	Termofil	60-80 °C	<i>Synechococcus lividus</i> (Bacteria)
	Pszichrofil	<15 °C	<i>Psychromonas ingrahamii</i> (Bacteria)
Kémhatás (pH)	Acidofil	pH <3	<i>Picrophilus 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 extremofilektől vagyis a szélsőségeket kedvelőktől azonban meg kell különböztetnünk azokat a szervezeteket, amelyek különféle adaptációs mechanizmusok révén elviselik, túlélnek az extrém körülményeket. Utóbbiakat extremotoleránsoknak nevezzük. Ezek túlélő képletek vagy változatos molekuláris mechanizmusok segítségével képesek a kedvezőtlen környezeti feltételeket átvészelni.

Az extremofilek és extremotoleránsok csoportosítása során azonban nem szabad figyelmen kívül hagynunk azt a tényt, hogy a mikroorganizmusok szaporodásához szükséges legtöbb környezeti tényező vonatkozásában a természetben folytonos változás áll fenn (gradiensek alakulnak ki), ezért igény/tűrőképesség szerinti csoportokba sorolásuk nagymértékben önkényes.

A Földön számos olyan különleges élőhelyet találunk, amelyek emberi szemszögből nézve élethetetlenek, de amelyekhez a mikroorganizmusok az élővilág fejlődéstörténete során alkalmazkodni tudtak. Extremofil mikroorganizmusokban bővelkedő élőhelyek (2.1-1. ábra) közé tartoznak pl. a vulkanikus hőforrások, a sarkvidéki tengereket vagy tavakat borító jégpáncélok, a gleccserek, olyan talajok vagy vizes élőhelyek, ahol a $\text{pH} \leq 2$ vagy $\text{pH} \geq 10$, 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 & Mairs 1997; Rothschild & Mancinelli 2001; Harrison és mtsai 2013; Merino és mtsai 2019; Madigan és mtsai 2021; Shu & Huang 2022).

Az extremofilekkel benépesült egyes földi élőhelyek (pl. az ún. Mars-analóg területek) hasonlítanak a más bolygókon jellemző körülményekhez, ezért az extremofilek adaptációs és túlélési mechanizmusainak 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).



2.1-1. ábra Az extremofilek globális megoszlásának, molekuláris és sejtszintű adaptációjának, valamint az élet határainak összefoglalása (Schmid és mtsai 2020 nyomán)

Az extremofilekkel és az extremotoleránsokkal kapcsolatos kutatási eredményekből ma már könyvtárnyi szakirodalom áll a téma iránt érdeklődő olvasók rendelkezésére. Ebből a hatalmas tudásanyagból az Irodalmi áttekintés további alfejezeteiben elsősorban azoknak az ismereteknek az összefoglalására törekedtem, melyek ösztönözték és megalapozták kutatásainkat, illetve segítettek eredményeink értelmezését, összehasonlítási alapul szolgáltak az általánosítható következtetések levonásához.

2.2. Acidofilek, élőhelyeik és taxonómiai diverzitásuk

Napjainkban az acidofilek az extremofilek ökológiailag és gazdaságilag is egyre fontosabb csoportját képviselik. Azokat a mikroorganizmusokat nevezzük acidofileknek, melyeknek pH < 3,0 a növekedési optimuma. Az acidofileknek az alacsony pH értéken való növekedéshez több egységnyi pH-gradienst kell fenntartaniuk a sejtmembránjukon keresztül, miközben ATP-t a protonoknak az ATP-szintázon keresztül a sejtbe történő beáramlásával állítanak elő. pH homeosztázisuk biztosítására az acidofilek korlátozzák a protonok citoplazmamembránon keresztüli bejutását és fokozzák a citoplazmatikus protonokat fogyasztó reakciókat katalizáló enzimek (pl. specifikus hidrogenázok és aminosav dekarboxilázok) expresszióját (Krulwich és mtsai 2011). A genom-szekvenálási eredmények emellett azt mutatják, hogy az alacsony pH-n való növekedéshez történő alkalmazkodásban olyan folyamatok is szerepet játszanak, mint a szerves savak lebontása, a savstabil enzimek szintézise, a specifikus DNS- és fehérjejavító rendszerek működése és valószínűleg a kis genomméret fenntartása (Baker-Austin & Dopson 2007).

Az acidofil mikroorganizmusok extrém savas és gyakran fémekben gazdag élőhelyei kettős eredetűek. Ezek egyike az aktív teresztrikus vulkáni tevékenységhez köthető. A savasság a vulkanikus területeken az elemi kén mikrobiális oxidációjából származik, ami az oxidált és redukált kéntartalmú gázok közötti kondenzációs reakció eredményeként keletkezik. Ezekben a környezetekben a vulkanizmus miatt jellemzőek az éles hőmérsékleti gradiensek, ami különböző hőmérsékleti optimummal rendelkező acidofil mikroorganizmusok megtelepedését teszi lehetővé. Az élőhelyek másik típusa az érc- és szénbányászati tevékenységek során alakul ki. A víz és az oxigén együttes hatásának kitett szulfidos ásványok (pl. pirit) mikrobiális átalakításakor komoly környezeti kockázattal járó savas bányavizek jönnek létre (Johnson 1998; Cayol és mtsai 2015).

A legtöbb extrém savas élőhely csekély mennyiségű (< 20 mg l⁻¹) oldott szerves anyagot tartalmaz, ezért oligotrófnak tekinthető. A fénytől elzárt savas élőhelyeken a szervesanyag-termelés alapja a prokarióták (pl. *Acidithiobacillus* fajok) redukált kén- és vas vegyületek oxidációjához kapcsolódó kemolitotróf autotróf anyagcseréje. A napfény által megvilágított savas felszíni élőhelyeken a fototróf acidofilek is részt vesznek az elsődleges termelésben. Közöttük fonalas és egysejtű eukarióta algákat (pl. *Euglena* spp., *Chlorella* spp., *Chlamydomonas acidophila*, *Ulothrix zonata*, *Klebsormidium fluitans*, *Galdieria sulphuraria*) egyaránt kimutattak már. A legtöbb szélsőségesen savas környezetből viszonylag könnyen lehet izolálni heterotróf baktériumokat. Legnagyobb részük anyagcseréje során a kemolitotróf acidofilekből származó szerves szénvegyületeket hasznosítja. Egyes acidofil heterotrófok azonban szerepet játszanak a vas oxidációs-redukációs folyamataiban is. Ilyen szervezet pl. a kemolitotróf heterotróf *Ferromicrobium acidophilus*, amelyik a vas(II)-oxidációjából származó energiát használja anyagcseréjéhez, vagy az *Acidiphilium* fajok (Alphaproteobacteria), melyek légzésük során a vas(III)-at terminális elektronakceptorként hasznosítják (Johnson 1998). Az obligát heterotróf *Acidithrix ferrooxidans* (Actinobacteria) aerob környezetben a vas(II) oxidációjára, míg anoxikus körülmények között a vas(III) redukációjára is képes (Jones & Barrie Johnson 2015).

Az acidofil mikroorganizmusok mind a természetes, mind az ember által létrehozott környezetben vegyes populációkban fordulnak elő. Jelenlétüket sok esetben inkább anyagcsere-végtermékeik, mint például a savas bányavíz elfolyókban képződő vasban gazdag okkersárga lerakódások jelzik, mintsem a biomassza felhalmozódása. A földalatti pirit bányaterületeken kialakuló, kocsonyás állagú ún. „acid streamers” azonban ennek éppen az ellenkezőjét sugallja. Ezekben a biofilmszerű képződményekben a résztvevő acidofil mikroorganizmusok között a túlélés érdekében változatos és sokoldalú kölcsönhatások (pl. kompetíció, mutualizmus, szinergizmus) kialakulására nyílik lehetőség (Johnson 1998).

2.3. Alkalofilek és a szikes környezetek mikrobiális diverzitása

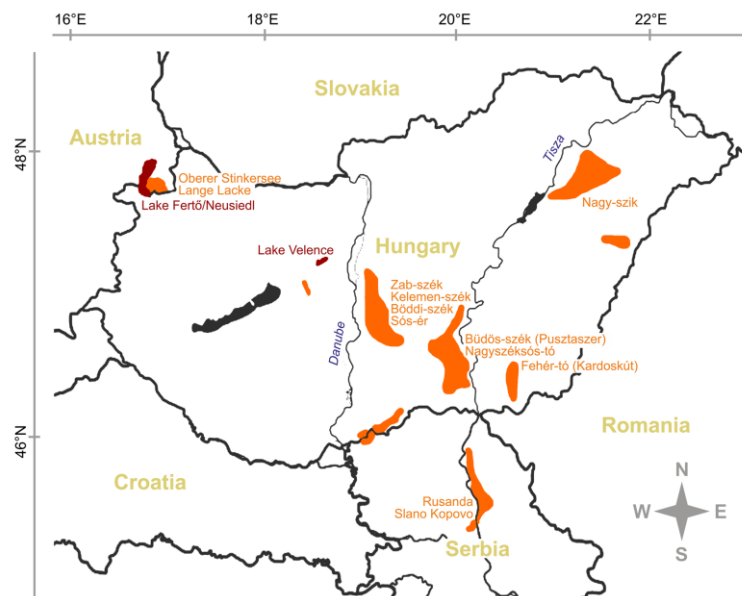
Az alkalofilek az extremofileknek azt csoportját képviselik, amelyek erősen lúgos környezetben, $\text{pH} \geq 9,0$ értéken szaporodnak optimálisan. Ezeket a szervezeteket a növekedésüket biztosító pH tartomány alapján további két csoportba különíthetjük el. Az obligát alkalofilek $\text{pH} < 8,5$ alatt már nem képesek szaporodni, vagyis ez a szaporodási minimum értékük. Ezzel szemben a fakultatív alkalofilek szélesebb, neutrálistól ($\text{pH} 7,0$ -tól) az erősen lúgosig ($\text{pH} \geq 9,0$) terjedő pH tartományban képesek növekedni. Az alkalitoleráns mikroorganizmusok a fakultatív alkalofilekkel megegyező, széles pH tartományban tudnak szaporodni, de optimumuk a neutrális körüli értékeken található (Krulwich & Guffanti 1989; Grant és mtsai 1990; Horikoshi 1999). Némely alkalofilek egyúttal halofilek is (haloalkalofilek); ezek növekedésükhöz a lúgos pH mellett általában jelentős (akár telítetthez közeli) NaCl koncentrációt is igényelnek (Krulwich & Guffanti 1989; Cayol és mtsai 2015).

Az alkalofil baktériumoknak túlélésük érdekében meg kell küzdeniük egy bioenergetikai problémával, ami abból adódik, hogy a citoplazma pH -értékét a növekedéshez szükséges optimális külső pH -értéknél jóval alacsonyabb szinten kell tartaniuk. Az evolúció során az alkalofil baktériumok ebből a célból különböző pH -homeosztázis szabályozó mechanizmusokat fejlesztettek ki (Yumoto 2002; Krulwich és mtsai 2011). A $\text{pH} > 9,0$ értéken növekvő baktériumok az oldott anyagok citoplazmamembránon keresztül történő transzportjához Na^+ -ionok jelenlétét igénylik a környezetükben. *Bacillus* fajokon végzett vizsgálatok kimutatták, hogy kemiozmotikusan kedvezőtlen pH gradiens esetében a H^+ hiányos állapot kivédését, és ezzel a membrántranszportozáshoz és a mozgáshoz szükséges energiát, a Na^+ elektrokémiai gradiensek létrehozásával biztosítják. A Na^+ -függő transzportrendszerekben a H^+ -okat először egy H^+/Na^+ antiport cseréli ki a Na^+ -ionnal. Az így kialakult Na^+ gradiens aztán szimport révén különféle szubsztrátumok felvételét biztosítja a sejtek számára (Yumoto 2002). Emellett pl. a sejtfelszíni fehérjék alacsony pH -ja is hozzájárulhat a protonok megkötéséhez és felszíni megtartásához a sejt környezetének protonszegény körülményei között (Krulwich és mtsai 2011).

Az alkalofilek más extremofilekkel ellentétben ubikvisták, azaz nem csak a lúgos környezetekre jellemzők, hanem előfordulnak semleges körüli kémhatású élőhelyeken is. A természetes környezetek lúgossága (alkalinitása) általában a nagy mennyiségű Na_2CO_3 jelenlétéből adódik. A Földön alapvetően kétféle lúgos környezetet különíthetünk el egymástól sótartalom és összetétel (szalinitás) alapján: a kis Ca^{2+} - és Mg^{2+} -tartalmú, alkalikus-sós vizű szóda (sziksós) tavakat és száraz sivatagokat, valamint a nagy Ca^{2+} -tartalmú, gyengén sós, alkalikus környezeteket (Grant és mtsai 1990). A szóda tavak a világ csaknem mindegyik kontinensén megtalálhatók, de elterjedésük meghatározott földrajzi régiókra korlátozódik. A főként a száraz trópusi és szubtrópusi régiókban található, lefolyástalan és rendszerint sekély vizű szóda tavakban az intenzív napsugárzás és a nagyfokú párolgás miatt a nátriumsók felhalmozódhatnak, a NaCl koncentráció elérheti a 30%-ot (m/V), a karbonát tartalomtól függően a pH 8,0-12,0 között ingadozik.

A legjobban tanulmányozott szóda tavak a kelet-afrikai Nagy-hasadékvölgyhöz köthetők (Kenya, Tanzánia, Uganda, Etiópia területén) és egyben ezek Földünk legstabilabb természetes alkalikus élőhelyei. A hidrogeológiai értelemben fiatalabb és hígabb északi tavak, mint a Bogoria-tó, a Nakuru-tó, illetve az Elmenteita-tó sótartalma kisebb, míg a déli hiperszalin tavakban, mint a Nátron-tó, valamint a Magadi-tó akár telítetthez közeli sókoncentráció is kialakulhat. A Magadi-tó és a Nátron-tó a Nagy-hasadékvölgy legidősebb tavai, melyekben tróna, azaz nátrium-szeszvikarbonát ásványi felhalmozódás is megfigyelhető (Jones & Grant 1999). Szikes tavak találhatóak még a mérsékelt éghajlati övezetben is Észak-Amerikában (USA), Ausztráliában, Ázsiában (Törökországban, Oroszországban, Közép-Ázsiában), sőt Európában (Magyarországon, Ausztriában, Szerbiában) is (Cayol és mtsai 2015).

A kontinentális szikes vizek Európában a keleti területekre jellemzők, melyek legnyugatibb tagjai találhatóak a Kárpát-medencében (2.3-1. ábra). A magyarországi szikes vizek többsége a nagy tavak és a szárazföldek közötti átmeneti jellegű vizes élőhely (wetland). A kárpát-medencei szikes víztereket változatos megjelenési formáik alapján az alábbi víztér-típológiai csoportokba sorolhatjuk: sekély tavak (Fertő, Velencei-tó), kis tavak (ezt a csoportot szokták leggyakrabban „szikes tó”-ként említeni, pl. szegedi Fehér-tó), fertők (Gyevi-fertő), mocsarak (hortobágyi Kunkápolnási-mocsár), kisvizek, szikes pocsolyák (Dévai és mtsai 2001). Hazai szikes tavaink döntő többsége valamelyik nemzeti park területén található, így a természet védelméről szóló 1996. évi LIII. törvény által *ex lege* védettséget élveznek.



2.3-1. ábra A Kárpát-medence szikes tavainak földrajzi elhelyezkedése (Felföldi 2020)
A szikes területeket narancs, a szikes vizes élőhelyeket bordó szín jelöli.

A természetes alkalikus Fertő a Közép-Ázsiától a Kárpát-medencéig húzódó síkvidéki sekély szikes tavak láncolatának a legnyugatibb tagja. A Fertő egészére (315 km²), de különösen hazai területére (75 km²) jellemző a nagymértékű elnádásodás. A tó egész területének 55%-át, a magyarországi résznek 86%-át borítja nádas. A nádas borítottság következtében a Fertőt olyan egységes tórendszernek tekinthetjük, melyben a tó hidraulikai és fizikai-kémiai tulajdonságai alapján a következő szerkezeti alrendszerek különböztethetők meg: nyíltvíz vagy külső víz, nádas és belső tavak. Ez utóbbiak a tómedence valószínűleg olyan mélyebb helyein alakultak ki, ahol a nád mindmáig nem zárult össze, ezáltal nyitott, barna vizű, izolált víztestek maradtak. A sekély (~1,3 m mély) tóban a NaHCO₃ a domináns só, vizének elektromos vezetőképessége 2200 μS cm⁻¹, pH értéke 9,0 körül változik (Takács 1987; Dinka és mtsai 2010; Borics és mtsai 2016).

Hazánk második legnagyobb szikes tavának, a Velencei-tónak a területe 24 km², átlagos mélysége 1,6 m, vizének elektromos vezetőképessége ~3000 μS cm⁻¹. A szélsőséges vízjárású, lápi és szikes jelleget is magán viselő Velencei-tó az 1950-es évek végére elmocsarasodott és vízfelületének 60%-át nád borította. A rekreációt megelőzően a tó egymástól nádassávokkal elzárt belső tisztásai között gyakorlatilag nem volt vízcseré. Az 1960-tól végzett átfogó mederkostrás és nádasirtás következtében a planktonikusan oligotrófnak tartott víz fokozott mértékben eutrofizálódott, vízminősége leromlott. Mindezt tovább súlyosbította az 1980-as 90-es évek fordulóján bekövetkezett száraz, aszályos időszak, ami felerősítette az erőteljes szikesedési folyamatot. A kiszáradásnak indult tavat csak mesterséges vízpótlással lehetett megmenteni. A nádasállományok felszámolásával a belső tisztásokat egymással közlekedővé tették, ami az egyes vízterek közti éles határvonalak megszűnését eredményezte (Ács és mtsai 1994; Reskóné 1999; Borics és mtsai 2016).

A Kárpát-medencében a pleisztocén végén és a holocén elején sajátos éghajlati, geológiai és hidrológiai körülmények között jöttek létre a szikes kis tavak (területük 1-200 ha), melyek rendkívül sekélyek (vízmélységük <1 m) és rendszerint változó (asztatikus) vízforgalommal jellemezhetők. Az évente egyszer, de akár többször is kiszáradó, szeszélyes vízjárású szikes kistavak közé sorolhatók a kiskunsági „székek” (pl. a Böddi-szék, a Kelemen-szék, a Zab-szék), melyek a szél és a folyók medencealakító tevékenysége révén keletkeztek. A tavakat a csapadékvíz mellett a talajvizek táplálják, melyek nagy területről gyűlnek össze, és folyamatos áramlásban vannak a mélyebben fekvő szikes tómedrek irányába. A víztestek víztérfogata nyaranta az erőteljes párolgás miatt jelentősen lecsökken, ugyanakkor sótartalmuk megemelkedik. A párolgás következtében kialakuló szívóhatás ezáltal a mélyebb rétegekből is megindítja a talajvíz feláramlását, ami megnöveli a felszíni sófelhalmozódást. A világ egyéb sós vizeihez képest hazai szikes vizeinkre viszonylag kisebb sótartalom, de igen nagyfokú lúgosság jellemző. Ezek a vizek meglehetősen ingadozó, négy komponensből álló rendszerek, melyekben a Na_2CO_3 , NaHCO_3 , $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ disszociált állapotban és a CaCO_3 oldatlan állapotban tart egyensúlyt (Boros 1999; Boros & Vörös 2010). A vizek sótartalma a szubszalin ($0,5-3,0 \text{ g l}^{-1}$) és a hiperszalin ($> 50 \text{ g l}^{-1}$) között ingadozik, míg a pH 8-10 értékek között változik (Borics és mtsai 2016). A víz színe alapján a szikes tavaknak két fő típusát különíthetjük el egymástól, a „fehér” és a „fekete” vizű szikes kis tavakat. Az előbbieket vize a kolloid mészsóktól állandóan zavaros, a szezonális bepárlódás következtében a kiszáradás során a meder felületén „kivirágzik” a sziksó ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \times 10 \text{ H}_2\text{O}$). A napfény a tejfehér szikesek vizének csak a felső pár centiméteres rétegébe tud behatolni, ezért a fotoszintézisen alapuló primer produkció korlátozott. A szikesek szukcessziós sorában ezek a tavak a legfiatalabb képződmények. A „fekete” vizű tavak fenéig átlátszóak, sárgás-barna színüket oldott humuszanyagok okozzák. Vízükbe a napfény vörös hullámhosszúságú sugarai hatolnak be leginkább, és szolgáltatnak energiaforrást a fotoszintézis számára. Ez a szukcessziós állapot rendszerint a „fehér” vizű szikes tavak feltöltődése során alakul ki (Boros 1999; Boros & Vörös 2010). Az utóbbi időben a szikes vizek osztályozása négy csoportra bővült: a „fehér” helyett a „zavaros” vizű (szürkés-fehér színű) szikesek, a „fekete” helyett a „színes vizű” szikesek megnevezés használatos, továbbá ezek mellett elkülönítik még az átmeneti (zavaros és színes), valamint az átlátszó vizű szikeseket (Boros 2013).

A szikes kis tavakat övező talajokban is tetten érhető a nagy sótartalmú talajvizek hatása, ami az alacsonyabb térszíneken gyakorta sókivirágzáshoz vezet, míg a magasabb peremi részeken padkásodási jelenségek kialakulását eredményezi. A szikes talajok aránya Európában az országok összterületéhez viszonyítva hazánkban a legnagyobb (Szabolcs & Molnár 1980). A Duna-Tisza közén többféle szikes talajtípus (szoloncsák és szolonyec) is előfordul, melyek nemcsak szénsavas meszet tartalmaznak jelentős mennyiségben, hanem időszakosan vagy állandóan szódát is (Szabolcs & Jassó 1959, 1961). A szikes talajok felszíni nátrium sófelhalmozódása az üledékes eredetű, miocén korú plagioklász földpátok mállásából származik, melyek először a mélységi vizekbe oldódnak, majd a törésvonalak mentén a felszínre jutnak (Mádl-Szőnyi és mtsai 2005; Tóth & Szendrei 2006). A Duna-mentét az alpesi eredetű, kalciumban gazdag üledéken a szoloncsák szikes talajok előfordulása jellemzi, melyek nagy össz-sótartalommal és egyöntetű szelvényfelépítéssel jellemezhetők (Tóth & Szendrei 2006). A szikes talajok sajátos tulajdonságai (pl. a talajok vízboritottságának időtartama, a felszínközeli sótartalom mennyisége, a tőrfelszín relatív magassága) és a természetes növényzet között rendkívül szoros kapcsolat figyelhető meg. Eszerint a víztestektől távolodva, alulról felfelé haladva a következő zonációk különíthetők el egymástól: szikfok, vakszik, szikpadka és szikes puszta (Molnár & Borhidi 2003).

A szikes tavak az alkalikus és néha erősen sós környezet ellenére a Föld legproduktívabb vizes élőhelyeinek tekinthetők, a magas hőmérsékletnek, a nagy fényintenzitásnak és a gyakorlatilag korlátlan mennyiségben rendelkezésre álló vízben oldott szén-dioxidnak köszönhetően (Grant és mtsai 1990). A kelet-afrikai Kenya és Etiópia területén található szikes vizekben a szén-ciklus alapját rendszerint a haloalkalofil oxigéntermelő fonalas (pl. *Spirulina*, *Cyanospira*, *Arthrospira*) és egysejtű (pl. *Synechococcus*, *Chroococcus*) cianobaktériumok fotoszintézise képezi (Mwirichia és mtsai 2011;

Sorokin és mtsai 2014; Cayol és mtsai 2015). A szikes tavakra jellemző egysejtű zöldalgák között különböző só toleranciával bíró szervezetek jellemzőek (pl. a kevésbé sótűrő *Ctenocladus*, a mérsékelten sótűrő *Picocystis salinarium* vagy az extrém sótűrő *Dunaliella viridis*) (Sorokin és mtsai 2015). Az anoxikus fototrófokat általában a redukált kénvegyületek oxidálását végző, mérsékelten sótűrő Chromatiaceae (pl. *Thiorhodospira*, *Thiorhodovibrio*) fajok és az erősen sótűrő Ectothiorhodospiraceae (pl. *Halorhodospira*, *Ectothiorhodospira*) fajok képviselik a szikes tavakban, de mellettük az alkalofil heliobaktériumok (pl. *Heliorestis*) is szerephez juthatnak (Mwirichia és mtsai 2011; Sorokin és mtsai 2015). Egyes cianobaktériumok és anoxikus fotoszintetizálók szaporodását nitrogén-fixációs képességük is elősegíti (Cayol és mtsai 2015). Az autotróf anyagcserére képes kemolitotróf baktériumok közül főként a redukált kénvegyületek oxidálását végző, alkalofil Gammaproteobacteria (pl. *Thioalkalimicrobium*, *Thioalkalivibrio*, *Thioalkalispira*) fajok jelenlétéről számoltak be. Emellett kisebb arányban nitrifikáló (pl. *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*), metánoxidáló (pl. *Methylomicrobium*) fajokat is kimutattak szikes tavakból (Sorokin és mtsai 2014, 2015). A nagymértékű primer produkció a szikes tavakban stabil, de változatos összetételű aerob és anaerob alkalofil kemoorganotróf baktériumpopulációkat tart fenn (Grant és mtsai 1990; Sorokin és mtsai 2014, 2015). A biopolimerek (pl. fehérjék, kitin, cellulóz) bontását végző, hidrolitikus enzimeket termelő aerobok között a Firmicutes (*Bacillus*), az Actinobacteria (*Streptomyces*, *Dietzia*, *Nesterenkonia*, *Arthrobacter*) és a Proteobacteria (*Halomonas*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alteromonas*) törzsek sótűrő fajai a legismertebbek (Jones és mtsai 1998; Mwirichia és mtsai 2010). A rendkívül sekély szikes tavakban a szerves anyagok aerob lebontása gyakran oxigénhiányhoz vezet, ami az anaerob kemoorganotróf anyagcserét folytató baktériumok szaporodásának kedvez. Közéjük tartoznak a fermentáló anyagcserét folytató *Clostridium* és *Spirochaeta* fajok. A fermentációs végtermékek oxidálását a gyakorlatilag korlátlanul rendelkezésre álló szulfát redukcióját végző, szulfátlégző Deltaproteobacteria (pl. *Desulfonatronum*, *Desulfonatronovibrio*, *Desulfonatronospira*, *Desulfobalophilus*, *Desulfobulbus*, *Desulfosarcina*) fajok végzik (Mwirichia és mtsai 2011; Sorokin és mtsai 2014, 2015; Cayol és mtsai 2015).

A hazai szikes tavak mikrobiális diverzitásának feltárását célzó kutatásaink a Fertőn kezdődtek. A tavon végzett nádrizóma dekompozíciós vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a nádfelülethez asszociált baktériumközösségek tenyészthető képviselőit a tó fizikai-kémiai tulajdonságaihoz adaptálódott és évszakosan változó faji összetétel jellemzi (Borsodi és mtsai 2005b). A hazai szikes tavak vizének litorális zónájában a gyakran monospecifikus állományokat képező nádnövények (*Phragmites australis* /Cav./ Trin et Steudel) rizómájához kapcsolódó biofilm közösségek vizsgálata során arra mutattunk rá, hogy a tenyészthető aerob és anaerob baktériumközösségek faji összetételében és anyagcsere aktivitásában is jelentős szezonális eltérések figyelhetők meg, különösen az egészséges nádrizómák esetében. Ennek elsődleges okaként a tóvíz, az üledék és a nádas környezetében a fizikai-kémiai tulajdonságok változását jelöltük meg (Micsinai és mtsai 2003; Vladár és mtsai 2008). A Fertőn és a Velencei-tavon jelentkező nádpusztulás háttérben álló mikrobiológiai folyamatok elemzése során arra a következtetésre jutottunk, hogy az egészséges és a pusztuló nádasállományokból származó nádrizómák baktériumközösségeinek fajösszetételében és anyagcsere tulajdonságaiban megnyilvánuló eltérések sokkal inkább következményei, mint előidézői a nádpusztulásnak (Micsinai és mtsai 2003; Vladár és mtsai 2008). A szikes tavak nádszárainak víz alatti felületein képződött biofilmek tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független módszerekkel végzett összehasonlító mikrobiológiai vizsgálatai alapján mind az azonosított taxonok számában, mind azok egymáshoz viszonyított arányában mintavételi területek szerinti eltéréseket mutattunk ki. Ez arra utal, hogy az egyes szikes tavak részben egyedi, sajátos bakteriális közösségi összetétellel jellemezhetők (Rusznay és mtsai 2008b, a).

A hazai szikes tavak vizére és üledékére jellemző tenyészthető aerob baktériumfajok többségét – a tenyésztéshez alkalmazott tápközegek összetételétől függetlenül – főként respiratórikus anyagcseréjű, különféle biopolimerek bontására képes, kedvezőtlen környezeti feltételek esetén endospórát képező, alkalitoleráns vagy alkalofil *Bacillus* fajokként azonosítottuk (Borsodi és mtsai 2003b). Az alföldi szikes

kistavak bakteriális diverzitásvizsgálata különleges anyagsere tulajdonságokkal rendelkező, és részben az egyes tavakra jellemző extremofil baktériumtaxonok jelenlétét igazolta. A tenyésztésbe vont baktériumtörzsek közül a kiskunsági székekből izolált törzsek többségében mérsékelten halofil és alkalofil jelleget, míg a tiszántúli szikesekből származók inkább alkalitoleráns és enyhén halofil jelleget mutattak. A baktériumközösségek összetételében a tenyésztésen alapuló és a tenyésztéstől független DGGE és klónozásos módszerek alkalmazásával sem lehetett szezonális különbségeket kimutatni. Ebből arra következtettünk, hogy az alföldi szikes kistavak a speciális környezeti feltételekhez alkalmazkodott stabil mikrobapopulációkkal rendelkeznek (Borsodi és mtsai 2005a, 2010; Pollák és mtsai 2006).

A hazai szikes tavak vizének planktonikus alga- és baktériumközösségeinek kutatása a 2010-es évektől vett nagyobb lendületet (Felföldi 2020). A kutatási eredmények rávilágítottak arra, hogy a cianobaktériumok között a *Synechococcus* fajok, míg a zöldalgák esetében a *Chloroparva* és a *Choricystis* fajok a dominánsok, melyek jellegzetes szezonális ciklust mutatnak (Felföldi 2020). Eszerint a szikes tavak planktonját télen a pikoeukarióta algák, nyáron pedig a pikocianobaktériumok uralják, amit laboratóriumi körülmények között végzett kísérletekkel is igazoltak (Felföldi és mtsai 2009, 2011; Somogyi és mtsai 2009, 2010). Egy zavaros és egy színes vizű kiskunsági szikes tó vizének metagenomikai elemzése során Szabó és mtsai más szikes tavak baktériumközösségeitől jelentősen eltérő taxonösszetételű planktonikus közösségszerkezetet tártak fel, melyben az Alphaproteobacteria osztály dominanciáját figyelték meg. A metagenomikai elemzés számos, a szélsőséges környezeti feltételekhez való alkalmazkodást elősegítő gén jelenlétét igazolta (Szabó és mtsai 2017). A zavaros és a színes vizű szikesek planktonikus baktériumközössége is szignifikánsan különbözött egymástól, amit a makrofiton eredetű szerves anyagok eltérő mennyiségével hoztak összefüggésbe. Mindkét vizsgált szikes kistó planktonikus közösségszerkezetében kimutatták a szezonális hatását is. Ennek okaként télen az piko- és nanoplanktonikus algák tömegprodukciónak, nyáron a cianobaktérium tömegprodukciónak mellett, a protozoonok és a heterotróf nanoflagelláták erőteljes predációs hatását emelték ki (Szabó és mtsai 2020). A Fertő különböző élőhelyein (nyíltvízben, belső tavakban és nádasban) előforduló heterotróf planktonikus mikrobaközösségek összetételét és aktivitás viszonyait Szuróczki és mtsai (2020) hasonlították össze tenyésztésen alapuló és 16S rRNS gén alapú ampliton-szekvenálási módszerekkel. Kutatásaik eredményeképpen megállapították, hogy az alkalmazott módszertől függetlenül a nádas jelentős hatással volt a planktonikus baktériumközösségek összetételére és aktivitására. Igazolták, hogy a nádas környezetének baktériumközösségei számottevő szénhidrátbontó potenciállal rendelkeznek, aminek hátterében a nádasból származó bomló szerves anyagok nagyobb koncentrációja állhat (Szuróczki és mtsai 2020).

2.4. Halofilek és az atalasszohalin vizes élőhelyek mikrobiális diverzitása

A halofil megnevezést olyan extremofil mikroorganizmusok megkülönböztetésére használjuk, melyek növekedésükhöz sók (általában NaCl) jelenlétét igénylik. A halofilek NaCl igénye kizárólagos, és nem helyettesíthető más sókkal, például kálium-kloriddal (KCl), kalcium-kloriddal (CaCl₂) vagy magnézium-kloriddal (MgCl₂). A sót kedvelő szervezeteket a számukra optimális sókoncentrációk alapján sorolhatjuk az enyhén (opt. 0,2-0,5 M; 1,2-3,0% NaCl koncentrációnál), a mérsékelt (opt. 0,5-2,5 M; 3,0-15,0% NaCl koncentrációnál) vagy az extrém (opt. 2,5-5,2 M; 15,0-30,0% NaCl koncentrációnál) halofilek csoportjaiba (Oren 2008). Az extrém halofilek növekedéséhez legalább 1,5 M (9%-os m/V) NaCl koncentráció szükséges. Különbséget kell tenni azonban a halofilek és azon sótűrő mikroorganizmusok között, melyek akár jelentős (8%-os) sókoncentrációk jelenlétét is elviselik, de só hiányában is képesek szaporodni. Ez utóbbiakat halotoleránsoknak nevezzük. A sóigény/sótolerancia mértéke a különböző baktériumfajokban tág határok között változhat, amire a hőmérséklet is hatással van (Ventosa és mtsai 1998).

A halofilek számára a legnagyobb kihívást az jelenti, hogy ozmotikus egyensúlyt tartsanak fenn a sejtek citoplazma állománya és külső környezetük között. A halofil mikroorganizmusok erre a célra két stratégiát fejlesztettek ki. Az egyik, az ún. „salt in” eljárás, ami szerves ionok (pl. K⁺, Cl⁻) felhalmozását jelenti a sejten belül, és elsősorban az ósbaktériumokra (a metanogének kivételével) és az anaerob baktériumokra (pl. *Halanaerobiales*) jellemző (Ventosa és mtsai 1998). Ez a stratégia az intracelluláris enzimatikus mechanizmusok nagyfokú alkalmazkodását követeli meg, mivel a fehérjéknek telítetthez közeli sókoncentrációban is meg kell tartaniuk megfelelő konformációjukat és aktivitásukat. Az ilyen stratégiát folytató halofil mikroorganizmusoknak a proteomja erősen savas, és a legtöbb fehérjéjük denaturálódik alacsony sókoncentrációknál, ezért általában nem tudnak életben maradni alacsony sótartalmú közegben (Oren 2008). A másik stratégia a sónak a citoplazmából való kizárásán, és olyan szerves, ún. "kompatibilis" oldott anyagok szintézisének és/vagy felhalmozásán alapul, amelyek anélkül biztosítják az ozmotikus egyensúly fenntartását, hogy befolyásolnák a sejt anyagcsere-funkcióit. Ezek a vegyületek lehetnek ikerionos oldott anyagok (pl. a betain, az ektoin, a hidroxiektóin, a β-glutamin), töltéssel nem rendelkező oldott anyagok (pl. szénhidrátok, aminosavak, peptidok) és anionos oldott anyagok. A halofil szervezetek többsége akár egyszerre többféle kompatibilis vegyületet is szintetizálhat. Az utóbbi halofil csoportba tartoznak a fototróf és az aerob kemoheterotróf baktériumok, az élesztők, az algák és a gombák (Ventosa és mtsai 1998). Ebben az esetben a sejtek proteomjának kevés adaptációra van szüksége, és ezáltal a "szerves oldott anyagokat felhalmozó stratégiát" alkalmazó szervezetek gyakran meglepően széles sókoncentráció-tartományhoz képesek alkalmazkodni (Oren 2008).

A nagy kiterjedésű tengeri sós élőhelyekkel szemben a hiperszalin (a tengervíz átlagos sótartalmánál nagyobb sókoncentrációjú) környezetek viszonylag ritkák és főként Földünk száraz trópusi területeire jellemzők, de előfordulnak a mérsékelt éghajlati övezetben, sőt a sarkvidéki régiókban is (Oren 2008). A tengervíz párolgásával létrejövő, ún. talasszohalin tavak visszatükrözik a tengervíz ionösszetételét, illetve annak bepárlódásából következő változásokat, kémhatásuk neutrális vagy enyhén lúgos. A tengervíz töményedésekor, kb. 6%-os sótartalomnál először a karbonát válik ki kalcium-karbonát formájában. Amikor a sókoncentráció meghaladja a 10%-ot a szulfát gipsz (kalcium-szulfát) formájában lerakódásokat képez. A tengervíz sókoncentrációjának körülbelül tízszeresénél (25% felett) a nátrium-klorid halitként kezd kicsapódni és 34%-nál teljes mértékben kicsapódik (Oren 2002). Az atalasszohalin hiperszalin élőhelyek ionösszetétele általában nagymértékben eltér a tengervizétől. Erre kiváló példa a Holt-tenger, ami valójában egy olyan tó, amelyben a kétértékű kationok koncentrációja (körülbelül 1,9 mol Mg²⁺ és 0,4 mol Ca²⁺) meghaladja az egyértékű kationokét (1,6 mol Na⁺ és 0,14 mol K⁺) és viszonylag alacsony (6,0 körüli) pH-val jellemezhető. A nagy Ca²⁺ koncentráció miatt a SO₄²⁻ oldhatósága csekély, emiatt az egyértékű anionok (Cl⁻ és Br⁻) teszik ki az összes anion több, mint 99,9%-

át. Ezzel ellentétben az atalasszohalin hiperszalin szóda tavakban (pl. a Kelet-afrikai-árokrendszerben) a nagy sókoncentrációhoz lúgos pH értékek társulnak (Oren 2002). A Kelet-Afrikát átszelő Nagyhasadékvölgy száraz trópusi övezetben található, ahol a tektonikus tevékenység sekély mélyedések sorozatát hozta létre. Ezek gyakran lefolyástalan, zárt medencék, ahol a talajvíz és a környező hegyvidékről érkező szezonális patakok vize összegyűlik és állóvizeket hoz létre. A felszíni párolgás mértéke meghaladja a beáramló víz mennyiségét, így az oldott ásványi anyagok erősen lúgos, sós vízzé töményednek, amelyben a CO_3^{2-} és a Cl^- a fő anionok, így a pH értéke 8,5 és >12 között változik. Az összes só mennyisége az északi Bogoria, Nakuru, Elmenteita és Sonachi tavak kb. 5%-os sókoncentrációjától a déli Magadi-Natron-medence egyes részeinek telítettségi értékéig terjed. Ezek az élettelen látszólag összegegyeztetetlen, többszörösen szélsőséges környezetek valójában a magas környezeti hőmérséklet, a nagy fényintenzitás és a korlátlan CO_2 ellátás miatt rendkívül produktívak. Az elsődleges termelés mértéke meghaladja a $10 \text{ g C m}^{-2} \text{ nap}^{-1}$ értéket, amivel a világ legproduktívabb vizes élőhelyei közé tartoznak (Jones & Grant 1999).

Egyedülálló atalasszohalin hiperszalin vizes élőhelyek találhatóak a chilei, a bolíviai és az argentinai Közép-Andok zárt medencéiben (pl. a Salar de Atacama területén) is, ahol a központi mélyedéseket sós tavak és sókéreg (ún. „salar”) tölti ki. A sós vizű medencéket gyakran vulkánok (pl. Licancabur, Socompa) határolják. Ezek a magashegységi sós tavak állandó, de általában sekély (néhány dm mély) víztestek, melyeknek vize származhat a salar felszínén feltörő forrásokból, csapadék eredetű (pl. hóolvadákból származó) felszíni vagy felszín alatti diffúz szivárgásokból. A területen található hiperszalin tavak az ionösszetétel alapján a szulfátban ($\text{Na}/\text{SO}_4\text{-Cl}$, alacsony Ca, $\text{pH}<9$) vagy a kalciumban ($\text{Na-Ca}/\text{Cl}$, alacsony SO_4 , $\text{pH}<9$) gazdag sós vizek közé tartoznak (Risacher és mtsai 2003).

Halofil és halotoleráns mikroorganizmusok az élővilág mindhárom doménjében megtalálhatók. Az aerob Halobacteriaceae család (Euryarchaeota) tagjai a halofilek legextrémebb képviselői. Ezek az ősbaktériumok képezik pl. a Holt-tengerben, a hiperszalin szóda tavakban és a tengeri sólepárló medencékben a mikrobiális biomassza legnagyobb részét. A Bacteria doménon belül különböző sókoncentrációhoz adaptálódott baktériumok fordulnak elő pl. a Proteobacteria, a Cyanobacteria, a Spirochaetes, a Bacteroidetes, az Actinobacteria, a Firmicutes törzsekben, bár meg kell jegyezni, hogy ezek inkább mérsékelt, semmint extrém halofileknek tekinthetők. Az eukarióta mikroorganizmusok körében az ubikvista előfordulású *Dunaliella* zöldalga kivételével ritka a halofil jelleg (Ventosa és mtsai 1998). A természetben előforduló halofilek anyagcsere változatossága éppoly nagy, mint filogenetikai sokféleségük. Az alacsony sókoncentráción lejáró mikrobiális folyamatok többsége jelentős sótartalomig, gyakran akár a NaCl telíttségéig is megfigyelhető. Energetikai szempontból azok az anyagcsere-folyamatok működnek hatékonyan a legnagyobb sókoncentrációk mellett is, amelyek esetében i) nincs energiaforrás limitáció (pl. anoxikus és oxigéntermelő fotoszintézis), ii) jelentős energiatermelési hatékonysággal járnak (pl. kemoorganotróf aerob légzés, denitrifikáció, szulfát-redukció) és ezáltal a kompatibilis oldott anyagok szintézise nem meríti ki a növekedéshez szükséges energiát, iii) a közeg sótartalmának kiegyenlítésére KCl-ot használnak, ha a disszimilatórius folyamat (pl. fermentáció) során keletkező energia mennyisége csekély (Oren 2002).

2.5. Termofilek, hipertermofilek és a terresztrikus geotermális környezetek taxonómiai diverzitása

A magas hőmérsékletre alkalmazkodott extrémofil mikroorganizmusokat a számukra optimális értékek alapján termofileknek (opt. >60 °C) vagy hipertermofileknek (opt. > 80 °C) nevezzük (Rothschild & Mancinelli 2001). A hőmérsékleti szélsőségek, különösen a 100 °C-ot közelítő vagy meghaladó értékek nagy kihívást jelentenek az extrémofilek számára életműködésük fenntartása szempontjából. A termofil és hipertermofil mikroorganizmusok hőmérsékleti adaptációs mechanizmusa elsősorban a fehérjék, a nukleinsavak és a membránok stabilitásának és működésének a fenntartására irányul. A termofil fehérjék aminosav összetétele általában alig különbözik a mezofilekétől, de egyedi tulajdonságaik (pl. a fehérje kitekeredését megakadályozó erősen hidrofób központi régió, a fehérje felszíni hurkok méretének a csökkentése és a felszíni ionos kölcsönhatások nagy száma) biztosítják termostabilitásukat. A hipertermofilek DNS-ének stabilizálásához hozzájárul a depurinálódást megakadályozó kompatibilis oldott anyagok (pl. di-mio-inozitol-1,1-foszfát, ciklikus-2,3-biszfoszfoglicerát vagy diglicerin-foszfát), a pozitív szuperhelikális szerkezetet létrehozó reverz giráz enzim és/vagy a denaturációs hőmérsékletet emelő, a kétszálú DNS-t stabilizáló hiszton-szerű proteinek szintézise. A magas hőmérsékleten élő termofil baktériumokban a mezofilekhez képest nő a membrán zsírsavak hossza és telítettsége, valamint a metil-oldalláncok aránya. A hipertermofil archaeák membránlipidjei pedig kizárólag kovalens kötések tartalmazzák, egyrétegű bifitanil-tetraéterekből állnak (Reysenbach 2002).

A Földön mindenütt megtalálhatók geotermikus élőhelyek, a kontinenseken csakúgy, mint az óceánok mélyén és feltehetően kiterjednek a földkéreg számunkra rejtett mélységeibe is. Hőforrások az egész világon fellelhetők, de különösen nagy számban fordulnak elő az USA nyugati részén, Új-Zélandon, Izlandon, Japánban, Olaszországban, Indonéziában, Közép-Amerikában és Közép-Afrikában. A világ legtöbb (>14 000 40-92 °C-os) hőforrása a Yellowstone Nemzeti Parkban (Wyoming, USA) található. A szárazföldi geotermikus ökoszisztémák általában vulkáni tevékenységhez kapcsolódnak. A kőzetrepedéseken keresztül a mélybe szivárgó és felmelegedő fluidumok a felszín alatti áramlás során különböző ásványi anyagokkal és gázokkal dúsulhatnak, majd a nyomás hatására gyakran hőforrások vagy gejzírek formájában törnek a felszínre. A hőforrások vizének összetétele ezért függ az alapkőzet típusától, a hőmérséklettől és a vulkáni tevékenység jellegétől. Ahol erőteljes a vulkáni aktivitás és a magmakamra 2-5 km mélyen található, a víz hőmérséklete 150-350 °C közötti értéket is elérhet. A mélységi víz ilyen helyeken gőz formájában tör fel, és vulkáni gázokban (főként N₂ és CO₂, de H₂, H₂S, CH₄, CO, NH₃ is) gazdag fumarolákat hoz létre. Ezek a források általában savas kémhatásúak a kénhidrogén (H₂S) elemi kénné, majd kénsavvá oxidálódása miatt (Reysenbach 2002; Cayol és mtsai 2015).

Magyarország geotermikus adottságai a világátlagot mintegy másfélszeresen meghaladó, felszín felé áramló nagy hőfluxusnak és a jó vízáradó képződmények jelenlétének köszönhetően kivételesek (Szanyi & Kovács 2010; Szanyi és mtsai 2021). Az előbbi abból adódik, hogy a Pannon-medencében a középső miocénben történt megnyílás során a húzóerők hatására a földkéreg (22-30 km) és a litoszféra (50-80 km) is sokkal vékonyabb lett, mint általában a kontinensek alatt, emiatt hazánkban a geotermikus gradiens értéke átlagosan 5 °C 100 m⁻¹. Emellett az 1 km-nél mélyebb fúrásokban mért átlagos hőáramértékek is magasabbak (90 mW m⁻²), mint Európa nagy részén (60 mW m⁻²). A felszín alatti hőmérsékletet jelentősen befolyásolják a felszín alatti vízáramlások, a negyedidőszaki és neogén porózus vízáradókban főként a felső 1–1,5 km-es mélységben. A geotermikus gradiens miatt 1 km mélységben átlagosan 60 °C, 2 km mélységben pedig 110 °C a kőzetekben és a porusaikban tárolt víz hőmérséklete. A jó vízvezető képződmények legnagyobb mélysége elérheti a 2,5 km-t is, ahol a hőmérséklet már 130-150 °C is lehet. A gőzfeltörések ugyanakkor ritkák, mivel a hévíz kutakban felfelé haladó víz lehűlése miatt a felszíni hőmérséklete ritkán haladja meg a 100 °C-t (Szanyi és mtsai 2021).

A rétegvizek egyik típusát a felszínhez közeli, gravitáció útján összegyűlő vizek képezik, míg a másik típusba a pleisztocén-kori, túlnyomás útján létrejövő, mély felszín alatti vizek tartoznak. A termálvizek kitermelése az elmúlt évtizedekben jelentős mértékben megnőtt, hazánkban jelenleg már csaknem 1000 termálkút (35 °C feletti vizet szolgáltató kút) található, főleg Északkelet-Magyarországon (Egerszalók, Tura), az Alföld délkeleti részén (Szentés, Hódmezővásárhely, Szeged, Szarvas), valamint Nyugat-Magyarországon (Zalakaros, Hévíz, Bősárkány, Kapuvár) és Budapesten. A működő termálkutak közül 220 vizét balneológiai célokra használják, további 200 kút a lakossági vízellátásban tölt be szerepet, és megközelítőleg 200 kút vizét, melyeknek fele 70 °C feletti hőmérsékletű, a növénytermesztésben vagy az állattenyésztésben hasznosítják fűtési célokra (Szanyi & Kovács 2010).

Általános megfigyelés, hogy a prokarióta közösségeket az archaeák csak a 90 °C-nál magasabb hőmérsékletű élőhelyeken dominálják, míg a legtöbb 50 °C és 90 °C közötti hőmérsékletű hidrotermális környezetben a baktériumok vannak túlsúlyban. A legmagasabb (103-110 °C) hőmérsékleti optimummal rendelkező Archaea szervezetek a *Pyrobaculum* és a *Pyrodictium* (Crenarchaeota), illetve a *Pyrococcus* és a *Methanopyrus* (Euryarchaeota) nemzetségek tagjai, míg a Bacteria domén esetében a *Thermotoga maritima* (Thermotogae) és az *Aquifex pyrophilus* (Aquificae) mutatja a legmagasabb (90 °C és 95 °C) optimális növekedési hőmérsékletet (Gupta és mtsai 2014). A felszínre bukkanó forrásponthoz közeli hőmérsékletű hévforrásokból változatos taxonómiai összetételű és anyagcseréjű hipertermofil ősbaktériumok (pl. Methanococcales, Thermoplasmatales, Thermoproteales, Sulfolobales) előfordulásáról számoltak be. A baktériumok 16S rRNS gén alapú filogenetikai fájának a gyökerénél elhelyezkedő Aquificales, Desulfurobacteriales és Thermodesulfobacteria taxonómiai csoportokba tartozó termofil és hipertermofil fajokat szintén kimutatták terasztrikus hőforrásokból. A természetes hőforrások feltörési pontjától távolodva, a termálvíz fokozatos lehűlésével kialakuló hőmérsékleti gradiens mentén különböző hőmérsékleti tartományban növekedni képes és változatos taxonómiai csoportokba (pl. Deinococcus-Thermus, Proteobacteria, Firmicutes) tartozó termofil baktériumfajok telepedhetnek meg. Közülük a fotoszintetizálók (pl. cianobaktériumok, zöld- és bíbor kénbaktériumok) általában max. 70-75 °C hőmérsékleti értékig életképesek (Cayol és mtsai 2015).

A hidrotermális rendszerek többsége mélyen a felszín alatt található, ahol az élet napfény hiányában a geokémiai energiaforrások által biztosított oxidációs-redukciós reakciókon alapul. A termofilek és hipertermofilek egy része ezért obligát kemolito-autotróf, melyek energia- és szénforrásként egyaránt szervesetlen vegyületeket hasznosítanak. Közülük kiemelkednek azok, amelyek hidrogén felhasználásán alapuló anyagcserét folytatnak. A hidrogén ezekben a környezetekben részben a magmás gázok alkotóelemeként van jelen, részben a víz magas hőmérsékleten történő geokémiai reakciójának a termékeként keletkezik. A termofilek és hipertermofilek között előfordulnak obligát kemoheterotrófok is, melyek polipeptidek és/vagy szénhidrátok komplex keverékét értékesítik energia- és szénforrásként. A tenyésztésbe vont termofilek és hipertermofilek többsége energetikai anyagcseréjében a kén redox-rendszer interspecifikus elektronátvitelét használja ki. Az anaerobok általában a szulfátot, a szulfidot, a tioszulfátot vagy az elemi ként redukálják szulfiddá, míg az aerobok a szulfidot vagy az elemi ként oxidálják szulfáttá (Amend & Shock 2001; Reysenbach 2002).

2.6. Pszichrofilek és a permafroszt mikrobiális diverzitása

Pszichrofileknek nevezzük azokat az alacsony hőmérsékleti értékekhez adaptálódott extremofileket, melyeknek növekedési és szaporodási optima $\leq 15\text{ }^{\circ}\text{C}$, maximuma $< 20\text{ }^{\circ}\text{C}$. A pszichrofilektől megkülönböztetjük a pszichrotoleránsokat (pszichrotrófokat), amelyek akár $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on is képesek növekedni, de optimum hőmérsékletük $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti tartományba esik (Cayol és mtsai 2015). Alacsony hőmérsékleten a baktériumok életfolyamatait gátolhatja a membránok fluiditásának csökkenése, az enzimreakciók sebességének mérséklődése, a nukleinsavak és a fehérjék nem megfelelő térszerkezete, ami lelassíthatja a transzkripció és a transláció sebességét. Emellett fagypont alatti hőmérsékleten számolni kell az intracelluláris jégkristályok képződésével is, ami megfelelő védekező mechanizmus hiányában a sejtek pusztulásához vezethet (Rothschild & Mancinelli 2001; Cayol és mtsai 2015). Az alacsony hőmérsékleten történő növekedés felülszabályozott funkciói ezért a sejteket határoló képleteket (pl. a sejtfa, a sejtmembrán bioszintézisét, a membránfluiditás fenntartását), az anyagcsere-folyamatokat (pl. specifikus metabolikus útvonalakat, tápanyagfelvételt, az energetikai anyagcserét), a sejt védelmét (pl. krioprotektív vegyületek termelését és felvételét, antioxidáns aktivitást), a fehérjeszintézist és hajtogatást (pl. a transzkripciót, a translációt, az RNS helikázokat, a chaperonokat; a hidegsokk, a hidegakklimációs és a hősokkfehérjéket) célozzák. Az alulszabályozott gének a csillómozgással, a külső membrán fehérjékkel (pl. kemotaxissal), valamint a reaktív oxigéngyököket termelő útvonalakkal kapcsolatosak (Margesin & Collins 2019).

A Föld szárazföldi felszínének hatalmas területét (kb. egynegyedét) örökfagy (permafroszt) borítja. A permafroszt olyan litoszféra terület (talaj, üledék vagy kőzet), amely tartósan $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékletű és legalább két egymást követő évben fagyott állapotban marad. A permafroszt felett elhelyezkedő ún. aktív réteg szezonális fagyási-olvasási ciklusoknak van kitéve. Az aktív réteg a nyári hőmérséklettől, az olvasási időszak hosszától, a talaj összetételétől, a talaj nedvességtartalmától, a hótakaró vastagságától, valamint a növénytakaró sűrűségétől függően néhány cm-től akár 3-6 m mélységig is terjedhet. Permafrosztos területek magas szélességi köröknél (pl. az Antarktiszon, Szibériában, Észak-Amerikában) és magas hegységekben (pl. az Alpokban, az Andokban és a Himalájában) fordulnak elő. Hegyvidéki környezetben további tényezők is hatással vannak a permafroszt/aktív réteg előfordulására, ilyen például a tengerszint feletti magasság, a lejtők kitettsége és a napsugárzás, a domborzati viszonyok és a sajátos légáramlás, ami bizonyos domborzati formák esetén elősegíti a hideg tartós fennmaradását. A nagy tengerszint feletti magasságban lévő permafrosztot a sarkvidékihez képest nagyobb térbeli változékonyság, magasabb átlaghőmérséklet és kismértékben a növényzet hatása jellemzi. A legsekélyebb aktív réteg az egyenlítői zóna legmagasabb hegységeiben pl. az Andokban található. Ez abból adódik, hogy ebben a régióban gyakorlatilag nincsenek évszakok és a napsugárzás intenzitása sem változik sokat. Az 5000-5500 m tengerszint feletti magasságban fekvő területeken az aktív réteg vastagsága mindössze 2-3 cm, és az árnyékos helyeken, ahol az örökfagy a talaj felszínétől kezdődik, nem is alakul ki aktív réteg. Az elmúlt évtizedekben a globális klímaváltozás hatására azonban sok helyen megnövekedett az aktív réteg vastagsága, ami az alatta lévő permafroszt csökkenését eredményezte (Dobinski 2011; Jansson & Taş 2014; Margesin & Collins 2019).

A permafroszt talajok általában 20-70% jeget és 1-7% fagyott vizet tartalmaznak, alacsony vízártalvánnyal (0,8-0,85). A mikrobiális életet korlátozó további környezeti tényezők közé sorolhatók az oligotróf körülmények, az állandó sötétség és a háttérsugárzás. A hegyvidéki permafroszt rendkívül nehéz megközelíthetősége miatt a permafrosztra irányuló mikrobiológiai kutatások hosszú éveken át főként a sarkvidékekre összpontosultak (Margesin & Collins 2019). Ezen kutatások eredményei alapján megállapították, hogy a permafroszt mikrobiális diverzitása elmaradt a felszíni aktív rétegtől. A baktériumok sokfélesége a permafrosztban általában nagyobb volt, mint az archaeáké vagy a gombáké. A sarkvidéki permafrosztból származó mintákból a tenyésztéstől független, 16S rRNS-gén alapú vizsgálatokkal azonosított taxonok közé a Proteobacteria, a Firmicutes, a Chloroflexi, az Acidobacteria,

az Actinobacteria és a Bacteroidetes törzsek, valamint számos nem ismert vagy új törzs képviselői tartoztak. Tenyésztéssel főként a Firmicutes, az Actinobacteria, a Bacteroidetes és a Proteobacteria törzsekbe sorolt baktériumfajok képviselői kerültek elő. A permafrosztból kimutatott archaeák közé az Euryarchaeota, a Crenarchaeota és a Thaumarchaeota törzsek szekvenciái tartoztak (Jansson & Taş 2014; Margesin & Collins 2019).

A Tibeti-magasföld teszi ki a Föld nagy tengerszint feletti magasságban található, vagyis nem sarkvidéki permafroszt területének mintegy háromnegyedét. Az innen származó permafroszt mintákból szintén az Actinobacteria, a Firmicutes, a Proteobacteria és a Bacteroidetes törzsekbe tartozó baktérium izolátumokat azonosítottak. A főként aerob oligotróf és halotoleráns fajok reprezentánsai közül számos rendelkezett alacsony hőmérsékleten aktív (pl. proteáz, celluláz, amiláz, lipáz, β -mannanáz, β -xilanáz) enzimaktivitással (Hu és mtsai 2015). A Tibeti-magasföldről származó permafroszt talajminták Illumina MiSeq szekvenálással kapott eredményei arra utaltak, hogy az aktív rétegben a mikrobaközösségek (Bacteria, Archaea és Fungi) béta-diverzitását elsődlegesen a talaj termékenysége (szerves szén- és nitrogén tartalma) határozta meg. Ezzel szemben a permafroszt mikrobiális béta-diverzitásának alakulásában a környezeti tényezők (pl. az átlagos éves csapadékmennyiség) játszották a fő szerepet. A feltárt mikrobiális alfa-diverzitás az aktív rétegben szignifikánsan nagyobb volt, mint a permafrosztban. A domináns baktériumtörzsek mindkét mintatípusban a Proteobacteria, az Actinobacteria, az Acidobacteria és a Chloroflexi voltak, emellett a Verrucomicrobia, a Planctomycetes, a Bacteroidetes, a Nitrospirae, a Gemmatimonadetes, a Firmicutes és a Crenarchaeota fordultak elő kisebb relatív abundanciával minden mintában. A gomba közösségeket az Ascomycota és a Basidiomycota törzsek dominálták, mások (pl. Chytridiomycota, Glomeromycota, és Zygomycota) csak kis arányban voltak jelen (Chen és mtsai 2017). Egy másik, szintén a Tibeti-magasföld permafroszt talajain Illumina MiSeq szekvenálással végzett kutatás arról számolt be, hogy a vizsgált talajokban az Acidobacteria, a Proteobacteria és a Bacteroidetes törzsekbe tartozó taxonok voltak a leggyakoribbak. Közülük a talaj mélységgel az Acidobacteria, a Nitrospirae és a Gemmatimonadetes szignifikáns pozitív, míg a Proteobacteria negatív korrelációt mutatott. Az aktív réteg vastagsága és az Armatimonadetes taxonok között pozitív, míg a Bacteroidetes taxonok esetében negatív korrelációt figyeltek meg. Végül arra a következtetésre jutottak, hogy a baktériumközösségek általános szerkezetét elsősorban a pH, a talaj szerves széntartalma és az átlagos éves csapadékmennyiség befolyásolta, és a közösségszerkezetnek nem volt szignifikáns összefüggése az aktív réteg vastagságával (Wu és mtsai 2017).

Ami a permafroszt mikrobaközösségek metabolikus potenciálját illeti, kimutattak olyan géneket, amelyeknek szerepük van a szerves szénvegyületek lebontásában, a metanogenezisben, a metán oxidációjában, a denitrifikációban, a nitrogén-fixációban, az ammónia-asszimilációban és a szulfát-redukcióban. Az aktív réteggel összehasonlítva a permafroszt kisebb arányban tartalmazta a transzporter fehérjék és a szénvegyületek degradációjában szerepet játszó enzimek, míg nagyobb arányban a hideg-sokk és más stresszválasz fehérjék génjeit (Jansson & Taş 2014; Altshuler és mtsai 2017).

2.7. Mikroorganizmusok extrém környezeti feltételeket toleráló képessége

2.7.1. Xerotoleránsok és a mikroorganizmusok kiszáradással szembeni rezisztenciája

A víz minden élő szervezet, így a mikroorganizmusok számára is nélkülözhetetlen, egyebek mellett a sejtek szerkezetének fenntartásához, az enzim-szubsztrát kölcsönhatások kialakításához, valamint a fehérjék térszerkezetének és stabilitásának biztosításához. A xerikus hatásnak való kitettség, amit okozhat a vízhiány vagy a környezet nagyfokú oldott anyag koncentrációja (hipertónia), nagymértékben gátolja a baktériumsejtek életben maradását és működését. A legtöbb baktériumsejt növekedéséhez és szaporodásához legalább 0,91 vízakaktivitási értéket (a_w) igényel, de számos extrém környezetben előforduló mikroorganizmus jóval e határérték alatti vízakaktivitási szintekkel is megbirkózik. A prokarióták közül a rekorderek közé azok a haloarchaeák tartoznak, melyek 0,635 a_w értéknél is képesek osztódni. Ezek felveszik a versenyt az eukarióta rekorder *Xeromyces bisporus* (0,637 a_w) és *Aspergillus penicillioides* (0,585 a_w) gombafajok vízakaktivitási értékeivel. Hagyományosan azokat a szervezeteket, amelyek alacsony vízakaktivitású körülmények között is képesek túlélni, xerofileknek nevezzük (a görög „xēros” száraz és „philos” kedvelő szavak alkotta szóösszetétel alapján). Elméleti számítások alapján a túlélési határ baktériumokra, archeákra és eukariótákra vonatkozóan is $\sim 0,61 a_w$, ami arra utal, hogy a vízakaktivitás tekintetében az élet mindhárom doménjére ugyanazok a fizikai-kémiai korlátok vonatkoznak. Meg kell jegyezni ugyanakkor, hogy obligát xerofilek valójában nem léteznek, mivel az extrém környezetben életképes szervezetek is jóval magasabb vízakaktivitási értéket kívánnak optimális élettani és biokémiai aktivitásukhoz. Ily módon a xerotoleráns kifejezés sokkal megfelelőbb azoknak a szervezeteknek a megkülönböztetésére, amelyek növekedéséhez ugyan nem szükséges az alacsony vízakaktivitás, de képesek azt elviselni (Lebre és mtsai 2017).

A xerikus stresszel szemben a baktériumok több különböző, de egymással összefüggő élettani és molekuláris mechanizmust alkalmaznak. Ezek egy része olyan univerzális válaszreakciónak tekinthető, mint például a kompatibilis oldott anyagok (pl. a prolin és a trehalóz) bioszintézise és sejten belüli felhalmozása vagy a reaktív oxigéngyökökkel szembeni védelem (pl. a szuperoxid-dizmutáz enzim expressziója). Léteznek ugyanakkor specifikus adaptációs mechanizmusok is, mint a sejtmembrán foszfolipid kettősréteg összetételének módosítása (pl. a negatív töltésű foszfatidil-glicerinnel és a kardiolipin arányának növelése az ikerionos foszfatidil-etanolamin rovására) vagy a telített és telítetlen zsírsavak arányának megváltoztatása (pl. a transz- és cisz-mono-telítetlen zsírsavak arányának növelése, valamint a monoén zsírsavak ciklopropán-zsírsavakká történő fokozott átalakítása) a szerkezeti integritás megőrzése és a működés folytonos fenntartása céljából. Alacsony vízakaktivitás mellett a pigment termelés képessége például az oxidatív károsodással szemben nyújt védelmet, a sejtben és azon kívül felhalmozódó reaktív oxigéngyökök ártalmatlanítása révén. A baktériumokban számos abiotikus stresszre, többek között a vízhiányra adott általános válasznak tekinthető a reverzibilis nyugalmi állapot kialakulása. Ilyenkor a sejtek csökkent vagy inert anyagcsere-aktivitási állapotba kerülnek, majd a kedvező feltételek helyreállásakor újraindítják normál anyagcseréjüket. A sivatagi talajokban előforduló *Bacillus* és *Clostridium* nemzetségbe tartozó baktériumfajoknál ez a nyugalmi állapot a rendkívül ellenálló endospórák differenciálódását jelenti. Az endospórákról kimutatták, hogy hosszú ideig túlélnek számos biotikus és abiotikus extrémumot, beleértve az UV-sugárzást, a kiszáradást, a nagy nyomást, a magas és alacsony hőmérsékletet és a kémiai behatásokat. Bár az endospórák xerikus stresszel szembeni ellenállóképességének konkrét molekuláris mechanizmusa még mindig nem ismert teljesen, a kiszáradás-tűrést nagyrészt a spórafalban található dipikolinsav jelenlétének és a spóra-protoplasztban felhalmozódó α -típusú és/vagy β -típusú savban oldódó kis fehérjéknek (SASP) tulajdonítják, amelyekről azt feltételezik, hogy fizikailag és kémiaiilag védik a DNS-t az oxidatív károsodástól. A specifikus adaptációs mechanizmusok közös jellemzője, hogy a baktériumsejtektől jelentős energiaráfordítást igényelnek. Szabályozásuk ezért egy szélesebb körű megelőző stratégia részét képezi, ami a

„quorum sensing” mechanizmuson keresztüli részleges kiszáradás észlelésén alapul, mielőtt a vízakaktivitás elérné a sejtek biológiai aktivitását gátló alacsony szintet (Lebre és mtsai 2017).

A xerotoleráns szervezetek számára természetes életteret kínáló poláris és trópusi sivatagok jelenleg a Föld teresztrikus felszínének kb. 10%-át teszik ki, de az előrejelzések szerint ezek kiterjedése a globális klímaváltozás és az emberi tevékenység okozta elsivatagosodási folyamatok következtében jelentősen növekedni fog. A xerotoleráns mikroorganizmusok azonban nem korlátozódnak kizárólag a sivatagi talajokra; túlélhetnek hiperszalin vízi környezetekben is, ahol a nagy sókoncentráció korlátozza a víz elérhetőségét (Lebre és mtsai 2017).

Különböző talajok mikrobiális közösségeinek metagenomikai összehasonlítása arra világított rá, hogy a filogenetikai és a funkcionális változatosság a forró és a hideg égövi sivatagokban a legkisebb. A sivatagi talajokból a világ minden táján jellemzően ubikvista törzsek (Acidobacteria, Actinobacteria és Bacteroidetes) jelenlétéről számoltak be (Cary és mtsai 2010). A hiper-arid dél-amerikai Atacama-sivatag és az Antarktisz területén található McMurdo Dry Valleys sivatagok különböző tenyésztéstől független módszerekkel végzett diverzitás vizsgálatai a hagyományos tenyésztésen alapuló módszerekkel nem kimutatható xerotoleráns és mezofil baktériumok meglepő diverzitását és metabolikus potenciálját tárták fel (Connon és mtsai 2007; Chan és mtsai 2013). Az Atacama-sivatag hiper-arid talajain végzett piroszekvenálási eredmények az Actinobacteria törzs Frankiales, Micrococcales, Acidimicrobiales, Propionibacteriales és Pseudonocardiales rendjeibe sorolt számos új filotípus nagy változatosságát tanúsította (Bull és mtsai 2018). Az antarktisi Dry Valley talajokon folytatott tenyésztéses vizsgálatok is az Actinobacteria törzsbe tartozó *Arthrobacter* spp., *Brevibacterium* spp. és *Corynebacterium* spp. fajok domináns előfordulását igazolták. E baktériumok nagyrésze olyan specializált élőhelyeken (pl. a sziklás felszín hasadékaiban, pórusaiban és repedéseiben) fordult elő, ami menedéket nyújtott számukra az abiotikus stresszorokkal szemben, miközben a harmat és a köd megkötésével létrejött hidratált környezet lehetővé tette a fotoautotróf és a heterotróf mikrobiális aktivitást is (Cary és mtsai 2010).

2.7.2. A baktériumok radioaktív és elektromágneses sugárzással szembeni ellenállóképessége

Sugárrezisztenseknek azokat az extremofileket nevezzük, melyek nagy sugárdózis elviselésére képesek. A különböző típusú elektromágneses sugárzások, köztük az UV- és a gammasugárzás folyamatosan éri a Föld felszínét. Az UV-sugárzás döntően a Napból érkezik, mint 100-400 nm hullámhosszúságú és 3-124 eV közötti energiájú elektromágneses sugárzás. A szintén ionizáló gammasugárzás főként a nagy energiájú radioizotópok (pl. ^{40}K , ^{238}U és ^{230}Th) bomlása során képződik, de nukleáris reakciók és kozmikus sugárzás részeként is keletkezik (Gabani & Singh 2013). A természetes környezetekben (pl. barlangokban, bányákban, föld alatti üregrendszerekben, termálforrásokban) mérhető sugárzás legnagyobb része az urán bomlási sorába tartozó 222-es radon jelenlétére vezethető vissza. Radioaktív termálforrások találhatóak például Ausztriában Bad Gasteinben a Központi-Alpokban (Weidler és mtsai 2007), Japánban a Misasa régióban (Asker és mtsai 2007) és Ausztráliában a paralánai törésvonal mentén (Anitori és mtsai 2002). Hazánkban radon terápiát alkalmazó gyógyhatású termálvizek közé tartoznak például a Budai-termálkarszt forrásai és a Hévízi-tó (Szerbin 1996; Nagy és mtsai 2008).

A radioaktív termálforrások tenyésztéstől független módszerekkel végzett mikrobiológiai kutatásai már törzs (phylum) szinten is változatos közösség szerkezetet tártak fel. Az ausztráliai paralánai törésvonal menti hévforrások klónkönyvtár elemzése során a Cyanobacteria, a Proteobacteria (β és δ szubdivízió), a Cytophaga–Flexibacter–Bacteroides csoport, a Firmicutes, a Nitrospira, a zöld nem-kén és zöld kénbaktériumok, valamint az OP8 és az OP12 leszármazási vonalakkal rokon szekvenciák jelenlétét mutatták ki (Anitori és mtsai 2002). Az ausztriai Bad Gastein forrásvízének és kőzetfelszíni

mikrobaközösségének klónkönyvtár elemzésével mezofil Crenarchaeota, valamint Proteobacteria (α , β , γ és δ), Bacteroidetes és Planctomycetes törzsekbe tartozó filotípusok jelenlétéről számoltak be (Weidler és mtsai 2007). A szekvenciák között ionizáló sugárzásnak ellenálló ismert baktériumokat egyik esetben sem azonosítottak. A japán Misasa régióban található radioaktív forrásokból a minták UV besugárzását követően azonban több mint 100 karotinoid pigmentet termelő, sugárrezisztens baktériumot izoláltak, melyeket a Flavobacteria, a Sphingobacteria, az α -Proteobacteria, a γ -Proteobacteria, a Deinococci, az Actinobacteria és a Bacilli osztályok képviselőiként határoztak meg (Asker és mtsai 2007). Közülük több UV és gammasugárzásnak ellenálló törzset a *Deinococcus* nemzetség új (*D. misasensis*, *D. roseus*, *D. aquiradiocola*, *D. depolymerans*) fajaiként írtak le (Asker és mtsai 2008, 2009, 2011).

Az első extrém sugárrezisztens baktériumot Anderson és munkatársai izolálták 1956-ban egy 4000 Gy gammasugárzással kezelt darálthús konzervből. Ez a dózis kb. 250-szer nagyobb, mint amit az *E. coli* elpusztítására általában alkalmaznak. Morfológiai hasonlósága alapján az izolátumot *Micrococcus radiodurans* fajként írták le, majd később *Deinococcus* nemzetség néven (a görög "deinos" furcsa vagy szokatlan jelző alapján) a Deinococcus-Thermus törzsbe sorolták át. A *Deinococcus* nemzetség képviselői mellett a sugárrezisztenciáról ismert *Rubrobacter* nemzetség (Actinobacteria) egyes termofil fajtái, pl. a portugáliai Alcafache hévforrásból izolált *R. xylanophilus* és *R. radiotolerans* 5 500 Gy és 11 000 Gy tizedelési dózissal jellemezhetőek (Cox & Battista 2005). A Csendes-óceán Guaymas-medencéjében található mélytengeri hidrotermális kürtőről származó mintából kitenyésztett és *Thermococcus gammatolerans* néven leírt, anaerob kemoorganotróf anyagcserét folytató, hipertermofil (opt. 88 °C) archaea képes ellenállni 30 kGy gammasugárzásnak (Jolivet és mtsai 2003).

Az élő szervezetek döntő többségében az ionizáló (azaz a gamma-, röntgen- és különösen az UV) sugárzásnak való túlzott expozíció számos mutagén és citotoxikus DNS-eltávolítást idézhet elő. A sugárzásnak ellenálló mikroorganizmusok azonban változatos molekuláris mechanizmusokat (pl. pigmenttermelést, endospóra képzést, ellenálló sejtfalat, sajátos genom szerkezetet és DNS-hibajavító mechanizmusokat, redox-enzimrendszereket, az intracelluláris ionok arányának megváltoztatását) fejlesztettek ki a sugárzás káros hatásainak leküzdésére, valamint a radioizotópok jelenlétében való túlélésre. A sugárrezisztens baktériumok és archaeák összehasonlítása több közös stratégiát tárt fel. Ezek közé tartozik például a reaktív oxigéngyök előállításának mérséklése vagy a szabad gyökök eltávolítása, továbbá a DNS kettősszál-törés hatékony javítása. Más stratégiákat azonban csak néhány fajban mutattak ki. Számos sugárrezisztens baktérium alacsony vas és magas mangán koncentrációt tart fenn az OH⁻ termelésének megakadályozására és a reaktív szuperoxidok peroxidokká redukálására. A *Deinococcus radiodurans* és a halofil *Halobacterium* spp. fehérjéinek oxidációval szembeni védelme kritikus szerepet játszik a sejt sérülések javításának képességében. Több sugárrezisztens baktérium és archaea termel pigmentet. Számos a besugárzás utáni sejtregeneráció során indukálódó és a sugárrezisztenciában részt vevő gén csak egy adott törzsrre specifikus. A *D. radiodurans* a DNS kettősszál-törés javítását DNS-szintézis-függő egyszálal annelációval kombinálja, amit a hipertermofil *Pyrococcus abyssi* archaeában is megfigyeltek (Confalonieri & Sommer 2011).

2.8. Poliextremofilek élőhelyei és taxonómiai diverzitása

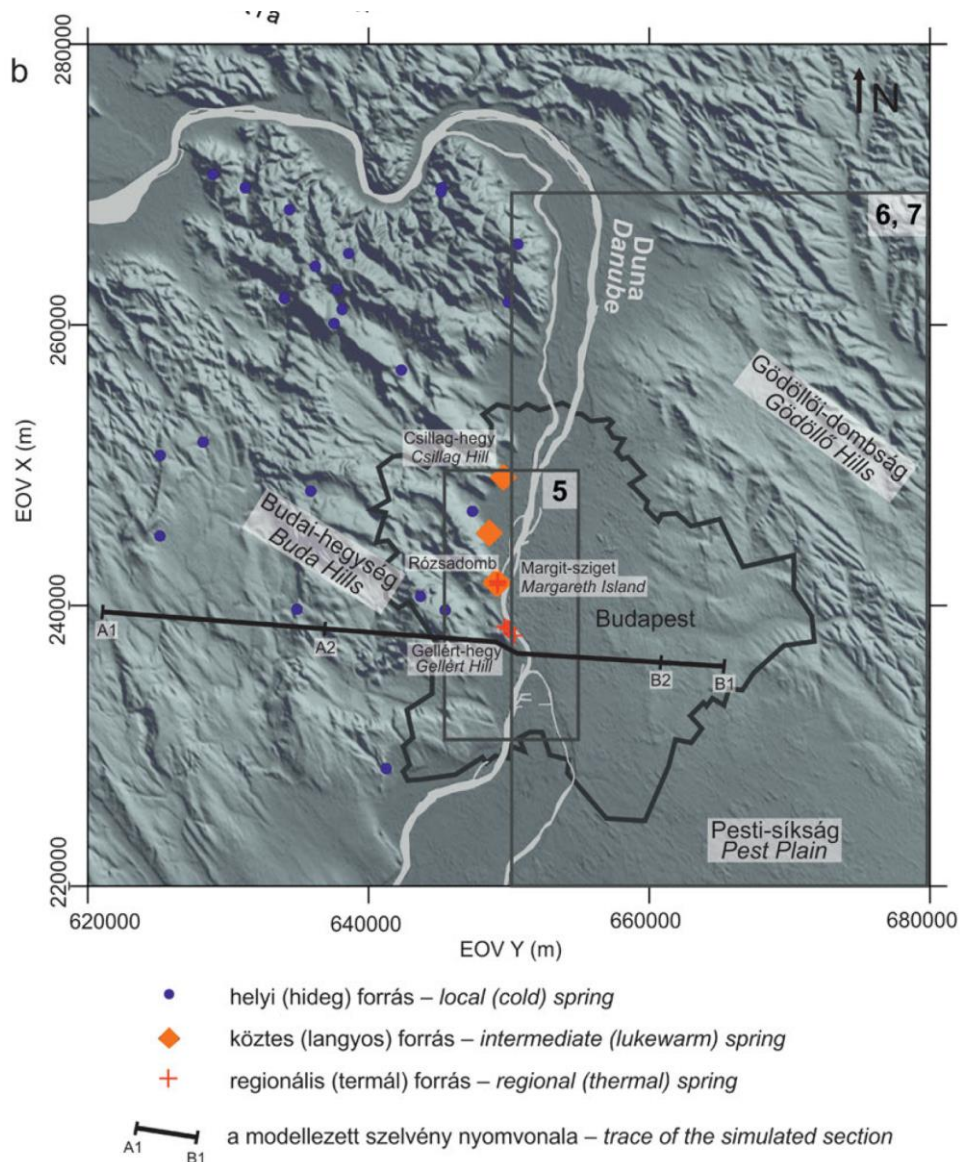
2.8.1. Karsztkarlagok és poliextremofil mikrobaközösségeik

A Föld szilárd kérgében természetes úton létrejött, ember által járható méretű üregeket barlangoknak nevezzük, melyeket leggyakrabban a határoló kőzet típusa és kialakulásuk módja szerint osztályoznak. A legtöbb ismert barlang mészkőben vagy más karbonátos kőzetben keletkezett, ún. posztgenetikus barlang, mely a kőzet képződése után különböző barlangképző hatásokra (pl. tektonikus mozgások, a víz korróziója és/vagy eróziója következtében) alakult ki. Az ún. szüngenetikus barlangok, a kőzetképződéssel egyidősek. Általánosságban a barlangok kialakulásának három fő típusát különböztetik el egymástól. A tipikus mészkőbarlangok (pl. a Mamut-barlang Kentuckyban és az Altamira-barlang Spanyolországban) úgy keletkeztek, hogy a felszíni talajrétegen átszivárgó csapadékvíz először a széndioxid elnyelésével híg szénsavas oldattá alakult. Amikor ez a savas víz elérte a talajvízszintet, a mészkővel érintkezve egyre több kalcium-karbonátot oldott fel. A kialakuló barlangi üregben a beszivárgó vízből a szén-dioxid a barlang levegőjébe gázosodott, ami lehetővé tette a karbonátos barlangi képződmények, például sztalaktitok és sztalagmitok kialakulását. Mészkőben kialakuló kénsavas barlangképződést ott figyelhetünk meg, ahol a mélyből a kénhidrogén a tektonikus repedések mentén az oxigéndús felszín közeli zónába áramlik, majd kénsav képződik belőle, ami feloldja a mészkövet. Kénsavas barlang pl. az Új-Mexikóban található Carlsbad-barlang és a Lechuguilla-barlang, valamint a romániai Movile-barlang. A lávacső barlangokat, pl. a hawaii Kilauea vulkánon a lávafolyam alakította ki azért, hogy a láva felszíne gyorsabban lehűlt és megszilárdult, mint a belsejében áramló láva, ami a vulkánkitörés megszűnése után üres, csőszerű járatot hagyott maga után (Northup & Lavoie 2001; Engel 2011).

A Föld felszínének kb. 10%-án található karsztos kőzetekben a felszín alatti vizek közvetlen megnyilvánulásaként változatos karsztjelenségek (pl. barlangok, források, ásványkiválások) alakultak ki és bizonyos esetekben még napjainkban is fejlődnek. Kontinentális területeken a karsztrendszerekben sekély, fedetlen, uralkodóan epigén és mélyen fekvő, fedett és dominánsan hipogén eredetű karbonátos víztartó rendszereket és barlangokat különböztetnek meg egymástól. Ez a szétválasztás azonban nem mindig egyértelmű, ugyanis többfázisú barlangképződés során a kezdetben hipogén folyamatok tektonikus aktivitás vagy éghajlatváltozás hatására epigénné válhatnak. Az epigén barlangok a felszíni eredetű (csapadékvízből és a talajból származó) szén-dioxid oldó hatása mellett elsősorban lokális vízáramlási rendszerekhez kapcsolódnak, melyek viszonylag rövid felszín alatti tartózkodást követően megcsapolódnak, karsztforrásaik alacsony hőmérsékletűek és csekély oldott anyag tartalommal bírnak. A hipogén karsztrendszerek ezzel szemben intermedier és regionális áramlási rendszerekhez és mélységi eredetű gázok (CO_2 , H_2S , CH_4) előfordulásához köthetők. A hipogén körülmények között képződő savak általában a felszíntől függetlenül, redukzív körülmények között keletkeznek, ami a süllyedő medencék üledékes kőzeteinek diageneziséhez, szénhidrogének (kerogének) éréséhez, magmás vagy metamorf folyamatokhoz kapcsolódik. A hipogén karsztosodás ezért rendszerint többféle geokémiai folyamat (a retrográd kalcit oldódás, a keveredési korrózió, a vertikális áramlások által gerjesztett oldódás és a mélységi eredetű H_2S és CO_2 hatására bekövetkező oldódás) eredőjeként valósul meg (Goldscheider és mtsai 2010; Klimchouk és mtsai 2012; Mádl-Szőnyi 2019).

Magyarországon a nyílt karsztkarlagok kiterjedése az ország területének 1,45%-a (kb. 1350 km²), aminek 80-90%-a mészkőkarszt. A Pilis (É), a Duna (K), a Budaörsi-medence (D) és a Zsámbéki-medence (NY) által határolt Budai-hegység (365 km²) felszíni kőzeteinek 53,5%-át felső triász korú földolomit, 30%-át felső triász korú dachsteini mészkő, 11,3%-át eocén nummulinás mészkő és 5,2%-át negyedidőszaki édesvízi mészkő teszi ki (Jakucs 1994). Legjellemzőbb térkitöltő ásványa a kalcit (CaCO_3), amit a barit (BaSO_4), a fluorit (CaF_2), a pirit (FeS_2), a markazit (FeS_2), a cinnabarit (HgS) és egyéb szulfidásványok (szfalerit, ZnS ; metacinnabarit, HgS ; galenit, PbS) követnek (Leél-Össy 2017).

A Budai-termálkarszt (BTK) a Budai-hegység részeként egy sziliciklasztos üledékekkel borított karbonátos medence határán kifejlődött hipogén (vagy más néven hidrotermás) karsztrendszernek tekinthető. A BTK rejtő magában fővárosunk több évszázada ismert és használt gyógy- és termásvíz kincsét, valamint a régóta ismert és az utóbbi évszázadban felfedezett karsztbarlangokat. Hazánkban a barlangok „ex lege” természetvédelmi területek, melyekről a 1961. évi 18. sz., 13/1998. (V.6) KTM és a 22/2005. (VIII.31) KvVM rendeletek szólnak. A BTK esetében a kőzetek repedéseit kitöltő hidrotermás fluidumok környezetüknél anomálishan magasabb hőmérsékletéért a miocén idején felnyíló Pannon-medence jelentősen kivékonyodott kérgéhez köthető megemelkedett hőfluxus a felelős (Virág 2012). A hidrogeológiai kutatások alapján a BTK területén három természetes forrásfeltörési helyet különítettek el egymástól (Alföldi és mtsai 1968; Eröss és mtsai 2012; Déri-Takács és mtsai 2015; Mádl-Szőnyi és mtsai 2018). Az északi területeken (Csillag-hegy) csak langyos vizek, a központi területen (József-hegy vagy Rózsadomb) langyos és termásvizek, míg a déli területen (Gellért-hegy) csak termásvizek jutnak a felszínre (2.8-1. ábra). A központi rendszerhez tartoznak a Rózsadomb előterében található forrásfakadások, a Lukács kutak, a margitszigeti és az észak-pesti kutak, míg a déli rendszerhez a Gellért-hegy előterében lévő forrásfakadások, a Gellért, a Rudas és a Rác fürdők kútjai, valamint a dél-budai és a pesti kutak.



2.8-1. ábra A Budai-termálkarszt területe a különböző hőmérsékletű forrásvizek feltörési pontjaival (Mádl-Szőnyi és mtsai 2018)

A BTK egyike azon kevés, jelenleg is aktív hipogén karszterületnek, ahol a fluidumok, dinamikájuk és hatásaik együtt vizsgálhatók. Területén a központi és a déli rendszerekben található kutakban és a forrásokon keresztül a felszínre jutó termálvizek kémiai összetételükben és radionuklid tartalmukban is jelentősen különböznek egymástól. A központi rendszerben két keveredési szélsőtag, egy meteorikus és egy hidrotermális összetevő jelenlétét mutatták ki, nagyobb Na^+ és Cl^- , de kisebb SO_4^{2-} tartalommal. A déli rendszerben ezzel szemben nem találtak számottevő különbséget a források kémiai összetételében és hőmérsékletében, vizük Ca^{2+} és Mg^{2+} , valamint SO_4^{2-} koncentrációja nagyobb volt a központi rendszeréhez képest (Eröss és mtsai 2012). Végősoron a BTK-t egy részben fedetlen Ny-i és egy fedett K-i félmedence egymással szoros kölcsönhatásban lévő aszimmetrikus áramlási rendszerével jellemezték. Megállapították, hogy a BTK Ny-i egységében a terület források csoportjai elkülönülnek fakadási szintjük, kloridtartalmuk, hozamuk és hőmérsékletük alapján. Igazolták, hogy a K-i fedett félmedencében a NaCl-os medencekomponens a domborzat által vezérelt áramlások révén szintén hozzájárul a hidrotermális fluidumokhoz (Mádl-Szőnyi és mtsai 2017, 2018).

Az utóbbi évtizedekben a hipogén karsztrendszerek a geomikrobiológiai kutatások fókuszába kerültek. A mélyen fekvő barlangok az élőlények számára extrém környezetnek minősülnek, és gyakran nagymértékben erőforrás-korlátozottak (oligotróf környezetek), mivel bennük a fény hiánya miatt a fotoautotróf szervesanyag-termelés nem lehetséges. A környezet fizikai paraméterei ugyanakkor általában mérsékeltek, kiszámíthatók és nagyrészt állandók (a barlangi hőmérséklet általában megegyezik a régióra jellemző átlagos évi középhőmérsékleti értékkel vagy ahhoz közeli, és magas a relatív páratartalom) (Northup & Lavoie 2001).

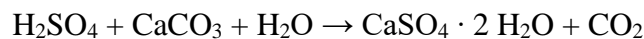
A természetes (vagyis humán behatásoktól mentes) hipogén karsztos barlangok extremofil mikroorganizmusai számos, általában redox-határreteg mentén kialakuló mikrohabitat benépesítésére képesek. A növekedést korlátozó tényezők leküzdése érdekében a barlangi mikroorganizmusok legtöbbször különféle felületekhez kapcsolódó biofilmekbe szerveződnek, ahol közösségi hálózatokban együttműködve, változatos és szabályozott interspecifikus kölcsönhatások eredményeként képesek életben maradni, sőt egymás túlélését is elősegíteni. A hipogén karsztos környezetekben a bevonatot alkotó mikrobaközösségek változatos megjelenési formát mutathatnak, képezhetnek vastag szöveteket („microbial mats”) vagy vékony, néhány 10 μm vastagságú nyálkás hárttyát a barlangok falán vagy akár a barlangokban lévő vízfelületeken (Engel 2011).

Fénytől elzárt barlangi környezetekben az elsődleges szervesanyag-termelés alapját a kemolitotróf autotrófok anyagcseréje képezi. A kemoszintetizáló prokarióták energia- és szénforrásként pl. az anyaközet, a felszín alatti víz és/vagy a barlangi levegő ásványi anyagait hasznosítják. A mikroorganizmusok másik része a barlangokba a külső környezetből bejutó (allochton) vagy az ott képződő (autochton) szerves anyagokat értékesíti. Emellett számos barlangi mikrobacsoport mixotróf anyagcserére is képes. A kooperáció révén kialakuló mikrobiális közösségek metabolikus aktivitásuk révén közvetve vagy közvetlenül is hozzájárulhatnak a barlangképződési folyamatokhoz (geológiai képződmények pl. a hegyi tej és vermikulációs lerakódások ásványainak kicsapódásához vagy a karbonátos kőzetek oldódásához). A barlangokban a különböző kicsapódási folyamatok eredményeként karbonátos barlangi üledékek, szilikátok, vas- és mangán-oxidok válhatnak ki, melynek során a mikrobacejték általában nukleációs helyekként viselkednek (vagyis részvételük passzív). A mikrobiálisan befolyásolt korrózió vagy az ásványi felületek oldódása olyan átalakulás, amelyben a baktériumok által termelt exoenzimek kiválasztása vagy szerves és ásványi savak (pl. kénsav) termelése révén megy végbe a karbonátos kőzetek oldódása. A barlangi oldódási folyamatok szempontjából különösen érdekesek a kén-, a vas- és a mangán-oxidáló baktériumok részvételével lejátszódó reakciók (Northup & Lavoie 2001; Jones és mtsai 2008; Engel 2011).

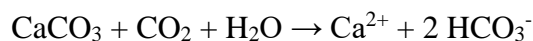
A hipogén karsztosodási folyamatok egyik legbehatóbban tanulmányozott mikrobiológiai folyamata a kénoxidáló baktériumok közreműködésével zajló ún. kénsavas barlangképződés, melynek

nyomai a barlangok mintegy 5-10%-ában megfigyelhetők (Engel 2007; D'Angeli és mtsai 2019b). Kénoxidáló baktériumok jelenlétét (pl. a *Sulfuricurvum*, a *Beggiatoa*, a *Thiothrix*, a *Thiobacillus* nemzetségek képviselőit) ez idáig már számos barlangból (pl. az USA-beli Lower Kane-barlangból; a romániai Movile-barlangból, az olaszországi Frasassi-barlangból) kimutatták (Engel 2000; Macalady és mtsai 2006, 2007; Chen és mtsai 2009).

A redukált kénvegyületek bakteriális oxidációja általában több lépésben zajlik, melynek során köztiterméként elemi kén képződhet, amit egyes baktériumok sejteikben energiaforrásként elraktározhatnak. Az elektrononorként kénhidrogént hasznosító baktériumok anyagcseréjük végtermékeként a szulfát mellett protont halmoznak fel környezetükben, ami annak savasodásához vezet. A legtöbb színtelen kénoxidáló baktérium (pl. az *Acidithiobacillus* spp.) ezért acidofil (szaporodásának optimuma pH <3). A legtöbb kénoxidáló baktérium aerob szervezet, de egyesek fakultatív anaerob anyagcserére is képesek (pl. a *Thiobacillus denitrificans* disszimilatórikus nitrát redukcióra), így a mikrobiális kénsav képződés oxigén limitált környezetben is végbe mehet. Kénsav képződés során az alábbi egyenletnek megfelelő karsztos oldódási folyamat játszódhat le:



A mészkövet (CaCO_3) a kénsavas oldódás eredményeképpen tehát gipsz ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) váltja fel. A reakció során képződő széndioxid a barlang légkörébe kerül, ami hozzájárul a vízréteg általános savasságának fokozódásához és az alábbiak szerint további mészkő oldódási folyamathoz:



A hipogén karsztbarlangok vas- és mangán kiválásából vas- és mangán-oxidáló baktériumokat is azonosítottak (Northup és mtsai 2003). Az acidofil aerob vasoxidálók pl. *Acidithiobacillus*, (Gammaproteobacteria), *Leptospirillum* (Nitrospirae) és *Ferroplasma* (Euryarchaeota) elsősorban savas forrásokban fordulnak elő, ahol a vas(II) mellett redukált kénvegyületek is jelen vannak. Ezek a vas- és kén-oxidálásban is résztvevő prokarióták lehetnek autotrófok vagy heterotrófok is. A neutrofil aerob vasoxidálók specifikus niche-hez adaptálódott szervezetek. Ennek az az oka, hogy a vas(II) semleges pH-n viszonylag oldhatatlan, és levegő jelenlétében spontán kémiai oxidációja gyorsan végbemegy. A neutrofil vasoxidálók ezért főként a felszín alatti, ferrovasban gazdag, anoxikus vizek levegővel való érintkezésénél, vagyis pl. forrásfeltörésekenél telepednek meg. Közülük egyes heterotróf baktériumok (pl. a *Leptothrix* és a *Sphaerotilus* spp.) a vas és a mangán oxidációját is elősegítik, és bár a folyamatból nem nyernek energiát, a felületükön lejátszódó vasoxidáció a sejteket körülzáró vas-oxid kéreg kialakulásához vezet. Az obligát kemolitotróf, mikroaerofil *Gallionella* nemzetség (Betaproteobacteria) tagjai a vas(II) oxidációjából származó $\text{Fe}(\text{OH})_3$ -t csavart, nyélszerű függelékük felületén halmozzák fel, megakadályozva ezzel a sejtek vas-oxid kéregbe záródását. A baktériumokhoz köthető ferrihidrit csapadék toxikus és nyomelem (pl. As, Pd, Cr, Mo, Zn, Cu), valamint radioaktív izotóp (pl. U, Ra) megkötő képességéről több tanulmány is beszámolt (Casanova és mtsai 1999; Le Guern és mtsai 2003).

Az utóbbi években a különböző oligotróf barlangi környezetekből származó minták tenyésztéstől független módszerekkel végzett vizsgálata már törzs (phylum) szinten is meglepően nagy mikrobiális taxonómiai diverzitást tárt fel. A jól ismert Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes és Bacteroidetes törzsek mellett a barlangokból rendszeresen kimutatták a Chloroflexi, a Planctomycetes, az Acidobacteria, a Verrucomicrobia, a Gemmatimonadetes és a Nitrospira törzsek képviselőit is. A tanulmányozott barlangok hasonló földrajzi és geokémiai környezete, a sajátos fizikai-kémiai feltételekhez (az afotikus körülményekhez, az esetenként rendkívül alacsony pH-hoz, valamint a szerves szén jelenlétéhez/hiányához és típusához) alkalmazkodó, közös karbonátos barlangi, ún. „mag” mikrobióta kialakulásához vezetett. Tagjaik változatos kemolitotróf és kemoorganotróf anyagcserepotenciállal rendelkeztek (Barton 2015).

2.8.2. Az Andok Mars-analóg régiói és poliextremofil mikrobaközösségeik

A déli féltekén, Chile és Argentína határvidékén húzódó Atacama-Altiplano magasföld Földünk egyik legextrémebb, Mars-analógnak is tekintett területe. A térség fontos potenciális marsi analógiái a krioszféra degradációja által létrejött domborzati formák, amelyek mind az Ojos del Salado környékén, mind a Marson nagy számban előfordulnak. Kriokarsztos domborzati jelenségeknek a felszín alatti jég szublimációja és a felszín ezt követő beszakadása által létrehozott eróziós formákat nevezzük. A termo- és kriokarszt-tájak kialakulása jelentős geomorfológiai folyamat lehetett a Marson, mivel a laza törmelékréteg csekély hővezető képessége miatt a vékony felszíni réteg alatt – még alacsony szélességeken is – hosszabb ideig jelen lehetett a jég. Emellett a feltételezett éghajlati változások is hozzájárulhattak a jég instabilitásához (Mari és mtsai 2014; Kereszturi és mtsai 2020).

Az „andoki száraz átló” mentén elhelyezkedő régió átlagos tengerszint feletti magassága 4000 m. Éghajlata hideg, száraz és rendkívül szeles. A régióban nagyon kevés ($<150 \text{ mm év}^{-1}$) a csapadék, ami főként hó formájában hullik, és nagy (akár 1000 mm év^{-1}) az evaporáció mértéke. A terület nagy tengerszint feletti magassága ellenére a hó- és jégborítottság ritka és időszakos, a gleccserek jelenléte korlátozott. Földünkön itt húzódik legmagasabban a tartós hóhatár (7000 m körül). A hótakaró szublimációja a térségre jellemző geomorfológiai alakzatok (pl. penitenteszek) kialakulásához vezetett. A száraz periglaciális környezet még a legmagasabb csúcsokon is sivatagi tájként jelenik meg, ahol az erős szelek munkája nyomán szélmarta sziklák, kötörmelékes hullámfodrok figyelhetők meg. Itt található bolygónk legmagasabban fekvő sivataga, mely egészen 6200 m tszf. magasságig felhúzódik. A sivatagi körülmények a nagy napi hőingásban is tetten érhetők, hóborítás nélkül a felszíni hőmérséklet akár -20 °C és $+30 \text{ °C}$ között változhat. A régióban regisztrálták a Napból a Föld felszínére érkező legnagyobb sugárzási szintet (kb. 310 W m^{-2}) és a napi sugárzási értékekből számított havi átlagos besugárzás is a legnagyobb értékek közé tartozik a világon ($6,6 \text{ kWh m}^{-2}$). A nyári napforduló idején (decemberben) délben az UV-index >19 volt (Albarracín és mtsai 2015; Nagy és mtsai 2019, 2020).

A térségben számos óriásvulkán (pl. Socompa, Llullaillac) emelkedik, köztük Földünk legmagasabb (6893 m tszf.), jelenleg szunnyadó vulkáni komplexuma, az Ojos del Salado ($27^{\circ}06'34,6'' \text{ D}$, $68^{\circ}32'32,1'' \text{ Ny}$). A kráter környékén megfigyelhető forró gőzkitörések (fumarolák) a vulkáni utóműködés jelei. Az innen eredő meleg vizű források kémhatása nagyon savas (pH 2-3). Az alacsony évi átlagos középhőmérséklet miatt (ami az Ojos del Salado csúcsán $-17,4 \text{ °C}$, és a hőmérséklet csak ritkán emelkedik fagypont fölé) a terület víztartalmának jelentős része jég formájában, a permafrosztban található (5600 m tszf. magasságon foltos, 5800 m tszf. pedig folytonos permafroszt jellemző). A permafroszt aktív rétege, ha kialakul, akkor is rendkívül vékony. A globális klímaváltozás hatására, a magashegyi permafroszt degradációja során az aktív rétegből származó olvadékvíznek a medencékben való felgyülemelésével a Föld legmagasabban fekvő, sekély, időszakos állóvizei jöhetnek itt létre, melyek vize a glacio-vulkanizmus együttes hatása miatt savas (pH 4-5) (Albarracín és mtsai 2015; Nagy és mtsai 2019, 2020).

Az Andok középső részén több nagy kiterjedésű lefolyástalan terület is található (pl. a Puna de Atacama-fennsík). Ezeken a $>3000 \text{ m}$ tszf. magasságban fekvő magasföldeken az Atacama-sivatag közelsége miatt gyakran sósivatagok (ún. „salar”-ok), a zárt medencékben felhalmozódó talajvízből pedig hiperszalin vizes élőhelyek alakultak ki. A vizes élőhelyek kiterjedését a talajvíz és a párolgás egyensúlya határozza meg. Méretük az utóbbi években a felszín alatti vízkészletek kiürülése miatt fokozatosan zsugorodik, ami a csapadékhányra vezethető vissza. A sekély (10-400 cm-es) sós tavak fő kationjai a Na^+ , a Ca^{2+} , a Mg^{2+} , anionjai a SO_4^{2-} és a Cl^- . A közeli vulkánok aktivitása miatt a tavak vizét szokatlan elemtartalmú (pl. As, Li és B vegyületekben gazdag) meleg vizű források is táplálhatják. A legtöbb állóvíz kémhatása mérsékelten vagy nagyon lúgos (Albarracín és mtsai 2015; Figueroa és mtsai 2018; de la Fuente és mtsai 2021).

Az Ojos del Salado környékének Mars-analóg területeit tehát a zord éghajlat, a negatív vízháztartás, az erős UV sugárzás, az alacsony oxigénszint, valamint a talaj, a növényzet és az állatvilág szinte teljes hiánya együttesen teszik a poliextremofil mikroorganizmusok szempontjából egyedülálló és asztrobiológiai szempontból ideális kutatási célponttá.

Az utóbbi két évtizedben számos tanulmány született, melyek ezeknek a távoli, magashegyi chilei élőhelyeknek a rejtett mikrobiális diverzitását kutatták PCR technikán alapuló denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE) és molekuláris klónozás alkalmazásával (Demergasso és mtsai 2004, 2008, 2010; Dorador és mtsai 2008, 2009, 2013; Aszalós és mtsai 2016; Molina és mtsai 2021). Az Atacama-sivatagban és az Altiplano chilei részén található atalasszohalin tavak (beleértve a Tebenquiche-tó) vizének és üledékének vizsgálata során Demergasso és munkatársai azt találták, hogy a baktériumközösségeket a Bacteroidetes (CFB) és kisebb arányban a Proteobacteria törzs képviselői dominálták (Demergasso és mtsai 2004, 2008, 2010). A tavak eltérő sótartalmával és a mintatípusokkal (víz vs. üledék) összefüggésben a baktériumközösségek nagyfokú tér- és időbeli heterogenitást mutattak. Egy másik, tavi víz- és üledékmintákon Bacteroidetes-specifikus primerekkel végzett elemzés, minden egyes vizsgálatba vont Chile északi részén található magashegyi sós tóban egyedi közösségi struktúrát mutatott ki (Dorador és mtsai 2009). A legtöbb szekvenciát a *Psychroflexus*, a *Gillisia*, a *Maribacter*, a *Muricauda*, a *Flavobacterium* és a *Salegentibacter* nemzetségek (Flavobacteriaceae) képviselőiként azonosították. A Salar de Huasco vizében és üledékében található cianobaktériumközösségek tanulmányozása során nagy rendszertani sokféleséget mutattak ki, az Oscillatoriales, a Pleurocapsales, a Chroococcales és a Nostocales rendekbe sorolt szervezetek dominanciájával (Dorador és mtsai 2008). A chilei Altiplano vizes élőhelyeinek különböző vízgyűjtő területeiről származó víz- és üledékmintákból Bacteroidetes, Proteobacteria, Firmicutes, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Planctomycetes, Deinococcus-Thermus, Acidobacteria, Cyanobacteria, Chloroflexi, Gemmatimonadetes törzsekbe és WS3 kandidátus osztályba tartozó szekvenciákat azonosítottak 16S rRNS gén alapú klónkönyvtárak elemzésével (Dorador és mtsai 2013). Ezeknek a mikrobiális közösségeknek az összetétele is nagyfokú változatosságot mutatott a vizsgált helyek és mintatípusok szerint. Korábbi vizsgálatunk során mi is nagy különbséget találtunk a Puna de Atacama két magashegységi sós tavának (Laguna Santa Rosa és Laguna Verde) üledékéből kimutatott és a Proteobacteria, a Chloroflexi, a Bacteroidetes, a Cyanobacteria, az Acidobacteria, a Verrucomicrobia, a Firmicutes, a Caldithrix és a Gemmatimonadetes törzsekbe sorolt 16S rRNS gén klónszekvenciák arányában (Aszalós és mtsai 2016).

A középső Andokban található magashegyi hipersalin vizes környezetek bentikus régiójában a mikroorganizmusok különböző szerves-ásványi képződményekben (pl. evaporit kupolákban, mikrobiális bevonatokban, biogén karbonátos kiválásokban) is megtelepedhetnek (Fariás és mtsai 2014, 2017; Fernandez és mtsai 2016). Ezeknek a mikrobiális képződményeknek a taxonómiai diverzitását a 16S rRNS gén V4 régiójának piroszekvenálásával elemezték. A mikrobiális bevonatokat a Bacteroidetes, a Proteobacteria, a Spirochetes, a Chloroflexi és a Verrucomicrobia törzsekbe tartozó filotípusok dominálták (Fariás és mtsai 2014). A Laguna Tebenquiche és a La Brava üledékében az Euryarchaeota, Crenarchaeota, Planctomycetes, Firmicutes, Acetothermia és Chloroflexi törzsekbe sorolt filotípusok voltak a leggyakoribbak (Fernandez és mtsai 2016; Fariás és mtsai 2017). A cianobaktériumok szekvenciái ugyanakkor kis gyakorisággal és diverzitással voltak jelen a mintákban (Fernandez és mtsai 2016; Fariás és mtsai 2017).

Az Andok nagy tengerszint feletti magasságban található főként sós vizű tavainak a különböző élőhelyein (pl. a felszíni vizekben, az üledékekben, a mikrobiális bevonatokban és mikrobialitokban) a kutatók különleges és változatos mikrobioidiverzitást tártak fel. A mikrobaközösségek összetétele nemcsak a tavak között, hanem az ugyanarról a helyről származó víz- és üledékminták között, valamint ugyanazon a tavon belül a különböző mintavételi pontok között is nagymértékben eltért egymástól. A

poliextremofil mikroorganizmusok abundanciája és diverzitása a mindenütt jellemző rendkívüli szárazság, nagy napi hőmérsékletingadozás és intenzív napsugárzás (beleértve az erős UV-B sugárzás) korlátozó hatása mellett nagymértékben függött a tavak egyedi fizikai-kémiai tulajdonságaitól pl. a sótartalomtól, valamint a vulkáni működéssel is összefüggő sajátos kémiai és hőmérsékleti gradiensektől (Albarracín és mtsai 2015; Vignale és mtsai 2021).

Az Andok Puna de Atacama régiójában emelkedő Socompa és a Llullaillaco vulkánok eddigi legrészletesebb mikrobiális diverzitás vizsgálatára a nagy tengerszint feletti magasságból gyűjtött száraz, kopár, laza piroklasztikus közettörmelék (az ún. „tefra”), a „bűnbánó csonthótű” képződményekhez (az ún. „nieves penitentes”-hez) kapcsolódó tefra, valamint a fumarolás nedves tefra összehasonlító elemzésével került sor, 16S és 18S rRNS gén alapú Illumina MiSeq amplikon-szekvenálással (Solon és mtsai 2018). A kutatók a különböző geomorfológiai képződményekhez kapcsolódó mikrobaközösségek összetételében markáns különbséget találtak, a legváltozatosabb közösségek (alfa-diverzitás) a fumarolás közettörmelékhez kapcsolódtak. A penitenteszek az azonos tengerszint feletti magasságon (5825 m) lévő száraz tefrával összehasonlítva nem növelték jelentősen az alfa-diverzitást a Socompa vulkánon. A 18S közösségszerkezetet (béta-diverzitást) azonban jelentősen befolyásolta a penitenteszek jelenléte a Socompán és a Llullaillacón egyaránt. A legszembeűnőbb különbség a fotoszintetikus eukarióták (zöldalgák) jelenléte volt a penitenteszek közelében lévő tefrában és hiányuk a száraz tefrában mindkét vulkánon. Cianobaktériumokat és más fotoszintetizáló baktériumokat azonban egyik vulkánon sem találtak sem a száraz, sem a penitenteszekhez kapcsolódó tefrában.

Az Andok középső régiójában található Cerro Chajnantor lávakupola egyike a déli Altiplano Chajnantor-fennsíkját övező vulkáni komplexumnak. A terület 3000-5000 m tszf. magasságból származó hiperarid talajmintáinak Actinobacteria közösségeit piroszekvenálással tárták fel, taxonspecifikus primerek alkalmazásával (Bull és mtsai 2018). A vizsgált élőhelyek magasabb taxonómiai szinteken hasonló Actinobacteria diverzitással rendelkeztek, mint az Atacama-sivatag alacsony tengerszint feletti magasságú ökoszisztémái. Az Actinobacteria törzsbe tartozó filotípusok között két feltételezhetően új osztály, négy új rend és 18 új család képviselőiről számoltak be. Az OTU-k nagy többségét a Frankiales, a Micrococcales, az Acidimicrobiales, a Propionibacteriales és a Pseudonocardiales rendek tagjaiként azonosították. A kutatók kimutatták, hogy a minták közötti család- és nemzetség-szintű diverzitási különbségekhez az UV-B sugárzás és számos edafikus tényező jelentős mértékben hozzájárult.

2.9. Az extremofilekkel kapcsolatos mikrobiológiai kutatások jelentősége

Az extremofilek és poliextremofilek kutatásának egyik jelentőségét 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 határozza meg, amire azonban a környezeti tényezők (pl. a hőmérséklet, a pH, a nyomás.) is számottevő hatással vannak. Az élet eddig ismert határai napjainkban folyamatosan kitolódnak, egyrészt az extrém élőhelyek meghódítását segítő modern technológiai eszközöknek, másrészt a rendelkezésünkre álló mikrobiológiai vizsgáló módszerek rohamos fejlődésének köszönhetően. Ennek ellenére valószínű, hogy az abszolút határokat, ha ilyenek léteznek, 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 extremofil mikroorganizmusok genetikai és anyagcsere sokféleségével, a változó és szélsőséges feltételekhez történő adaptációs mechanizmusaival, az extremofilek és a környezetük közötti kölcsönhatásokkal kapcsolatos kutatások eredményei jelentős mértékben hozzájárultak a lokálistól a globális léptékű biogeokémiai ciklusokban betöltött szerepük megismeréséhez és rávilágítottak sokoldalú hasznosításuk lehetőségeire is. Nemcsak maguk az extremofil szervezetek vagy a felépítésükben és működésükben résztvevő makromolekulák, hanem anyagcseretermékeik is különlegesen, ezáltal specifikus feladatokat látnak el a természetben, sőt akár az emberiség szolgálatában is. Az extremofilek és/ extremozimeik (az extremofilek által termelt enzimek) alkalmazása ma már vitathatatlanul mindennapi életünk részét képezi. Az alábbiakban néhány példán keresztül gyakorlati felhasználásukat szeretném bemutatni.

Az egyik közismert példa az eredetileg a termofil *Thermus aquaticus*, *Pyrococcus furiosus* és *Thermococcus litoralis* fajokból izolált termotabil (*Taq*, *Pfu* és *Vent*) DNS polimeráz enzimek alkalmazása az automatizált polimeráz láncreakció (PCR) során. E nélkül a módszer nélkül ma már nehéz elképzelni a biológusok kutatómunkáját, de széleskörű és köznapi jelenléte tetten érhető a SARS-CoV-2 vírusfertőzés kimutatásától kezdve egészen a szórakoztató iparig, amelynek számos filmje és regénye PCR-alapú technológiák köré épülő bűnüldözést mutat be (Coker 2016).

Másik példaként a bioüzemanyagok (pl. biobutanol, bioetanol) előállítását említhetjük, melynek számos lépése magas hőmérsékletet és szélsőséges pH-értékeket kíván, ezért az extremofilek ideális jelöltek lehetnek a hagyományos módszereknél alkalmazott mezofil szervezetek helyettesítésére. A termofil *Thermoanaerobacterium saccharolyticum* a hemicellulózt és a pentózucukrokat (pl. a xilózt) is képes kiindulási szubsztrátként felhasználni bioetanol előállításához. Ennek az extremofilnek a géntechnológiával módosított változatai ígéretesnek bizonyultak nagy mennyiségű etanol előállítására az egyéb mellékreakciók/termékek minimalizálása mellett. A butanol az etanolhoz képest jobban gátolja a mikroorganizmusok növekedését (a legtöbb szervezet 2%-nál többet nem tolerál), ezért szintén génmódosítással állítottak elő nagyobb butanol koncentráció elviselésére képes szervezeteket. Jelenleg a Green Biologics ilyen génmódosított termofil *Clostridium*-mal termeltet biobutanolt kukorica alapanyagból. A közelmúltban a hidrogén előállítására is hatékony mikroorganizmus-alapú rendszereket fejlesztettek ki termofil *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* és *Thermotoga elfii* fajok felhasználásával. A biodízel előállítása során olyan nagy lipidtartalmú (>75% szárazanyag tömegű) extremofil algákat (pl. a *Cyanidium caldarium* és a *Galdieria sulphuraria*) használnak, amelyek a kőolajban előforduló alkánokhoz hasonló szénhidrogéneket tartalmaznak (Coker 2016).

Az extremofilek és extremozimeik egy további felhasználását jelenti a biológiai kilúgzásnak is nevezett (bio)bányászati eljárás, melyben a vízzel oldhatatlan fém-szulfid vagy fém-oxid ásványok oldatba vitelében acidofil mikroorganizmusokat, leggyakrabban *Acidithiobacillus* és *Ferroplasma* fajokat, de a

körülményektől függően termofil *Sulfolobus* és *Metallosphaera* fajokat is alkalmaznak. Ezt a költséghatékony módszert sikeresen alkalmazzák arany, ezüst, réz, cink, nikkel és urán bányászatában. Fontos megjegyezni, hogy ez az eljárás a rendkívül savas kémhatású és nehézfémekben gazdag bányavíz keletkezése miatt jelentős környezeti kockázattal jár(hat), ezért alkalmazásához szigorú ellenőrzés szükséges (Coker 2016).

A karotionoidok (pl. a bakteriorodopszin, a kantaxantin és a β -karotin) a halofil archaeák és algák jellemző pigmentjei. A bakteriorodopszin a halofil archaeák fényhajtott protonpumpáját működtető membránkötött fehérje, amit iparilag hasznosítható mennyiségben a *Halobacterium salinarum*-ból nyernek ki. A bakteriorodopszint a holográfiában, a mesterséges retina előállításánál, a fotokróm festékek és a térbeli fénymodulátorok esetében is alkalmazzák. A szintén halofil archaeák (pl. a *Haloferax alexandrinus*) által termelt kantaxantin egy zsírban oldódó antioxidáns, amit élelmiszer-színezékként és takarmány adalékként (pl. hal-, rák- és baromfitelepeken) is felhasználnak. A kozmetikai iparban általában a barnító tabletták legfőbb összetevője. A mesterségesen előállított vörös színű β -karotin fő forrása a *Dunaliella salina* halofil zöldalga. Az étrend-kiegészítőként is szolgáló vegyületet felhasználják sütési adalékanyagként (pl. ételfestékekben), valamint emulziókban cukrászati termékek és készételek előállításához (Coker 2016).

A mikrobiális proteázok a legszélesebb körben alkalmazott enzimek közé tartoznak, melyeket a sajtgyártás, a sörfőzés és a sütés mellett legnagyobb mennyiségben a mosószerke előállításánál használnak. Napjainkban az energiahatékony hideg vizes mosás hatékonyságának fokozására egy irányított evolúció révén előállított pszichrofil/mezofil kiméra proteázt alkalmaznak (Coker 2016).

A β -galaktozidáz enzim aktivitásának hiányából vagy elvesztéséből eredően a világ népességének mintegy 70%-a szenved laktóz-intoleranciában. A laktózérzékenység gyakran kínos tüneteinek elkerülésére a legjobb megoldás a mezofil *Kluyveromyces lactis*-hoz hasonló szervezetekből származó laktáz (β -galaktozidáz) felhasználásával előállított laktózmentes tej és más tejtermékek fogyasztása. Az enzim megfelelő aktivitásához a tejtermék hőmérsékletét kb. 5 °C-ról 25 °C-ra meg kell emelni, ami utat nyithat a potenciális patogének elszaporodásának és elősegítheti a tej ízprofiljának megváltozását. Napjainkban már több olyan pszichrofil enzimet jellemeztek, amelyek a jelenleg használt mezofilekkel azonos teljesítményt nyújtanak. Az alacsony hőmérsékleten is aktív laktáz enzim(ek) alkalmazásával kiküszöbölhetők lennének a melegítési lépéssel járó kockázatok és költségek (Coker 2016).

A keményítő ipari hidrolízisében manapság még szintén főleg mezofil enzimeket használnak, annak ellenére, hogy a folyamatok többnyire magas hőmérsékletet és lúgos pH-t igényelnek. Bár poliextremofil (termofil és alkalofil) enzimek használata lenne ideális, jelenleg az acidofil *Bacillus acidicolá*-ból származó α -amiláz, a termofil *Picrophilus*-ból származó glükóamilázok és a termofil *Thermococcus kodakarensis*-ből származó pullulanáz tűnik ígéretesnek mezofil társaik helyettesítésére (Coker 2016).

Az extremofilek gyógyászati jelentőségét bizonyítja, hogy számos antibiotikum és daganatellenes molekula szintézisére is képesek. Antimikrobiális peptidokat Halobacteriaceae és *Sulfolobus* fajokban is azonosítottak. A halofil *Haloterrigena hispanica* és a *Natronococcus occultus* fajokból kimutatott diketopiperazinok (más néven ciklikus dipeptidek) bizonyítottan befolyásolják a véralvadási funkciókat, emellett antimikrobiális, gombaellenes, vírusellenes és daganatellenes tulajdonságokkal is rendelkeznek, továbbá aktiválják vagy gátolják a quorum-sensing útvonalakat. Utóbbi hatásuk miatt a diketopiperazinok ígéretes alternatív kezelési módot jelenthetnek a cisztás fibrózisban szenvedő betegek antibiotikum rezisztens *Pseudomonas aeruginosa* fertőzésének a kezelésére is (Coker 2016).

3. 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 (Szárz-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.

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Az értekezésnek ebben a fejezetében elsősorban terjedelmi korlátok miatt a kutatások során alkalmazott módszereknek csak a lényegét tekintem át. A több mint húsz évet felölelő kutatások során mindig arra törekedtünk, hogy a célkitűzéseinknek leginkább megfelelő, számunkra technikailag és financiálisan is elérhető mikrobiális ökológiai vizsgáló módszereket alkalmazzunk. Ily módon, bár kutatásaink során módszertani fejlesztést nem végeztünk, az értekezés módszertani fejezete betekintést enged az utóbbi két évtizedben, főként a tenyésztéstől független molekuláris mikrobiológiai módszerek esetében bekövetkezett rohamos fejlődésbe is.

A kutatásaink során alkalmazott tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független mikrobiológiai módszerek pontos és részletes leírását az értekezés alapjául szolgáló publikációk tartalmazzák (9.1. fejezet).

4.1. Mintavétel

A vizsgálatba vont környezeti elemek (pl. vízminták, talajok, biofilmek) mintavételezésénél minden esetben előzetes terepbejárást végeztünk, majd ezt követően jelöltük ki az adott környezetet jellemző reprezentatív mintavételi helyszíneket. A mintavételezéshez, ahol ez szükséges volt, rendelkezünk az illetékes hatóságok engedélyével. A mintavételekkel egyidőben a helyszínen és/vagy laboratóriumi körülmények között (többnyire együttműködő szervezetek közreműködésével) szabványos módszerekkel meghatároztuk a mintákra jellemző és a mikrobaközösségek összetételét és aktivitását befolyásoló főbb fizikai és kémiai paramétereket.

A mikrobiológiai mintavételezésekhez a vizsgálni kívánt környezet tulajdonságaitól (pl. megközelíthetőségétől) függően választottuk ki a legmegfelelőbbnek ítélt mintavételi technikát. A mintákat minden esetben steril mintavételi eszközökkel, aseptikus körülmények között gyűjtöttük. A környezeti mintákat 6-8 °C-on hűtve szállítottuk a laboratóriumba, ahol a lehető leghamarabb megkezdtük a feldolgozásukat.

Mintavételi helyszíneink hazánkban a Fertő-Hansági Nemzeti Park területén fekvő Fertő (Borsodi és mtsai 2003a), a Kiskunsági Nemzeti Park területén található Böddi-szék (Borsodi és mtsai 2013, 2017b, c, 2019), Kelemen-szék (Borsodi és mtsai 2008, 2011; Rusznyák és mtsai 2011), Zab-szék (Borsodi és mtsai 2017a) és Apajpuszta térsége (Borsodi és mtsai 2021), a Hármaskörös Szarvas melletti Nagyfoki-holtágának egy leválasztott szakasza (Borsodi és mtsai 2016), a Harkányi Gyógyfürdő egyik termálkútja (Miseta és mtsai 2012), a Budai-termálkarszt területe (Anda és mtsai 2015, 2017, 2020; Makk és mtsai 2016, 2019; Borsodi és mtsai 2018; Enyedi és mtsai 2019), Szarvas környéki termálkutak (Németh és mtsai 2014) és a Hévízi-tó forráskráttere (Borsodi és mtsai 2022a) voltak. Emellett a Magyar Száraz-Andok Kutatási Program keretében került sor mintagyűjtésre az Ojos del Salado (Száraz-Andok) térségében (Aszalós és mtsai 2020a, b; Borsodi és mtsai 2022b).

4.2. Mikroszkópos vizsgálatok

Kutatásaink során elsősorban a különböző biofilm minták felépítésében résztvevő mikroorganizmusok morfológiai tulajdonságainak elemzésére és a biofilm képződés tanulmányozására használtunk fénymikroszkópos és pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) technikát. Az intakt minták előkészítése után a vizsgálatokra Zeiss EVO MA 10 (ELKH, ÖK, Vízi Ökológiai Intézet) és FEI Quanta 3D kétsugaras pásztázó elektronmikroszkóppal (FIB/SEM) (ELTE TTK, Központi Kutató és Műszer Centrum) került sor. Az újonnan leírt baktériumtaxonok sejtszerkezetének részletes vizsgálatához JEM100CX II (JEOL) típusú transzmissziós elektronmikroszkópot (TEM) (ELTE TTK, Biológiai Intézet) használtunk.

4.3. Tenyésztésen alapuló vizsgálatok

4.3.1. *Extremofil baktériumok tenyésztése*

A különböző szélsőséges környezetekben élő extremofilek és/vagy toleránsok laboratóriumi körülmények közötti tenyésztéséhez változatos összetételű tápközegeket alkalmaztunk. A táptalajok kiválasztásánál fontos szempont volt, hogy az adott médiumok összetételükénél fogva minél többféle baktérium szaporodásának biztosítsanak kedvező feltételeket, ezért gyakran használtunk olyan táptalajokat, melyeket szakirodalmi adatok alapján, hasonló környezetekből származó izolátumok tenyésztésbe vonásához korábban már sikeresen alkalmaztak.

Az alkalofilek és/vagy halofilek tenyésztésénél a táptalajok pH és/vagy sókoncentrációját az eredeti környezetnek leginkább megfelelő értékekre állítottuk be, a pszichofileket/pszichotrófokat pedig folyamatosan a számukra optimális alacsony hőmérsékleti értékeken tartottuk. Sugárrezisztens baktériumok kitenyésztéséhez a mintákat az előkészítést követően Co-60 γ -sugárforrásból származó 5, 10 és 15 kGy sugárdózissal kezeltük (NNK Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Főosztály).

Kutatásaink során a tenyésztéseket mindig légköri oxigén jelenlétében végeztük, ezért csak a mintákban jelenlévő aerob vagy fakultatív anaerob anyagcserére képes extremofil baktériumokat tudtuk kitenyészteni. Az extremofilek tenyésztési hatékonyságának növelése érdekében a mintákból történő közvetlen szélesztést megelőzően többször alkalmaztunk elődúsítást vagy határhígításos technikát, de gyakran éltünk az inkubációs idő meghosszabbításának lehetőségével is.

Az extremofil baktériumtörzseket a vizsgálatok ideje alatt az izolálásukhoz használt táptalajon, 1-2 havonta történő átoltással tartottuk fenn, majd ezt követően az ELTE Mikrobiológiai Tanszékének törzsgyűjteményében helyeztük el.

4.3.2. *Baktériumtörzsek fenotípusos és kemotaxonómiai jellemzése*

Az extremofil baktériumtörzsek esetében részletes fenotípusos (pl. sejt- és telep morfológiai, szénforrás hasznosítási, biokémiai-fiziológiai) és kemotaxonómiai (pl. sejtfa szerkezeti, sejtmembrán lipid-, kinon- és zsírsav profil) vizsgálatokat csak a tudományra nézve új fajokként leírt tenyészetek esetében végeztünk, a Bacteriological Code (1990 Revision) 30b által az új baktériumtaxonok leírásához javasolt minimális standard eljárásokat (Logan és mtsai 2009) követve. Az alkalofil és halofil baktériumtörzsek esetében részletes ökológiai tolerancia (pl. pH, NaCl és hőmérsékleti tűrőképesség) vizsgálatokat is folytattunk. A tenyésztésbe vont sugárrezisztens baktériumtörzsek UV és gammasugárzással szembeni ellenállóképességét germicid lámpa felhasználásával, 256 nm hullámhosszúságú UV-sugárzással, illetve 1, 3, 6, 9, 12 és 15 kGy gammasugárdózis kezeléssel teszteltük. Az új baktériumfajok leírásánál tesztelt legfontosabb fenotípusos és kemotaxonómiai tulajdonságok összefoglalása a Függelék *11.1-1. táblázat*ban található.

4.3.3. *Baktériumtörzsek genotípusos jellemzése*

Az extremofil baktériumtörzsek faji szintű azonosítását a 16S rRNS gén bázissorrendjének meghatározásával végeztük el. Ehhez a törzsekből a genomális DNS kinyeréséhez és tisztításához a rendelkezésünkre álló kiteket és módszereket alkalmaztuk a gyártók útmutatásai szerint. A polimeráz láncreakcióhoz (PCR) általában 27F és 1401R vagy 1492R primereket, valamint *Taq* DNS-polimerázt használtunk. A szekvenálást megelőzően a nagyszámú baktériumtörzset az ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) módszer alkalmazásával, kétféle (általában *Bsu*RI és *Hin*6I) gyakran hasító restriktációs enzimmal nyert hasítási mintázatuk alapján csoportosítottuk (Massol-Deya és mtsai 1995). Az egyedi hasítási mintázattal rendelkező reprezentatív baktériumtörzsek PCR

termékeinek bázissorrend meghatározására a Sanger-féle jelölt láncterminációs szekvenálási módszer alkalmazásával került sor.

Az új fajokként leírt tenyészetek esetében a csaknem teljes 16S rRNS gén bázissorrend elemzése mellett meghatároztuk a genomi DNS G+C mol%-os arányát, és DNS-DNS hibridizációt végeztük az adott törzssel legközelebbi filogenetikai rokonságban álló faj(ok) típus törzsével.

4.4. Közösségi szénforrás hasznosítás alapú funkcionális diverzitás vizsgálat

A talaj mikrobaközösségek potenciális anyagcsere-aktivitását a szubsztrát indukált respiráción (SIR) alapuló MicroResp™ módszerrel vizsgáltuk (Campbell és mtsai 2003). A talajokra jellemző közösségi szintű fiziológiai profil (CLPP) meghatározásához a talajt és a vizsgált szubsztrát(ka)t egy 96-lyukú mélyített csöves mikrotiter lemezbe („deep-well plate”) mértük. Az inkubációs idő alatt fejlődő szén-dioxid mennyiségét a mélyített lyukú mikrotiter lemezre helyezett detektor lemez segítségével határoztuk meg. A talaj mikrobaközösségek katabolikus aktivitására a detektor lemez pH változást jelző krezolvörös indikátorának színváltozásából következtettünk.

4.5. Közösségi DNS kivonáson alapuló diverzitás elemző eljárások

4.5.1. Környezeti DNS kivonás

A környezeti mintákból a mintaelőkészítést (pl. vízmintáknál szűrést, biofilm és üledék minták esetén centrifugálással történt tömörítést) követően a DNS-t különböző kitek (pl. Ultra Clean Soil DNA extraction kit) segítségével vontuk ki a gyártói útmutatások alapján. A kivont közösségi DNS-t a további felhasználásig $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

4.5.2. DGGE molekuláris ujjlenyomat vizsgálat

Kezdetben a különböző mintavételi területekre jellemző baktériumközösségek taxonómiai diverzitását és a közösségösszetételben bekövetkező szezonális változásokat egy molekuláris ujjlenyomat módszer, a denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE) segítségével tártuk fel (Muyzer és mtsai 1998). DGGE segítségével a közel azonos hosszúságú, de eltérő szekvenciájú DNS szakaszok választhatók szét egymástól egy lineárisan növekvő denaturáló (urea és formamid) gradienst tartalmazó gél segítségével. A mintázatképzés az egyes taxonokhoz tartozó DNS szakaszok eltérő A-T és G-C nukleotid arányán és eloszlásán alapul. A PCR termékek a poliakrilamid gélben történő futtatás során a növekvő gradiens mentén szétválnak egymástól, a megjelenő elektroforetikus csíkok száma a mintákban előforduló domináns taxonok számával korrelál. A DGGE futtatásokhoz szükséges GC-kapocccsal rendelkező PCR termékeket a teljes genomi DNS-ből nested 27F-GC és 519R primerekkel PCR reakciókban állítottunk elő. Az elektroforetikus futtatást követően az egyes elkülönülő csíkokat a DNS specifikus festésével jelenítettük meg, majd a gélben kialakult mintázatokat Phoretix 1D gélelemző szoftver segítségével hasonlítottuk össze egymással.

4.5.3. Molekuláris klónkönyvtár létrehozása

Az értekezés alapjául szolgáló kutatások korai szakaszában a mintákra jellemző taxonómiai diverzitás feltárására a közösségi DNS felhasználásával klónkönyvtárakat hoztunk létre, melyhez pGEM-T Easy Vector System® vagy TOPO TA Cloning® kitet használtunk a gyártók útmutatásai szerint. A klónozó vektor a lacZ α -gén, az ampicillin és a kanamicin rezisztencia alapján szelektív, ezért a klónozás eredményeképpen csak a rezisztenciagént tartalmazó klónozó vektorral transzformált sejtek nőnek ki az antibiotikumot tartalmazó táptalaj felületén, melyek közül az idegen DNS-t felvettek β -galaktozidáz aktivitás hiányában fehér színű telepeket képeznek. A klónozás során egy gazdasejtbe

kevés kivételtől eltekintve csak egy vektor kerül, így a kifejlődő telepek egy-egy amplifikált 16S rDNS, vagyis egy-egy idegen eredetű baktériumfaj képviselőinek tekinthetők, melyek alkalmasak klónkönyvtár létrehozására (Green & Sambrook 2012). A kék-fehér szelekció eredményeként kinőtt telepekből az inszertet tartalmazó DNS-t M13F és M13R, majd Bacteria esetében 27F és 1401R, Archaea esetében A109F és A958R primer párok segítségével nyertük vissza polimeráz láncreakcióban. A molekuláris klónok csoportosítását ARDRA módszerrel, bázissorrend meghatározását Sanger-féle szekvenálással végeztük.

4.5.4. 16S rRNS gén alapú ampikon-szekvenálás

Az újgenerációs szekvenálási (NGS) eljárások robbanásszerű fejlődésével lehetőségünk nyílt arra is, hogy az általunk kutatott extrém környezetek mikrobiális diverzitását ezeknek a nagy áteresztőképességű, relatíve munka- és költségkímélő módszereknek az alkalmazásával is feltárjuk.

Munkánk során a mintákból származó közösségi DNS-ből a 16S rRNS gén megközelítőleg 500 bázispár hosszú szakaszát 27F és 534R primerek (utóbbi tartalmazta a minta azonosítást lehetővé tevő vonalkód „barcode” szekvenciát) segítségével szaporítottuk fel, majd elvégeztük a PCR termékek mennyiségi és minőségi ellenőrzését. Ezután az egyszálúsított ampikonokat a komplementer adapter szekvenciák segítségével szilárd gyöngyök felületéhez kötöttük. A következő, ún. emulziós PCR során az immobilizált, kónális DNS molekulák megsokszorozása egy emulzióceppben történt a kellő jelerősség elérése érdekében. Az emulziós PCR-t követően a szekvenáló gyöngyöket egyesével, kisebb méretű „csomagoló” (packing beads) és „enzim” gyöngyök (enzyme beads) kíséretében pikotiter-lemez mélyedéseibe vittük fel. Utóbbiak a szekvenáló reakció nyomon követéséhez szükséges szilárd fázishoz kapcsolt szulfuriláz, luciferáz és apiráz enzimeket tartalmazták. A szintézisen alapuló bázissorrend meghatározás során a pikotiter lemez felett ciklikus sorban, egymás után történt mind a négy dNTP átáramoltatása. Bázispárosodáskor a beépülő nukleotidról lehasadó pirofoszfát az ATP szulfurilázzal ATP-vé alakult, ami fénykibocsátás közben, luciferáz enzim közreműködésével segítette a luciferin oxiluciferinné történő átalakulását. A fényfelvillanás vagyis a nukleotid beépülése az adott pozícióban lévő ampikon esetében nagyfelbontású CCD kamerával rögzült, és a felvillanások sorrendjéből meg lehetett határozni a hozzájuk tartozó szekvencia bázissorrendjét (Ronaghi és mtsai 1998; Margulies és mtsai 2005). A PCR termékek piroszekvenálását Roche GS Junior platformon végeztük a gyártó által megadott protokollt követve.

Az általunk legutoljára alkalmazott Illumina MiSeq NGS eljárás fluoreszcens jelölésű, reverzibilis terminátoros technológiával működő, szintézisen alapuló szekvenálás. Ennek során a szekvenálást megelőzően a DNS-könyvtárak klonális amplifikációja (klasztergenerálás) a szekvenáló áramlási cellán ún. "híd-amplifikációs" PCR segítségével zajlik az adapterrel komplementer primerek felhasználásával. Minden egyes szekvenálási ciklus során egyetlen fluoreszcensen jelölt, reverzibilis terminátorhoz kötött dNTP-t építenek be a nukleinsavláncba, és a keletkező fluoreszcens jelet leképezik. A beépített dNTP-ről a terminátor és a fluoreszcens festék leválik, így lehetővé válik a következő jelölt dNTP beépülése. Az ún. „paired-end” (párosított végű) szekvenálás során a szintézis a DNS-fragmentum mindkét végéről végbemegy, ami kiváló minőségű szekvencia adatokat generál, mély lefedettséggel és nagy leolvasásszámmal (Mardis 2013; Goodwin és mtsai 2016). Vizsgálataink során a mintákból nyert közösségi DNS-ből a 16S rRNS gén V3-V4 régióját B341F és B805R primerekkel szaporítottuk fel, majd az új generációs Illumina MiSeq ampikon-szekvenáláshoz a Genomics Core, Research Technology Support Facility (Michigan State University, Trowbridge, USA) szolgáltatását vettük igénybe.

4.6. Taxonómiai identifikáció és bioinformatikai adatelemzés

A baktériumtörzsek és molekuláris klónok szekvenciáinak minőségi ellenőrzésére a Chromas programot, míg azonosításukhoz az EzBiocloud (korábban EzTaxon-e) adatbázisban található típus-törzsek szekvenciáit (Yoon és mtsai 2017) használtuk. A 16S rRNS gén bázissorrend egyezésein alapuló azonosításnál faji szinten a 97%-os, nemzetségi szinten a 95%-os szekvencia egyezést tekintettük küszöbértéknek (Tindall és mtsai 2010).

A filogenetikai elemzésekhez és fák szerkesztéséhez többféle algoritmust (pl. neighbor-joining, maximum likelihood) és nukleotid szubsztitúciós modellt (pl. Kimura2, General Time Reversible) használtunk a MEGA program legfrissebb változatának alkalmazásával (Kumar és mtsai 2018). A baktériumtörzsek és molekuláris klónok szekvenciáit a European Molecular Biology Laboratory - European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI) European Nucleotide Archive (ENA) adatbázisába töltöttük föl (Baker és mtsai 2000), a szekvenciák azonosítására szolgáló ún. „Accession Number”-ek az értekezés alapjául szolgáló publikációkban találhatóak meg.

Az NGS során keletkezett műtermékeket (pl. kimérákat, homopolimereket) és az egyszer előforduló (ún. „singleton”) szekvenciákat a mothur program legfrissebb változatának alkalmazásával szűrtük ki (Schloss és mtsai 2009). A szekvenciák taxonómiai identifikációjához az ARB-SILVA SSU legfrissebb változatának referencia adatbázisát használtuk (Quast és mtsai 2012). A szekvenciákat ebben az esetben is legalább 95%-os bázissorrend egyezés esetén rendeltük nemzetségekhez, míg 97%-os (faji szintű hasonlóság esetén) operatív taxonómiai egységekbe (OTU) rendeztük (Tindall és mtsai 2010). A nyers szekvencia adatokat az NCBI Sequence Read Archive adatbázisban helyeztük el. Az ún. „BioProject” azonosítók az értekezés alapjául szolgáló publikációkban találhatóak meg.

Az értekezésben szereplő taxon nevek és rendszertani besorolások az adott kutatási eredményekből megjelent publikációkban szereplő és az akkor érvényes állapotoknak felelnek meg. (A publikációk megjelenése óta bekövetkezett taxonómiai revíziók tárgyalására terjedelmi okok miatt nem tértem ki.)

4.7. Statisztikai értékelés

A DNS amplikon-könyvtárak fajtelítődési görbéinek, diverzitás (pl. Simpson, Shannon) és fajszám becslő (pl. Sobs, Chao1, ACE) index értékeinek a kiszámításához a mothur program (Schloss és mtsai 2009) legutolsó változatát alkalmaztuk.

Az adatok többváltozós statisztikai elemzéséhez (pl. főkomponens és hierarchikus klaszter analízishez, NMDS ordinációhoz) és a grafikus ábrázoláshoz a PAleontological STatistics (PAST) (Hammer és mtsai 2001) és az RStudio (RStudio Team 2020) vegan (Oksanen és mtsai 2005) programjának a legújabb változatát használtuk.

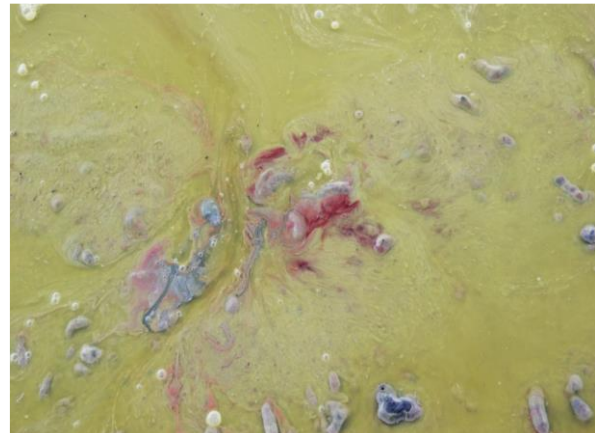
Az értekezésben bemutatott ábrák megegyeznek az ábra feliratokban hivatkozott, angol nyelvű publikációkban szereplő ábrákkal. (Ennek megfelelően az ábrák angol nyelvűek, és szükség szerint a magyarázat tartalmazza a megértést segítő magyar nyelvű kiegészítés(ek)e)t.)

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK

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

5.1.1. 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 (**5.1-1. ábra**). 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).



5.1-1. ábra A kiskunsági Böddi-szék vize a 2008 júniusi zöldalga (*Oocystis submarina* Lagerheim) tömegprodukciónak idején (Fotó: Vörös Lajos)

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

Az aerob körülmények között végzett tenyésztéshez kétféle (tengervizes DSMZ 246 és 5% (m/V) NaCl-dal kiegészített R2A, DSMZ 830) táptalajt alkalmaztunk, azzal a módosítással, hogy a táptalajok pH-ját a Böddi-székre jellemző 9,5 értékre állítottuk be. A tenyésztésbe vont összesen 110 baktériumtörzset a 16S rRNS gén bázissorrend elemzése alapján az *Erythrobacter* és a *Rhodobaca* (Alphaproteobacteria), az *Alkalimonas*, a *Halomonas*, a *Marinospirillum* és a *Nitrincola* (Gammaproteobacteria), az *Algoriphagus* és az *Aquiflexum* (Bacteroidetes), valamint a *Bacillus* és a *Gracilibacillus* (Firmicutes) nemzetségek tagjaiként azonosítottuk (**Függelék 11.2-1. ábra 11.2-2. ábra és 11.2-3. ábra**) (Borsodi és mtsai 2013).

A környezeti tűrőképesség tesztek eredményei alapján a kitenyésztett extremofil baktériumtörzsek eltérő pH és NaCl toleranciával rendelkeztek. Az *Erythrobacter*, a *Halomonas*, a *Marinospirillum*, a *Nitrincola*, az *Alkalimonas* és az *Algoriphagus* nemzetségek képviselői fakultatív alkalofilnek bizonyultak, növekedésük pH optimuma $\geq 9,0$ volt, de semleges pH értéken is képesek voltak szaporodni. Az *Aquiflexum* és a *Gracilibacillus* nemzetségek tagjai pH 11,0 értéknél mutattak optimális növekedést, és nem tolerálták a semleges körüli pH értékeket, így obligát alkalofilnek tekinthetők. A *Bacillus* és a *Rhodobaca* nemzetségekbe sorolt törzsek széles (7,0-9,0 közötti) pH tűrőképességük alapján alkalitoleránsnak mutatkoztak. A sótolerancia vizsgálatok eredményei az mutatták, hogy minden törzs 5% (m/V) NaCl koncentrációnál növekedett a legjobban, és a legtöbb (pl. *Erythrobacter*, *Rhodobaca*, *Halomonas*, *Algoriphagus*, *Aquiflexum* és *Gracilibacillus*) baktériumtörzs nem szaporodott NaCl hiányában. Egyes nemzetségek (pl. a *Marinospirillum*, a *Nitrincola* és a *Bacillus*) képviselői széles (0-15% közötti), míg mások (pl. az *Erythrobacter*, a *Rhodobaca* és az *Aquiflexum* nemzetségek tagjai) szűk (5-7% közötti) sótoleranciát mutattak (Borsodi és mtsai 2013).

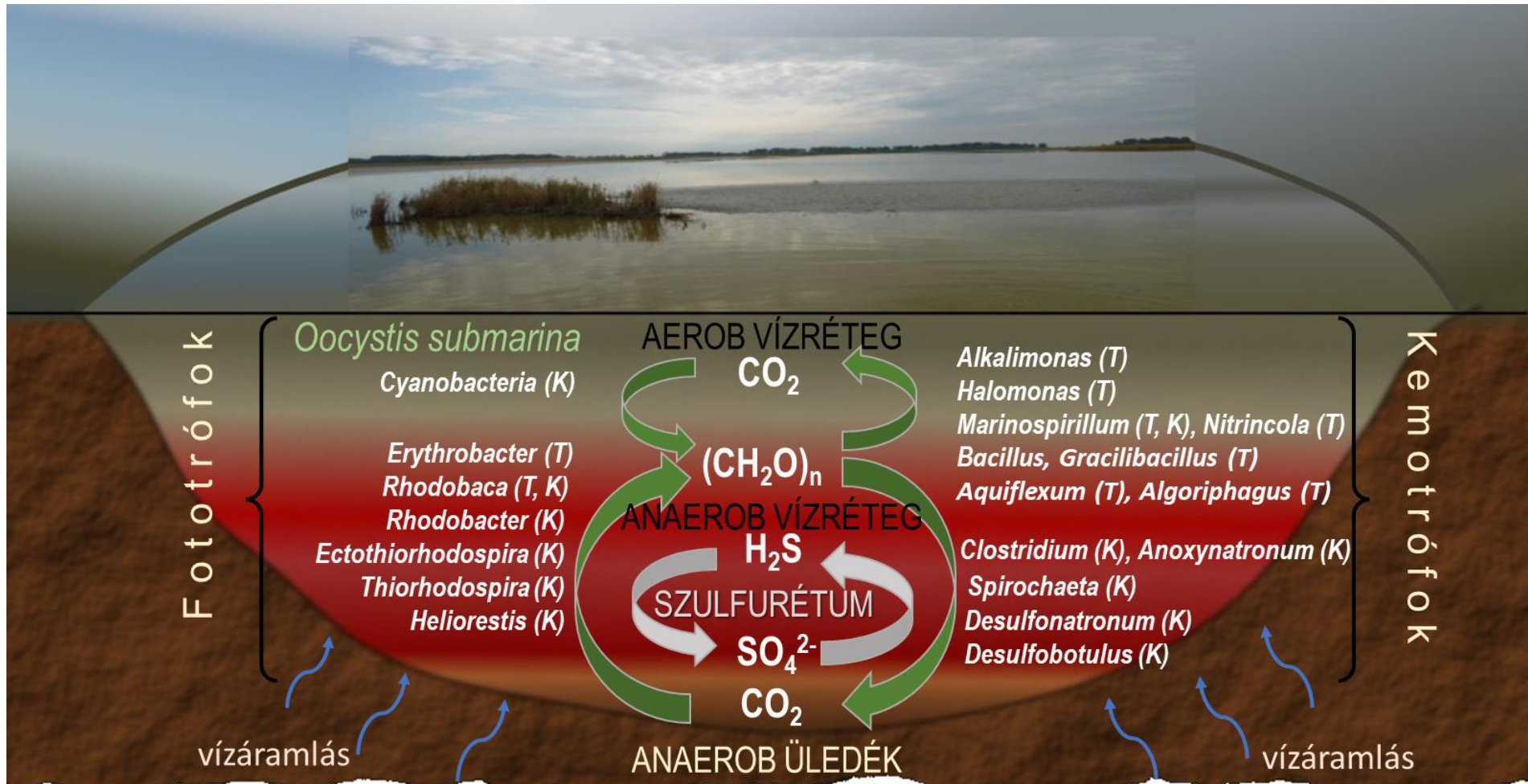
A Böddi-szék vizéből a *Bacillus* fajok képviselői mellett legnagyobb számban a Belső-mongóliai szikes Hailer-tóból (Kína) leírt *Marinospirillum alkaliphilum* (Zhang és mtsai 2002), és a kelet-afrikai sziksós Elmenteita-tóból leírt *Alkalimonas delamerensis* (Ma és mtsai 2004) alkalofil fajokkal 98%-os szekvencia egyezést mutató törzseket izoláltunk (Függelék **11.2-1. ábra** **11.2-2. ábra** és **11.2-3. ábra**). Érdekességként említhetjük meg, hogy a Kiskunsági és a Hortobágyi Nemzeti Parkok területéről szikes vízterek (pl. Böddi-szék, Kelemen-szék, Fehér-szik) üledékéből és a környező szikes talajokból izolált, a tudományra nézve új alkalofil és mérsékelt halofil fajok, pl. a *Bacillus aurantiacus* (Borsodi és mtsai 2008), a *Bacillus alkalisediminis* (Borsodi és mtsai 2011) és a *Bacillus kiskunsagensis* (Borsodi és mtsai 2017c) képviselői nem kerültek elő a 2008-as vízvirágzás során. Ennek okaként a vizsgálatba vont különböző mintatípusok (víz vs. üledék és talaj), továbbá a tenyésztéshez használt eltérő összetételű táptalajok jelölhetőek meg. Néhány Böddi-székéből izolált törzs olyan fajok pl. a *Belliella baltica* (Brettar és mtsai 2004a) és az *Aquiflexum balticum* (Brettar és mtsai 2004b) típusú törzseivel mutatott legközelebbi szekvencia egyezést, melyeket a Balti-tenger felszíni vizéből izoláltak szintén egy planktonvirágzást követően. A Böddi-szék vizéből izolált extremofil baktériumtörzsek kemoorganotróf anyagcseréjük révén elsősorban az aerob szerves anyag lebontási folyamatokban vehettek részt. Tenyésztéseink között azonosítottuk még az anoxikus fotoszintézisre is képes, mixotróf anyagcseréjű halofil *Erythrobacter longus* (Shiba & Simidu 1982) és az alkalofil *Rhodobaca bogoriensis* (Milford és mtsai 2000) fajok képviselőit is. Ezek a bíbor nem-kén baktériumok aerob körülmények között az oldott szerves anyagok lebontásához járulhattak hozzá, míg fény jelenlétében bakterioklorofill-a tartalmuknak köszönhetően anoxikus fototróf anyagcserét folytathattak (Cooney és mtsai 2006; Csotonyi és mtsai 2008; Keppen és mtsai 2013; Wang és mtsai 2014).

A közel 200 tagú molekuláris klónkönyvtár elemzésével a Proteobacteria, a Bacteroidetes, a Spirochaetes, a Firmicutes, az Actinobacteria, a Cyanobacteria, a Lentisphaera, a Gemmatimonadetes, a Deinococcus-Thermus, és a Fibrobacteres törzsekbe tartozó filotípusok előfordulását igazoltuk a Böddi-szék vizében (Borsodi és mtsai 2013). Az alkalmazott módszerek ismert szelektivitása (pl. a táptalajok összetételének, a tenyésztési feltételeknek, a DNS kivonásnak, a PCR amplifikációnak és a klónkönyvtárak létrehozásának közösségszerkezeti torzító hatásai) miatt a tenyésztéses és a klónozásos eljárások inkább egymást kiegészítő és csak részben átfedő eredményre vezettek (Függelék **11.2-1. ábra** **11.2-2. ábra** és **11.2-3. ábra**). Példaként említhetjük, hogy bár a Gammaproteobacteria osztály képviselői voltak a legnagyobb gyakorisággal előforduló szekvenciák mind a tenyésztés, mind pedig a klónozás során, ennek ellenére a kétféle módszerrel faji és nemzetség szinten csak kevés egyezést (pl. *Nitrincola*) találtunk. Hasonló eredményt hozott két másik hazai szikes tóban a partközeli nád (*Phragmites australis*) perifiton baktériumközösségeinek megismerésére irányuló összehasonlító vizsgálat is (Rusznay és mtsai 2008b).

A Böddi-székből nyert molekuláris klónok több mint egyharmadát a Proteobacteria törzs tagjaként identifikáltuk, emellett a klónkönyvtárban 10-20% közötti arányban voltak jelen a Bacteroidetes, a Firmicutes és a Spirochaetes törzsekbe sorolt filotípusok (Függelék **11.2-1. ábra 11.2-2. ábra és 11.2-3. ábra**). Az általunk a Böddi-székből feltárt törzs szintű dominancia viszonyok összecsengtek négy svéd tó vizének cianobaktérium virágzás alatt, szintén molekuláris biológiai módszerekkel kapott bakteriális diverzitás eredményeivel (Eiler & Bertilsson 2004). A kiskunsági molekuláris klónok nagy része a legnagyobb hasonlóságot más alkalikus és hipersós vizes környezetekből pl. a kaliforniai (USA) Mono-tóból (Humayoun és mtsai 2003), az egyiptomi Wadi An Natrun-tóból (Mesbah és mtsai 2007) vagy a Washington állambeli (USA) Soap-tóból (Dimitriu és mtsai 2008) származó és ez idáig még tenyésztésbe nem vont környezeti szekvenciákkal mutatta.

Klónozással a Böddi-székből származó vízmintából számos különböző fototróf, valamint szigorúan anaerob anyagcseréjű baktériumfajjal rokon filotípus jelenlétét is bizonyítottuk (Függelék **11.2-1. ábra 11.2-2. ábra és 11.2-3. ábra**) a tenyésztésbe vont aerob kemoorganotróf anyagcseréjű baktériumfajokon kívül (Borsodi és mtsai 2013). Vizsgálatunk során bár kimutattunk Cyanobacteria törzsbe tartozó filotípusokat, azok (3%-os részesedésükkel) nem dominálták a fototróf közösséget, ami nagymértékben eltért a kelet-afrikai Nagy-hasadékvölgyben található Elmenteita-tóban (Kenya) megfigyelt közösségszerkezeti viszonyoktól (Mwirichia és mtsai 2011). Ezzel szemben a kiskunsági vízvirágzás során a molekuláris klónoknak a 28%-át különféle anoxikus fototróf baktériumtaxonok pl. Erythrobacteraceae és Rhodobacteriaceae (Alphaproteobacteria), Ectothiorhodospiraceae (Chromatiales, Gammaproteobacteria) és Heliobacteriaceae (Clostridiales, Firmicutes) képviselőjeként azonosítottuk. A tenyésztéssel *Rhodobaca bogoriensis* fajként meghatározott izolátumok mellett a klónkönyvtárban kimutattuk a *Rhodobaca barguziensis* (Boldareva és mtsai 2008), a *Rhodobacter capsulatus* (Haselkorn és mtsai 2001) és a *Rhodovulum strictum* (Hiraishi & Ueda 1995) bíbor nem-kén baktériumfajok képviselőit is. Ez utóbbi faj típus-törzsét Japánban egy tengervizes árapály medencében kialakult színes vízvirágzás során izolálták (Hiraishi & Ueda 1995). Az obligát fotolitotróf autotróf anyagcserét folytató bíbor kénbaktériumok között a szibériai szikes Malyi Kasytui-tóból leírt alkalofil *Thiorhodospira sibirica* (Bryantseva és mtsai 1999a) és a mérsékelten halofil *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* fajokkal rokon filotípusokat detektáltuk. Ezen kívül néhány klónt a szibériai szikes Barun Torey-tóból izolált, bakterioklorofill g-t tartalmazó, alkalofil *Heliorestis daurensis* (Bryantseva és mtsai 1999b) faj reprezentánsaként azonosítottunk.

A Böddi-széki molekuláris klónok között számos obligát anaerob fermentáló baktériummal pl. az alkalofil, szacharolitikus *Anoxynatronum sibiricum* fajjal rokon szekvenciát is találtunk (Függelék **11.2-1. ábra 11.2-2. ábra és 11.2-3. ábra**). Ennek a fajnak a típus-törzsét a szibériai szikes Nizhnee Beloe-tóból (Oroszország) írták le (Garnova és mtsai 2003). A szintén alkalofil és obligát anaerob fermentatív anyagcserét folytató *Spirochatea* nemzetségnek a kiskunsági székekben való jelenlétére már korábbi molekuláris ujjlenyomat vizsgálati eredményeink is rámutattak (Borsodi és mtsai 2005a). A Böddi-széki filotípusokkal legközelebbi rokonságot mutató *Spirochaeta alkalica* és *Spirochaeta asiatica* fajok (Zhilina és mtsai 1996) típus-törzseit szintén vízvirágzások során, a kelet-afrikai Nagy-hasadékvölgyben található szikós Magadi-tó (Kenya) és a közép-ázsiai szikes Khatyn-tó (Oroszország) üledékéből tenyésztették ki. A Böddi-székből feltárt fermentatív baktériumok a fototróf primer produkció során keletkezett komplex szerves anyagok anaerob lebontásában vehettek részt. A fermentációs folyamatok végtermékei (pl. szerves savak és/vagy hidrogén) ugyanakkor szubsztrátként szolgálhattak a szintén anaerob tioszulfát- és szulfátredukáló baktériumok számára. A tioszulfátredukálók közül a *Dethiosulfatibacter aminovorans* (Takii és mtsai 2007) és *Fusibacter paucivorans* (Ravot és mtsai 1999), míg a szulfátlézők közül a *Desulfobotulus sapovorans* (Devereux és mtsai 1992) és a *Desulfonatronum lacustre* (Pikuta és mtsai 1998) fajokkal nagyfokú szekvencia egyezést mutató molekuláris klónokat detektáltuk.



5.1-2. ábra A Bóddi-szék vizéből a 2008-as *Oocystis submarina* zöldalga tömegprodukción idején azonosított extrémofil baktérium fajok anyagcsere tulajdonságai alapján feltételezett kapcsolatok a szén és a kén lokális biogeokémiai ciklusában (Rövidítések: tenyésztés (T); klónozás (K); Az ábrát Kéri Adrienn készítette.)

A Böddi-szék vizében megfigyelt alga tömegprodukción idején gyűjtött vízminták kombinált módszertani megközelítéssel elvégzett mikrobiológiai vizsgálata során alkalofil és halofil baktériumok nagy taxonómiai diverzitását tártuk fel (5.1-2. ábra). Az azonosított taxonok metabolikus képességeinek ismeretében azt feltételezzük, hogy nemcsak a különleges környezeti tényezők, hanem a víztestben jelenlévő extrémofil prokarióta szervezetek közötti változatos anyagcsere-kapcsolatok is nagymértékben hozzájárulhattak a zöldes és bíbor színű vízvirágzás kialakulásához. Ebben a közösségi anyagcsere-hálózatban elsősorban a biológiai szén- és kén-ciklusban szerepet játszó szervezetek szoros összefonódását valószínűsítjük. A rendkívül sekély víztest felső, zöldes színű, oxigénben dús részében a primer produkció (oxigéntermelő fotoautotróf anyagcsere) fő letéteményesei a zöldalgák, kisebb mértékben a cianobaktériumok lehettek. Az ez alatti fényszegény 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 disszimilatorikus 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.

A Böddi-széki 2008-as júniusi alga tömegprodukciónhoz nagyon hasonló kettős vízvirágzás jelent meg 2014 áprilisában is egy szintén a Kiskunsági Nemzeti Parkban található zavaros vizű szikes víztestben (É 46 °45,818'; K 19 °10,828'). A mintavétel idején 23°C-os vízhőmérsékletet, 10,1 pH értéket és 15,5 mS cm⁻¹ fajlagos elektromos vezetőképességet mértek (Korponai és mtsai 2019). A kora tavaszi vízvirágzás kialakulását feltehetően elősegítette a viszonylag hosszabb nyugodt, meleg napos időszak, valamint a sekély vízréteg stabil alkalikus kémhatása és megnövekedett sókoncentrációja (Na⁺, HCO₃⁻ > Cl⁻). A mindössze 5 cm-es vízréteg felső részét a korábbival megegyezően az *Oocystis submarina* Lagerheim planktonikus egysejtű zöldalga, míg az alsó bíbor színű, bakterioklorofill tartalmú vízréteget az NGS vizsgálatok eredményei alapján a *Thiorhodospira* és a *Rhodobaca* fajok képviselői dominálták. További, feltehetően anoxikus fototróf növekedésre is képes, tenyésztésbe vont bíbor nem-kén baktériumtaxonok közé tartoztak a *Loktanella* és a *Porphyrobacter* nemzetségek tagjai.

Az egymáshoz közel fekvő kiskunsági víztestekben a különleges időjárási körülmények hatására kifejlődött kettős vízvirágzások során jelentős különbségeket tártunk fel az egyébként vizuális megjelenését és a potenciális metabolikus kölcsönhatásokat tekintve hasonló planktonikus közösségek taxonómiai összetételében. Ennek hátterében részben a vizsgált víztestek eltérő fizikai (pl. hőmérsékleti) és vízkémiai (pl. sóösszetételbeli) sajátosságai, részben a vizsgálatok során alkalmazott módszerek különbségei (pl. eltérő összetételű táptalajok, klónozás vs. NGS) húzódnak meg (Korponai és mtsai 2019).

A Hármaskörös Szarvas melletti Nagyfoki-holtágának egy leválasztott szakaszán található a környéken kitermelt és ipari, mezőgazdasági fűtési célra használt termásvíz befogadására alkalmas Therm-Organ (TO) hűtő-tározó tó (5.1-3. ábra). Az elnyújtott téglalap alakú víztest 10 ha területű és maximálisan 150 000 m³ használt termásvíz (csurgalékvíz) időszakos tározására alkalmas. A közel É-D-i tájolású TO-tavat a DNY-i sarkában kiépített csőcsonkból egész évben csurgalékvízzel táplálják (5.1-4. ábra). A tározott vizet a fűtési időszakban (október és április között) szakaszosan ürítik le a tó K-i oldalának közepén elhelyezett leeresztő műtárgyon keresztül (nyáron nincs vízelvezetés). A leeresztett tóvizet egy 7,5 km hosszú nyílt vízfelszínű, földmedrű csatornarendszerbe irányítják és más termásvizekkel keverve néhány száz méter után a Hármaskörösbe emelik át. A TO-tóban vízáramlási szempontból az év két időszakra különül el; télen a vízmozgás a tó két végétől a tó közepe, nyáron a tó DNY-i végétől a K-i vége felé irányul. A tó vízmélysége egy működési év folyamán átlagosan 42 ± 3 cm és 146 ± 14 cm között változik.



5.1-3. ábra A Szarvashoz közeli Therm-Organ (TO) tározó elhelyezkedése (sárga szaggatott vonallal határolt terület) a Hármaskörös Nagyfoki-holtágában a mintavételi helyek (TO-0 és TO-4) és a vízelvezetés irányának (sárga nyilak) feltüntetésével (Borsodi és mtsai 2016)

Nyáron a TO-tó vize rózsaszínből bíborba hajló elszíneződést mutat (5.1-4. ábra). A tavi üledék a vízzáró agyagréteg felett a befolyótól a tó É-i végéig fokozatosan vékonyodik, lágy kocsonyás állagú, zöldes vagy barnásfekete színű és kénhidrogén- és/vagy fenolszagú (Borsodi és mtsai 2016).

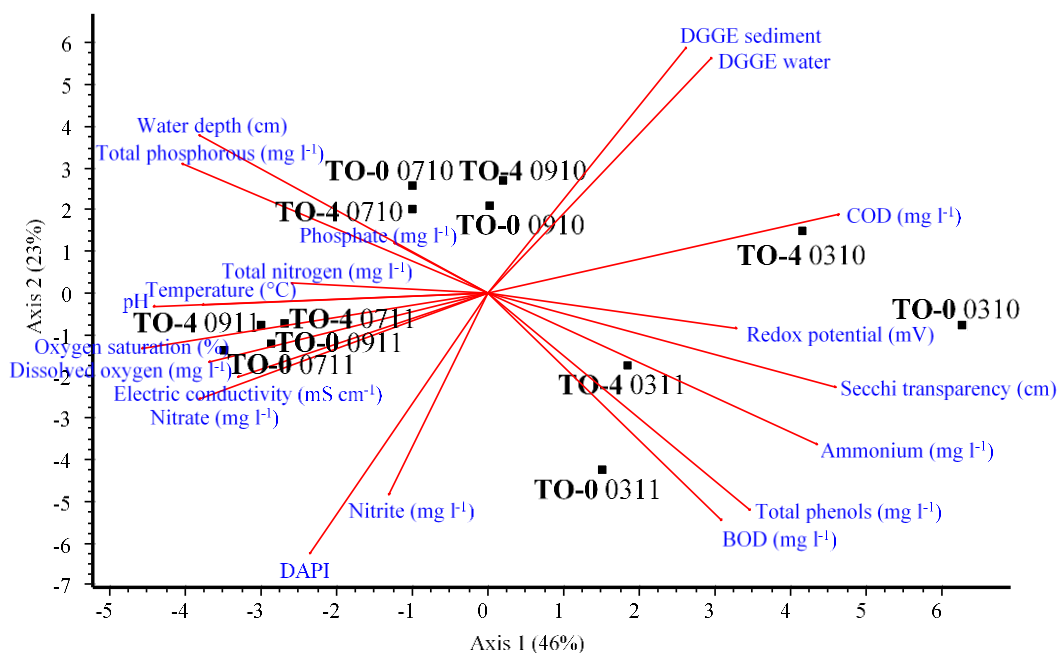


5.1-4. ábra A Therm-Organ-tó DNY-i részlete a csurgalékvíz befolyóval a 2011 júliusi mintavételkor (Fotó: Borsodi Andrea)

A 2010-ben és 2011-ben végzett összehangolt kémiai és mikrobiológiai vizsgálatok során nyomon követtük a TO-tó vízminőségének (beleértve a termál csurgalékvízzel a tóba kerülő jelentős aromás szénhidrogén koncentrációjának) a térbeli és időbeni változását, továbbá tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független DGGE és molekuláris klónozásos módszerekkel feltártuk a szerves szennyezőanyagok átalakításában potenciálisan szerepet játszó, korábban teljesen ismeretlen extrémofil (alkalofil és/vagy halofil, illetve termofil) mikrobaközösségek összetételét (Borsodi és mtsai 2016).

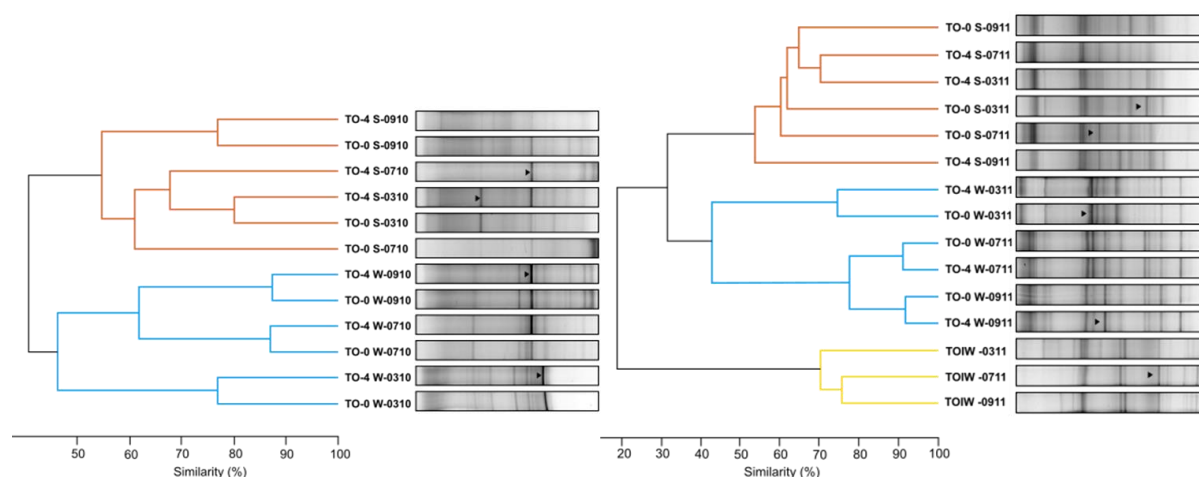
A vizsgált időszakban a TO-tó vízhőmérséklete 14,4 °C és 27,6 °C között változott. A víz Secchi-átlátszósága a vízmélység növekedésével párhuzamosan csökkent, nyár végére már csak 5 cm volt. A fajlagos elektromos vezetőképesség értékek 4,0-5,7 mS cm⁻¹ értékek között mozogtak. A vízszint és a sótartalom változásától függetlenül a TO-tó vize stabilan alkalikus volt, a pH-értéke 8,7 és 9,3 között ingadozott. A termál csurgalékvizet egész évben közel állandó kémiai összetétel és a felszíni vizekhez képest nagy szennyezőanyag koncentráció jellemezte, ami minden mintavételi időpontban szignifikánsan különbözött a TO-tó bármely pontján vett vízmintákból meghatározott értékektől. A csurgalékvízzel összehasonlítva, a TO-tóban a tározási idő előrehaladtával mindkét évben szignifikáns csökkenés következett be a víz KOI_k, BOI₅ és összes fenol koncentrációiban (Függelék **11.1-2. táblázat**).

A TO-tó vizére jellemző fizikai-kémiai változók, valamint a bakteriális sejtszám értékek és a DGGE mintázatok közötti összefüggéseket standardizált PCA segítségével elemeztük (**5.1-5. ábra**). Az ordinációs diagramon a tavaszi minták pozitívan korreláltak a magas KOI_k, BOI₅, ammónium ion és fenoltartalom értékekkel, és határozottan elkülönültek a kora és késő nyári mintáktól. A mintavételi helyek között is tavaszi mintavételkor mutatkoztak nagyobb különbségek, ami az alacsony vízállással és a tóba ömlő csurgalékvíz hatásával hozható összefüggésbe. A mintavételi helyek közti eltérések nyárra szinte eltűntek, a víztest nemcsak homogenizálódott, de a vízminősége is megváltozott. A nyári mintákkal a foszfor és a nitrogén formák értékei (az ammónium kivételével), valamint az oxigénháztartás értékei korreláltak pozitívan. A bakteriológiai változók ugyanakkor egyik mintavételi hellyel és időponttal sem mutattak egyértelmű összefüggést, ami egyértelmű változást jelzett a közösségszerkezetekben (Borsodi és mtsai 2016).



5.1-5. ábra A TO-tározótó vízkémiai és bakteriológiai adatainak felhasználásával PCA módszerrel készült kétdimenziós ordinációs diagram (Borsodi és mtsai 2016)
(Rövidítések: mintavételi helyek: TO-0, TO-4; mintavételi időpontok (hhéé): 0310, 0311, 0710, 0711, 0910, 0911)

A TO-tó baktériumközösségeinek szerkezetében bekövetkező térbeli és időbeni változásokat DGGE módszerrel hasonlítottuk össze. A minták elsődleges csoportosulása mindkét évben mintatípusok szerint történt; a gélsávokban lévő csíkok száma és elhelyezkedése alapján a dendrogramokon külön klasztert képeztek a víz, az üledék és a csurgalékvíz minták (5.1-6. ábra). Legnagyobb mértékben a szezonálisan stabil összetételű termál csurgalékvíz bakteriális közösségszerkezete különbözött a többitől. A vízkémiai mérések eredményeihez hasonlóan, a mikrobiológiai vizsgálatok eredményei alapján is megállapítottuk, hogy a tavi víz- és üledékminták közti időbeni változások sokkal jelentősebbek voltak, mint az egyes mintavételi helyek közti térbeli különbségek. A mintavételi helyek közti eltérések a vízminták esetében kisebbek voltak, mint az üledékmintáknál, ami a planktonikus baktériumoknak a víztestben való egyenletes eloszlására utalt. A DGGE mintázatok összehasonlító elemzése arra is rávilágított, hogy a vízminták baktériumközösségeiben fellépő szerkezeti változások az üledékben időben eltolódva jelentek meg. A vízminták esetében a tavaszi minták különültek el először, de a kora és késő nyári minták közösségszerkezete nagyon hasonló volt. Ezzel szemben a kora nyári üledékminták baktériumközösség szerkezete jobban hasonlított a tavaszi, mint a késő nyári víz mintákéhoz. Eredményeink arra is rávilágítottak, hogy az üledékminták bakteriális közösségeinek összetételét nagyfokú térbeli és időbeli heterogenitás jellemezte. A DGGE gélből kivágott domináns csíkok bázissorrend elemzésével a csurgalékvízből a *Hydrogenobacter* (Aquificae), a tóvízből az *Arthrospira* (Cyanobacteria) és a *Hydrogenophaga* (Proteobacteria), az üledékből a *Dehalococcoides* és a *Dehalogenimonas* (Chloroflexi) nemzetségeket képviselőit azonosítottuk (Borsodi és mtsai 2016).



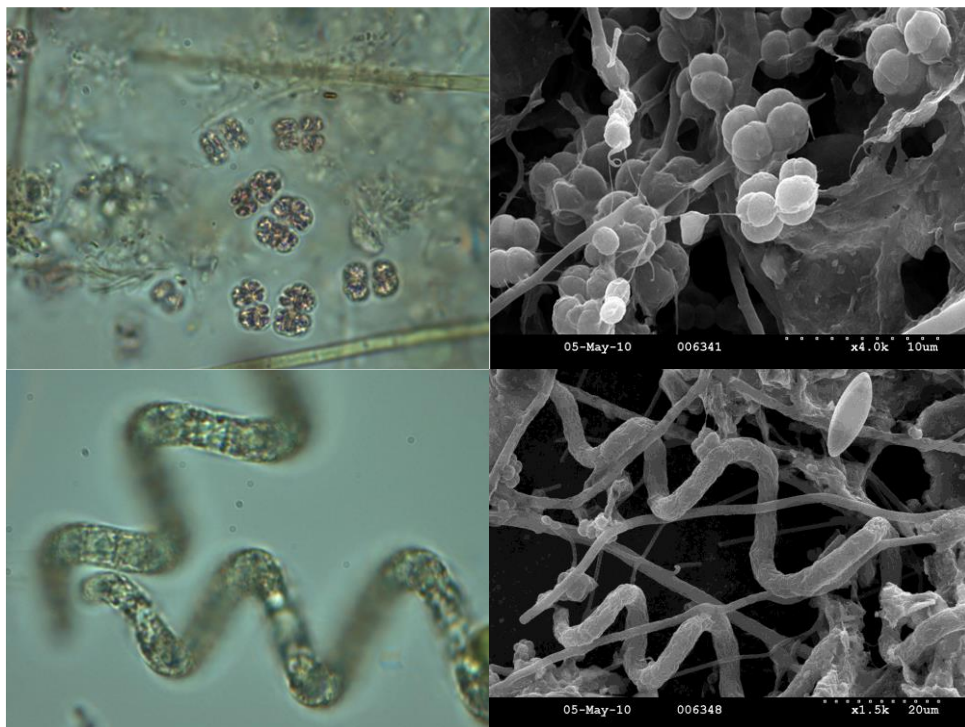
5.1-6. ábra A TO-tóból 2010-ben (a) és 2011-ben (b) gyűjtött csurgalékvíz (I), tóvíz (W) és tavi üledék (S) mintákban előforduló baktériumközösségek DGGE-mintázata alapján készült UPGMA dendrogramok (Borsodi és mtsai 2016)
(Rövidítések: mintavételi helyek TO-0, TO-4; mintavételi időpontok (hhéé) 0310, 0311, 0710, 0711, 0910, 0911)

A baktériumközösségek taxonómiai sokféleségének megismerésére, a TO-tóból és a csurgalékvízből háromféle (nutrient DSMZ 1, R2A DSMZ 830 és Horikoshi-féle alkalikus DSMZ 940) táptalajon közel 100 izolátumot vontunk vizsgálatba, és három egyenként csaknem 100 tagú molekuláris klónkönyvtár elemzését végeztük el (Borsodi és mtsai 2016). A TO-tó törzs (phylum) szintű bakteriális diverzitása (Actinobacteria, Aquificae, Bacteroidetes, Chlorobi, Cyanobacteria, Deferribacteres, Deinococcus-Thermus, Firmicutes, Nitrospirae, Proteobacteria, Tenericutes, Verrucomicrobia) nagyfokú hasonlóságot mutatott egy szaúd-arábiai hipersós, kőolajjal szennyezett mikrobiális bevonat aerob baktériumközösségeit vizsgáló tanulmány eredményeivel (Abed és mtsai 2007).

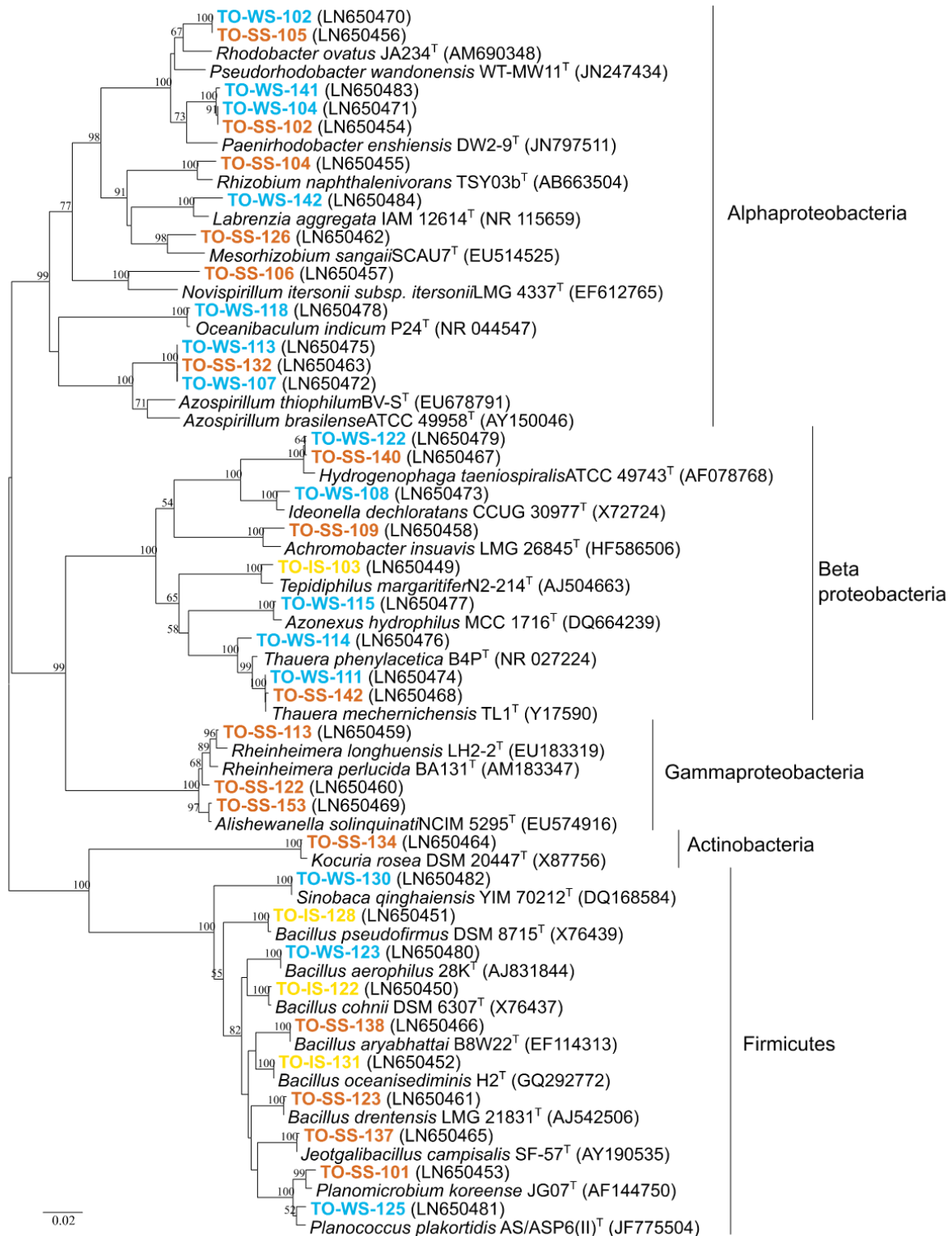
A csurgalékvíz mintát a *Thermus thermophilus* (Deinococcus-Thermus) fakultatív anaerob baktériumfajjal azonosított molekuláris klónok dominálták. Ennek a termofil nemzetségnek a tagjai 70 °C és 75 °C hőmérsékleti optimummal rendelkeznek, és széles körben elterjedtek a semlegestől a

lúgosig terjedő kémhatású szárazföldi és sekély tengeri hévforrásokban (Hudson és mtsai 1989). A TO-tó csurgalékvizének másik állandó tagja a *Hydrogenobacter subterraneus* (Aquificae) volt, melyet mindkét tenyésztéstől független módszerrel azonosítottunk. Ennek a termofil, heterotróf anyagcseréjű baktériumfajnak a típusörzsét Japánban egy 1500 m mélyről feltörő 96 °C-os hőmérsékletű vízből izolálták először (Takai és mtsai 2001). A szintén termofil *Thermodesulfovibrio* (Nitrospirae) filotípus jelenlétét a Szarvas melletti termálkutak vizéből is kimutattuk (Németh és mtsai 2014). A legtöbb csurgalékvízből származó izolátumot *Tepidiphilus margaritifera* (Manai és mtsai 2003) fajoként határoztuk meg (5.1-8. ábra). Ennek az aerob termofil fajnak a típusörzsét a csurgalékvízhez hasonló, 60 °C körüli hőmérsékletű aerob rothasztó iszapjából írták le.

A tóvízből létrehozott klónkönyvtárban az egyik legnagyobb csoportot az *Arthrospira indica* fajjal legnagyobb szekvencia egyezést mutató molekuláris klónok képezték. Ennek a jellegzetes spirális sejtalakú cianobaktériumnak a tömeges előfordulását DGGE módszerrel is kimutattuk, továbbá fény- és elektronmikroszkópos vizsgálataink során is megfigyeltük, elsősorban a nyári vízvirágzás idején, amikor a tóvíz erőteljes bíbor-rózsaszín elszíneződést mutatott (5.1-7. ábra). Az *Arthrospira* nemzetség tagjainak előfordulása általában bőséges karbonát és bikarbonát tartalmú, alkalikus kémhatású és relatíve nagy sótartalmú, trópusi és szubtrópusi területeken lévő víztestekben jellemző (Tomaselli 1997; Scheldeman és mtsai 1999). Ehhez hasonló környezeti feltételek – különösen a nyári időszakban – a TO-tóban is fennállnak, és kedveznek az *Arthrospira* nemzetség tagjai tömeges elszaporodásának. Az oxigéntermelő fotoszintetizáló szervezetek között a *Gloeocapsa* (*Gloeotheca*)-szerű, nyolcasával csoportosuló, kocsonyás burokba ágyazott színes cianobaktérium sejtek tömeges előfordulását is észleltük mikroszkópos vizsgálataink alkalmával (5.1-7. ábra). Ez utóbbi szervezeteket azonban sem a klónkönyvtárban, sem a DGGE vizsgálatok során nem tudtuk azonosítani, feltehetően a molekuláris biológiai vizsgálatok szelektivitása miatt (Sipos és mtsai 2007).



5.1-7. ábra A TO-tó vízfelszínén 2010 márciusban kialakult biofilmben előforduló *Gloeocapsa* (*Gloeotheca*) szerű, kocsonyás burokba ágyazott színes cianobaktérium sejtekről (felül) és *Spirulina* (*Arthrospira*) sp. fonalas cianobaktériumokról (alul) készült fénymikroszkópos (bal oldalon) és SEM (jobb oldalon) felvételek (Fotók: Makk Judit)



5.1-8. ábra A TO-tóból tenyésztésbe vont (félkövérrel jelölt) baktériumtörzsek 16S rRNS gén szekvencia alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon baktériumfajok feltüntetésével (Borsodi és mtsai 2016)

(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 2 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként. Rövidítések: csurgalékvíz törzsek: TO-IS; tóvíz törzsek: TO-WS; tavi üledék törzsek: TO-SS.)

A TO-tó vizében és üledékében is jellegzetes mikrobiális közösségalkotók voltak az anoxikus fototróf baktériumok pl. *Rhodobacter*, *Rubribacterium* és *Thiolamproyum* nemzetségek képviselői. Érdekes megjegyezni, hogy mindhárom nemzetség típusfaját a TO-tóhoz nagyon hasonló környezetből írták le: a bíbor nem-kén baktériumok közé tartozó a *Rhodobacter ovatus* típusfaját egy indiai, iparilag szennyezett, rózsaszínes-vöröses színű édesvízi tó üledékmintájából (Srinivas és mtsai 2008), az alkalofil *Rubribacterium* nemzetséget (*R. polymorphum*) egy kelet-szibériai szikes tóból (Boldareva és mtsai 2009), míg a bíbor kénbaktériumok közé tartozó *Thiolamproyum pedioformis* fajt egy tajvani vöröses színű szennyvíztó vizéből (Eichler & Pfennig 1986). A *Rhodobacter* nemzetség tagjait a Böddi-székben lezajlott alga tömegtermelés során is kimutattuk (Borsodi és mtsai 2013).

A TO-tó vizéből és üledékéből tenyésztésbe vont baktériumtörzsek egynegyede a *Thauera mechernichensis* (Scholten és mtsai 1999) és a *T. phenylacetica* (Mechichi és mtsai 2002) fajokkal mutatta a legnagyobb szekvencia hasonlóságot (5.1-8. ábra). Ezek a fakultatív anaerob baktériumok anoxikus körülmények között denitrifikációra képesek, szénforrásként szerves savakat és aromás vegyületeket is hasznosítanak, ezáltal részt vehettek a TO-tóba érkező fenolos vegyületek lebontásában. A szénhidrogén bontó *Thauera* fajok a környezetben széleskörben elterjedtek, előfordulásukat tenyésztés (Song és mtsai 2000), molekuláris klónozás (Das & Kazy 2014), valamint az anaerob szénhidrogén lebontásban szerepet játszó benzil- és alkil-szukcinát szintáz enzimeket kódoló gének kimutatásán alapuló PCR vizsgálatok (Lueders & von Netzer 2014) is igazolták. Mindkét faj képviselőit kimutattuk a Szarvas környéki kutak termálvizének molekuláris klónozása során is, ami a TO-tározóba ömlő használt termálvíz forrása (Németh és mtsai 2014). Szénhidrogénnel szennyezett környezetek tenyésztésén alapuló vizsgálata során már korábban is beszámoltak a *Bacillus* fajok jelenlétéről (Cerqueira és mtsai 2011; Das & Kazy 2014). Ennek magyarázata lehet széles metabolikus potenciáljuk, beleértve az aromás és policiklusos szénhidrogének lebontásáért felelős enzimek szintézisét extrém környezetben is (Margesin & Schinner 2001). A *Bacillus* nemzetség fajai emellett általában könnyen tenyésztethetők, és a számukra kedvezőtlen környezeti viszonyokat endospóra képzésével vészelik át. A TO-tóból több, nitrogén-fixációra is képes nemzetség pl. a *Rhizobium*, a *Mezorhizobium* és az *Azospirillum* tagját is tenyésztésbe vontuk. A diazotróf anyagcsere képessége szelektív előnyt biztosíthatott ezeknek a baktériumoknak a nitrogén limitált TO-tóban, és a metabolizmusuk során megkötött nitrogén hozzájárulhatott a tározási időszak során mért összes nitrogén koncentráció növekedéséhez. Az üledékmintából létrehozott klónkönyvtárban a legnagyobb arányban előforduló molekuláris klónok a Deltaproteobacteria osztály obligát anaerob szulfátredukáló *Desulfobacterium*, *Desulfosarcina* és *Desulfovibrio* nemzetségeivel, továbbá az alkalofil hidrogenotróf *Desulfonatronum cooperativum* (Zhilina és mtsai 2005) fajjal, valamint a szintén anaerob, propionát-oxidáló, szintróf fermentációra képes *Smithella propionica* (Liu és mtsai 1999) és *Syntrophobacter sulfatireducens* (Chen és mtsai 2005) fajokkal mutatták a legnagyobb szekvencia hasonlóságot (Borsodi és mtsai 2016).

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a TO-tó 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 különleges környezeti viszonyokhoz alkalmazkodott extremofilek változatos módon (pl. oxigéntermelő és anoxikus fotoszintézissel, a szerves anyagok, beleértve a szénhidrogének aerob/anaerob lebontásával, denitrifikációval, nitrogénkötéssel, szulfátredukációval) járulhattak hozzá a TO-tározótóban végbemenő komplex mikrobiológiai folyamatokhoz. Bár vizsgálataink elsődlegesen mikrobiális ökológiai jellegű, ún. felfedező kutatásoknak tekinthetők, de kiindulási pontként szolgálhatnak mikrobiális biotechnológiai, alkalmazott kísérletekhez. Ezt igazolja, hogy a TO-tó üledékének felhasználásával létrehozott lignocellulóz bontó, alkalofil és alkalitoleráns szervezetek dúsító tenyésztéseit laboratóriumi körülmények között sikeresen alkalmazták egy búzaszalma bontó anaerob mikrobaközösség aktivitásának és a biogáztermelés fokozásának érdekében (Porsch és mtsai 2015).

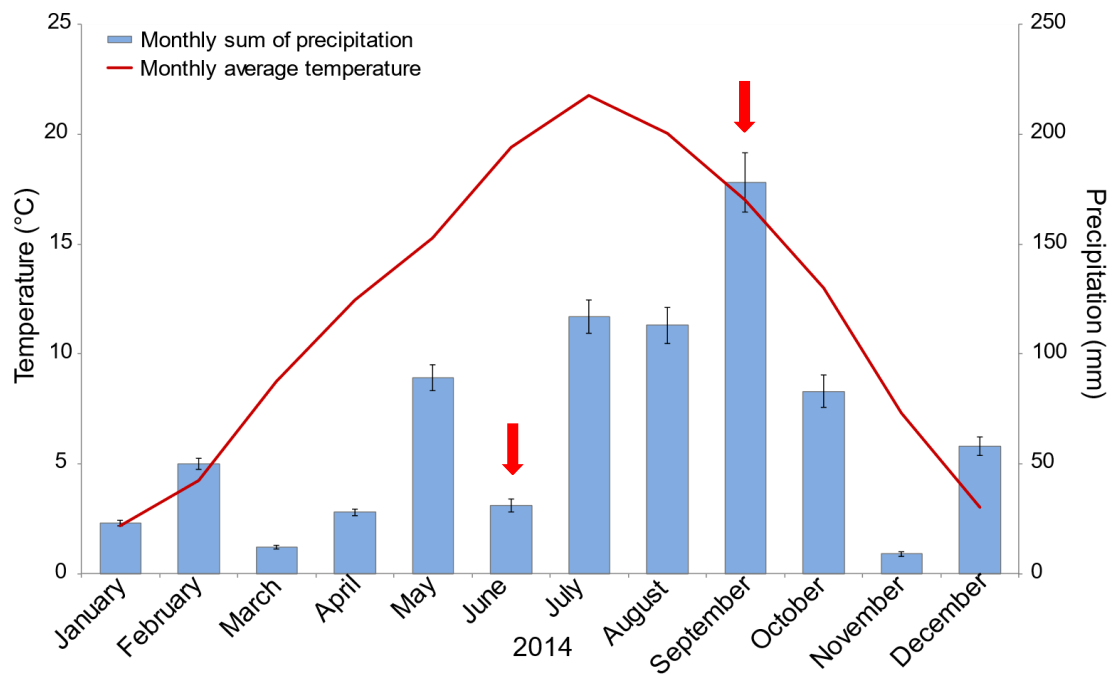
5.1.2. *Kiskunsági szikesekben élő sőtűrő növénytársulások talaj baktériumközösségeinek taxonómiai összetétele összefüggésben a szélsőséges időjárási körülményekkel*

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 szembetűnő, 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). A mikrobaközösségek katabolikus aktivitásának térbeli és időbeni változását MicroResp technikával hasonlítottuk össze. Horikoshi-féle alkalikus (DSM 940) és módosított R2A (DSM 830) táptalajokon kitenyészett törzsekkel a tenyésztető, Roche GS Junior platformon végzett piroszekvenálással a tenyésztéstől független taxonómiai diverzitást határoztuk meg, a baktériumok 16S rRNS génszakaszának bázissorrend elemzése alapján. A mintavételekre Apajpusztán (KNP) került sor a szikesedés különböző fázisaira jellemző 4 eltérő növénytársulású területen (**5.1-1. táblázat**) (Molnár & Borhidi 2003; Borhidi 2007).

5.1-1. táblázat Az apajpusztai (KNP) mintavételi helyek jellemzői

	Vakszik	Szikkok	Ürmös puszta	Füves szikespuszta
Minta azonosító	AL-06; AL-09	AP-06; AP-09	AA-06; AA-09	AF-06; AF09
Földrajzi koordináta	É 47°05'11,6" K 19°05'54,4"	É 47°05'08,5" K 19°06'07,1"	É 47°05'09,4" K 19°06'02,6"	É 47°05'11,4" K 19°05'53,1"
Növényborítottság	16%	68%	42%	90%
Természetes növénytársulás	Lepidio crassifolii — Champhorosmetum annuae	Lepidio crassifolii — Puccinellietum limosae	Artemisio santonici — Festucetum pseudovinae	Achilleo setaceae — Festucetum pseudovinae
Domináns növényfajok	<i>Lepidium crassifolium</i> , <i>Champhorosma annua</i>	<i>Puccinellia limosa</i>	<i>Artemisia maritima</i> , <i>Plantago maritima</i> , <i>Festuca pseudovina</i>	<i>Festuca pseudovina</i> , <i>Achillea setacea</i>
Egyéb növényfajok	<i>Puccinellia limosa</i>	<i>Phragmites australis</i> , <i>Lepidium crassifolium</i> , <i>Plantago maritima</i>	<i>Podospermum canum</i> , <i>Puccinellia limosa</i> , <i>Agropyron repens</i>	<i>Cerastium pumilum</i> , <i>Plantago lanceolate</i> , <i>Koeleria cristata</i> , <i>Agropyron repens</i> , <i>Lotus corniculatus</i> , <i>Thymus pannonicus</i> , <i>Potentilla argentea</i> , <i>Trifolium repens</i>

Vizsgálatainkhoz a talajok mikrobiológiai szempontból legaktívabbnak tekintett 0-10 cm-es rétegből gyűjtöttünk mintákat 2014 júniusában és szeptemberében. Az első mintavételkor, júniusban a napi középhőmérséklet 5 °C-kal magasabb volt a sokéves átlagnál. Egy szokatlanul száraz tavaszi időszak után júniusban mindössze 30 mm körül csapadék hullott. Ez a sokéves átlagnak alig több mint a fele volt, amivel 1901 óta ez volt a 11. legszárazabb június. Ekkor a több hetes aszályos időszak miatt a talaj felszíne teljesen kiszáradt és megrepedezett. Szeptemberben ugyanakkor az átlagosnál jóval csapadékosabb volt az időjárás. A szeptemberi csapadék mennyisége csaknem elérte a 180 mm-t, ami a sokéves átlagnak több mint kétszeresét tette ki. A több napos intenzív csapadékos időjárás miatt a vakszik és a szikkok területén a talajfelszint kb. 10-20 cm magasságban víz borította. Ekkor a havi középhőmérséklet az ország legnagyobb részén – Apajpusztát is beleértve – 16-18 °C között alakult (**5.1-9. ábra**).



5.1-9. ábra Az időjárási viszonyok 2014 évi változása az apajpusztai területen (felül) a havi átlagos levegőhőmérséklet (°C) és a havi csapadékösszeg (mm) alapján

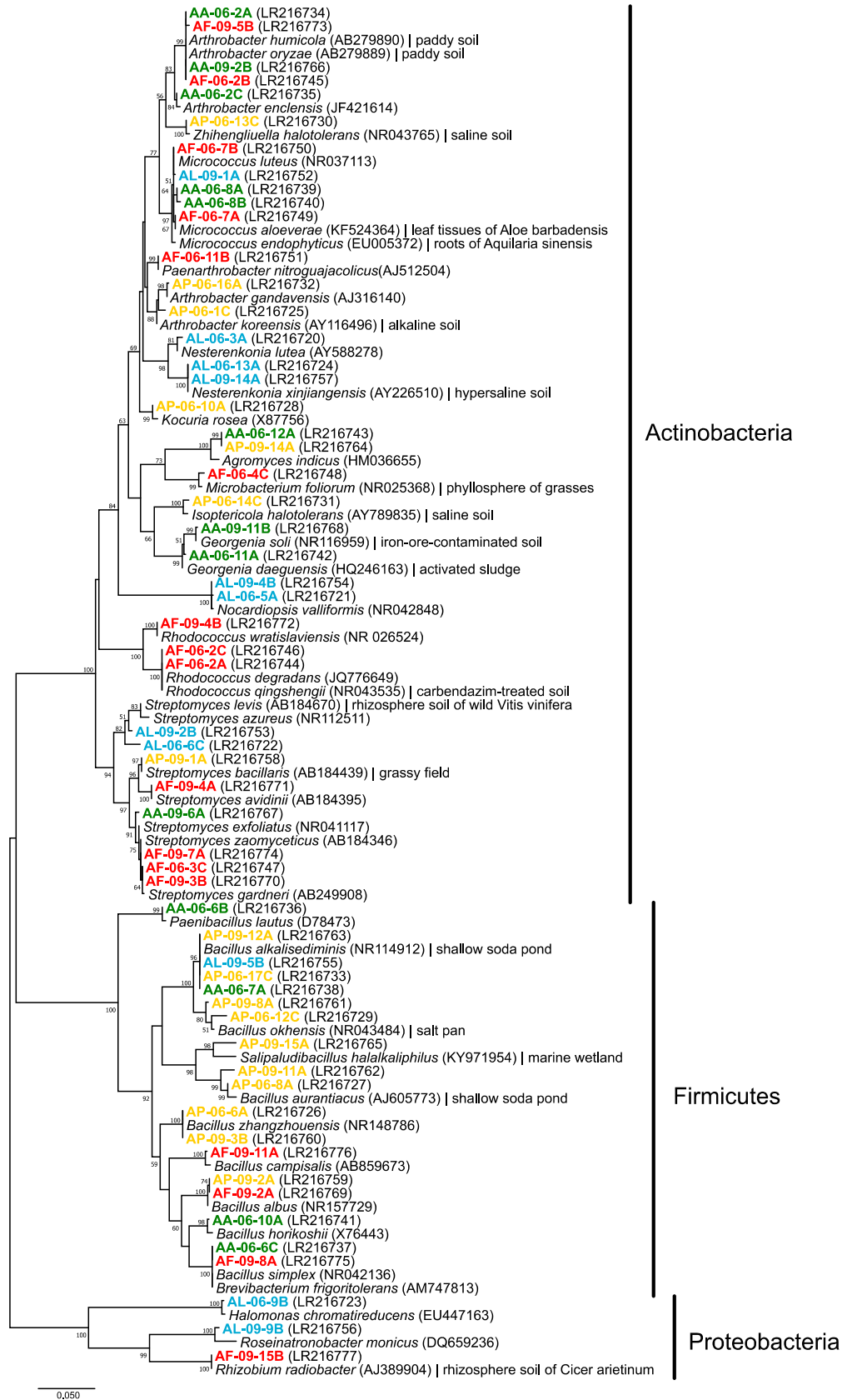
(A piros nyilak a mintavételi időpontokat jelzik. A hibásávok a csapadék napi eltéréseiből számított szórásokat mutatják. Az adatok a Magyar Meteorológiai Szolgálat nyilvános adatbázisából származnak.) A fényképeken a *Puccinellia* szikfok mintavételi hely látható a rendkívül száraz júniusi (alul balra) és a szokátnál nedves szeptemberi (alul jobbra) mintavételkor. (Fotó: Szili-Kovács Tibor)

Az időjárási körülményeknek megfelelően a talaj nedvességtartalma a júniusi szárazság idején rendkívül alacsony volt (átlagosan $0,16 \pm 0,02$ m/m%), szeptemberben ugyanakkor a nyár elejihez képest legalább tízszer magasabb értékeket (átlagosan $34,12 \pm 2,35$ m/m%) mértünk (Függelék 11.1-3. táblázat). Az aszályos júniusi mintavételkor a szikes talajok pH értéke az erősen lúgostól a semlegeshez közelire csökkent a vakszik (AL) – szikfok (AP) – ürmös puszta (AA) – füves szikes puszta (AF) mintavételi irányban haladva. Az extrém csapadékos szeptemberi mintavétel során a talaj pH-értékek minden mintavételi helyen lúgosak voltak, és a júniuséhoz képest sokkal kisebb különbségek mutatkoztak a mintavételi helyek között. A szikes talajokban mért fajlagos elektromos vezetőképesség (EC) értékek mindkét időpontban – a pH értékeknél júniusban megfigyelt változással megegyezően – erőteljesen csökkentek az AL–AP–AA–AF növénytársulási irányban. Ezzel szemben a talaj szerves anyag tartalma ugyanebben az irányban a többszörösére emelkedett. A szikes talajok CaCO_3 -tartalma a vaksziken (AL) és a szikfokon (AP) közel másfélszerese volt az ürmös (AA) és a szikes (AF) pusztán mért értékeknek, mintavételi időponttól függetlenül.

A kiszáradás-nedvesedés ciklusok hatását korábbi botanikai felmérések során részletesen vizsgálták a szikesek növényzetének mikromozaikos szerkezetére, és a legnagyobb eltéréseket – a jelen vizsgálati eredményekhez hasonlóan – a szikes talajok fajlagos elektromos vezetőképességi értékeiben és nedvességtartalmában találták (Molnár & Borhidi 2003; Zalatnai és mtsai 2007).

MicroResp vizsgálataink alapján a mikrobiális anyagcsere-profilok jelentősen különböztek a növénytársulások között; a vakszik (AL) és a szikfok (AP) minták mikroorganizmusai jóval kevesebb szubsztrátot hasznosítottak az ürmös- és szikes pusztai mintákhoz (AA és AF) képest. A legnagyobb EC és pH értékekkel jellemezhető vakszik mintákban mértük a legkisebb katabolikus aktivitást. A mintavételi helyek közötti anyagcsere aktivitásbeli különbségek elsődlegesen a talajminták eltérő EC értékeivel voltak magyarázhatók (*Függelék 11.2-4. ábra*). Korábban a KNP szikes víztereinek közelében különböző halofiton növénytársulásokban végzett alap- és szubsztrát-indukált respirációs, valamint MicroResp vizsgálatok is a növényzet rizoszféra környezetének sótartalmon és pH-n keresztül érvényesülő mikrobiális metabolikus aktivitást befolyásoló hatását igazolták (Bárány és mtsai 2014). Eredményeink összhangban vannak az Apaj térségében végzett középtávú vegetáció változásokat meghatározó abiotikus tényezők vizsgálatának eredményeivel is, melynek során a növényi borítás típusa a fajlagos elektromos vezetőképesség (EC) értékekkel mutatta a legjobb korrelációt (Tóth 2010). A kiszáradás-nedvesedés ciklus hatását elemezve a száraz (júniusi) szikes talajokban nagyobb katabolikus aktivitást mutattunk ki, mint a nedves (szeptemberi) talajokban. Erre a jelenségre az ún. „Birch-hatás” adhat magyarázatot, mely szerint a kiszáradást követő újranedvesedéskor a talaj biodegradálható szerves anyagának felszabadulása miatt megnövekszik a mikroorganizmusok tápanyag ellátottsága, amihez hozzájárul a „környezeti stressz” miatt elpusztult és lizált mikrobákból származó szerves anyagok újra hasznosításának a lehetősége is (Jarvis és mtsai 2007). Egy a mediterrán talajok mikrobiális közösségeinek ellenállóképességét MicroResp módszerrel vizsgáló kutatásban azt is leírták, hogy a kiszáradás mellett a hőstressz is jelentősen befolyásolta a katabolikus profilokat (Bérard és mtsai 2011). Ennek alapján valószínűsíthető, hogy nemcsak a kiszáradás-nedvesedés ciklus, hanem a nyár eleji mintavételünk során észlelt extrém hőstressz is hozzájárulhatott a kiskunsági szikesek mikrobaközösségeinek anyagcsere aktivitásában tapasztalt időbeli eltérésekhez.

A tenyésztéshez használt táptalajok összetételétől függetlenül, az 58 ARDRA csoportba sorolt, 240 tagú törzsgyűjteményünkre kétféle baktériumfaj jelenléte volt jellemző (*5.1-10. ábra*): egyrészt a tipikus növény-asszociált baktérium fajoké (pl. *Micrococcus aloeverae*, *Micrococcus endophyticus*, *Microbacterium foliorum*, *Streptomyces levis*, *Streptomyces bacillaris*, *Rhizobium radiobacter*), másrészt a halotoleráns, halofil és/vagy alkalofil fajoké (pl. *Zhihengliuella halotolerans*, *Arthrobacter koreensis*, *Nesterenkonia xinjiangensis*, *Isoptericola halotolerans*, *Bacillus aurantiacus*, *Bacillus alkalisediminis*), melyeket sós, hipersós és/vagy alkalikus élőhelyekről írtak le. Egy korábbi tanulmányunkban, a KNP szikes víztereinek közelében lévő sziki növények (*Bolboschoenus maritimus* és *Puccinellia limosa*) rizoszférájából szintén haloalkalofil *Bacillus*, *Nesterenkonia* és *Halomonas* fajok domináns előfordulásáról számoltunk be (Borsodi és mtsai 2015). A széleskörben elterjedt *Bacillus* fajokat gyakran izolálják sós és alkalikus élőhelyekről (beleértve a szikes talajokat is). A jelen kutatásban egy kivétellel valamennyi mintavételi helyről és időpontban kimutatott, alkalofil és mérsékelten halofil *B. aurantiacus* (Borsodi és mtsai 2008) és *B. alkalisediminis* (Borsodi és mtsai 2011) fajok típusörzseit a Fülöpszálláshoz közeli Kelemen-szék üledékéből (KNP) tenyésztettük ki és írtuk le. A *Bacillus* fajok változatos anyagcserével és jelentős biotechnológiai potenciállal rendelkeznek. Részt vehetnek a különféle elemek körforgalmában (pl. foszfát szolubilizálás, karbonát kicsapás vagy nitrogén fixáció révén), illetve különböző extracelluláris enzimek, antimikrobiális vegyületek és fitohormonok szintézisében is (Rivadeneira és mtsai 1993; Zahran 1997; Ma & Gong 2013; Trujillo-Cabrera és mtsai 2013; Prashar és mtsai 2014).



5.1-10. ábra Különböző kiskunsági szikes növénytársulások talajaiból tenyésztésbe vont baktériumtörzsek (színes jelöléssel) 16S rRNS gén szekvencia alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon baktériumfajok feltüntetésével (Borsodi és mtsai 2021) (Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 1 nukleotid subsztitúciót jelöl 50 nukleotidonként. Szín- és betűkódok: kék, AL, vakszik; sárga, AP, szikfok; zöld, AA, ürmös puszta; piros, AF, szikes puszta.)

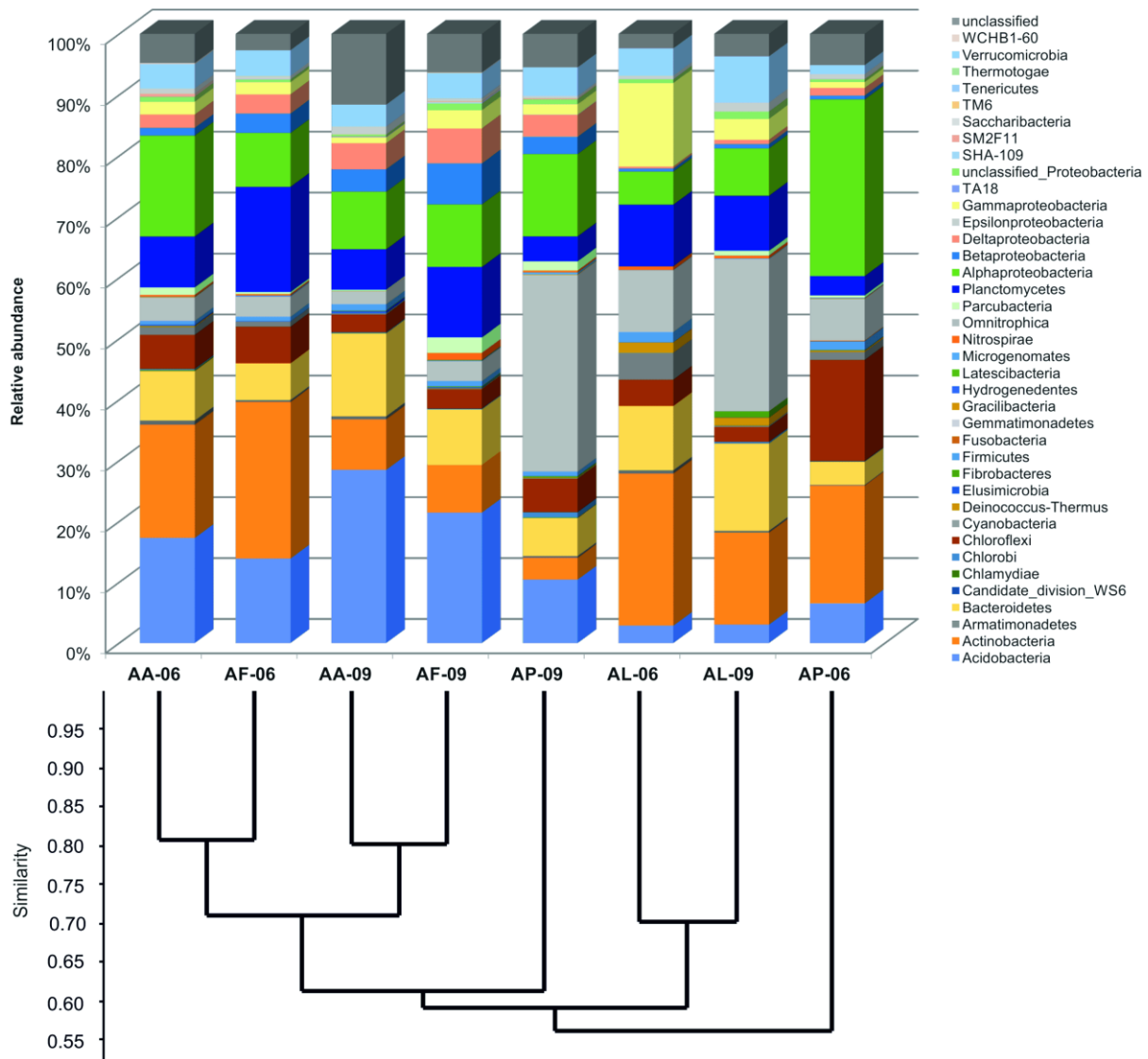
Az általunk tenyésztésbe vont *Streptomyces* fajok is tipikus talajlakók, amelyek elviselik az extrém környezeti tényezőket (pl. a talaj sótartalmát). Emellett számos extracelluláris enzim és bioaktív molekula (pl. fitohormonok, sziderofórok, antibiotikumok) szintézisére való képességük révén növényi növekedést serkentő rizobaktériumoknak (PGPR-nek) is tekinthetők (Fourati-Ben Fguira és mtsai 2005; Sajid és mtsai 2009; Trujillo-Cabrera és mtsai 2013). A kiskunsági szikes talajokból kitenyésztett *Bacillus* és *Streptomyces* fajok nagy taxonómiai diverzitása (5.1-10. ábra) nem csak pl. az endospóra és az artrospóra képzésük révén megvalósuló zord környezeti körülményeket toleráló képességükkel hozható összefüggésbe, hanem azzal is, hogy a szikes talajok nagy sókoncentrációja elősegítheti másodlagos metabolitjaik szintézisét (Sadeghi és mtsai 2012).

A *Nesterenkonia* és a *Halomonas* nemzetségek képviselői (5.1-10. ábra) a KNP szikes talajaiból korábban is izolált baktériumok közé tartoznak (Borsodi és mtsai 2015), de más hasonló élőhelyről is kimutatták őket pl. a kínai Daqingban található alkalikus-sós legelőkről (Peng és mtsai 2017). Jelen kutatásunk során az aerob szaprotróf *Arthrobacter* fajokba sorolt törzseket főként a nagyobb szerves anyag tartalmú talajmintákból tenyésztettük ki. Eredményeinkhez hasonlóan, az *Arthrobacter* izolátumokat az egyik fő cellulóz-lebontónak találták a nagy humusztartalmú alkalikus-sós chinampa talajokban (Trujillo-Cabrera és mtsai 2013). Kiskunsági izolátumaink között további aerob kemoorganotróf baktériumok is széleskörű metabolikus potenciállal rendelkezettek. Irodalmi adatok alapján pl. a *Rhodococcus degradans* (Svec és mtsai 2015) poliklórozott bifenilek és kis molekulású políciklusos aromás szénhidrogének, a *Rhodococcus qingshengii* (Xu és mtsai 2007) karbendazim, a *Georgenia daeguensis* (Woo és mtsai 2012) klórbenzol bontására képes.

A 16S rRNS gén alapú piroszekvenálás a nyolc talajmintából összesen 29 820 minőségileg szűrt, átlagosan 320 nukleotid hosszúságú szekvenciát eredményezett (Függelék 11.1-4. táblázat). A Good-féle lefedettség becslő indexek alapján a szekvenálás mélysége megfelelő volt a minták baktérium diverzitásának feltárásához. A diverzitási (pl. inverz Simpson) és a fajgazdagsági (pl. Chao1, ACE) indexek mintafüggő különbségeket jeleztek. A piroszekvenálási adatok alapján az átlagos OTU-szám (operációs taxonómiai egység) júniusban (540 ± 173) és szeptemberben (536 ± 113) közel azonos volt. Ehhez a 16S rRNS gén szekvenciák közötti 97%-os hasonlóságnál meghatározott faji-szintű küszöbértékét vettük alapul (Stackebrandt & Goebel 1994; Tindall és mtsai 2010; Kim és mtsai 2014). Az OTU-k száma ugyanakkor mindkét mintavételi időpontban növekedést mutatott az AL-AP-AA-AF növénytársulások irányában. A becsült OTU értékek átlagosan négyszer kisebbek voltak a vakszik (AL) és a szikfok (AP) mintákban, mint az ürmös- (AA) és a szikes (AF) pusztai mintákban.

A szikes talajmintákból azonosított 38 törzs és kandidátus divízió közül 10 fordult elő valamennyi általunk vizsgált mintában (5.1-11. ábra). A kiszáradás-nedvesedés ciklus során (június vs. szeptember) a leggyakoribb Proteobacteria (23% vs. 19%), Actinobacteria (22% vs. 9%), Acidobacteria (9% vs. 18%), Gemmatimonadetes (6% vs. 14%) és Bacteroidetes (7% vs. 12%) törzsekbe sorolt szekvenciák aránya jelentősen különbözött egymástól. A leggyakoribb baktériumtörzsek megoszlásában jelentős átfedés mutatkozott a KNP szikes növénytársulásainak talaja és a szicíliai Piana del Signore (Olaszország) szintén mozaikos vegetációval borított, mediterrán, tengerparti sós talaja között (Canfora és mtsai 2014). Ugyanezen törzsek (Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria és Bacteroidetes) dominanciáját írták le sós talajokból származó nyilvánosan elérhető baktérium szekvenciák metaanalízise során is (Ma & Gong 2013). A kiskunsági szikes talajokban az Acidobacteria és az Actinobacteria törzsek képviselői voltak a kiszáradás-nedvesedés ciklus által leginkább befolyásolt taxonok, relatív abundancia értékeik nagyfokú, de egymással ellentétes irányú időbeni változása alapján. Az extrém száraz koranyári időszakhoz képest a szélsőségesen nedves nyárvégi periódusra az Acidobacteria részaránya jelentősen megemelkedett, míg az Actinobacteria gyakorisága nagymértékben lecsökkent (5.1-11. ábra). Egy kaliforniai félszáraz füves terület kiszáradás-nedvesedés ciklusának a talaj mikroorganizmusokra gyakorolt hatását elemző kutatás során szintén az Acidobacteria és az

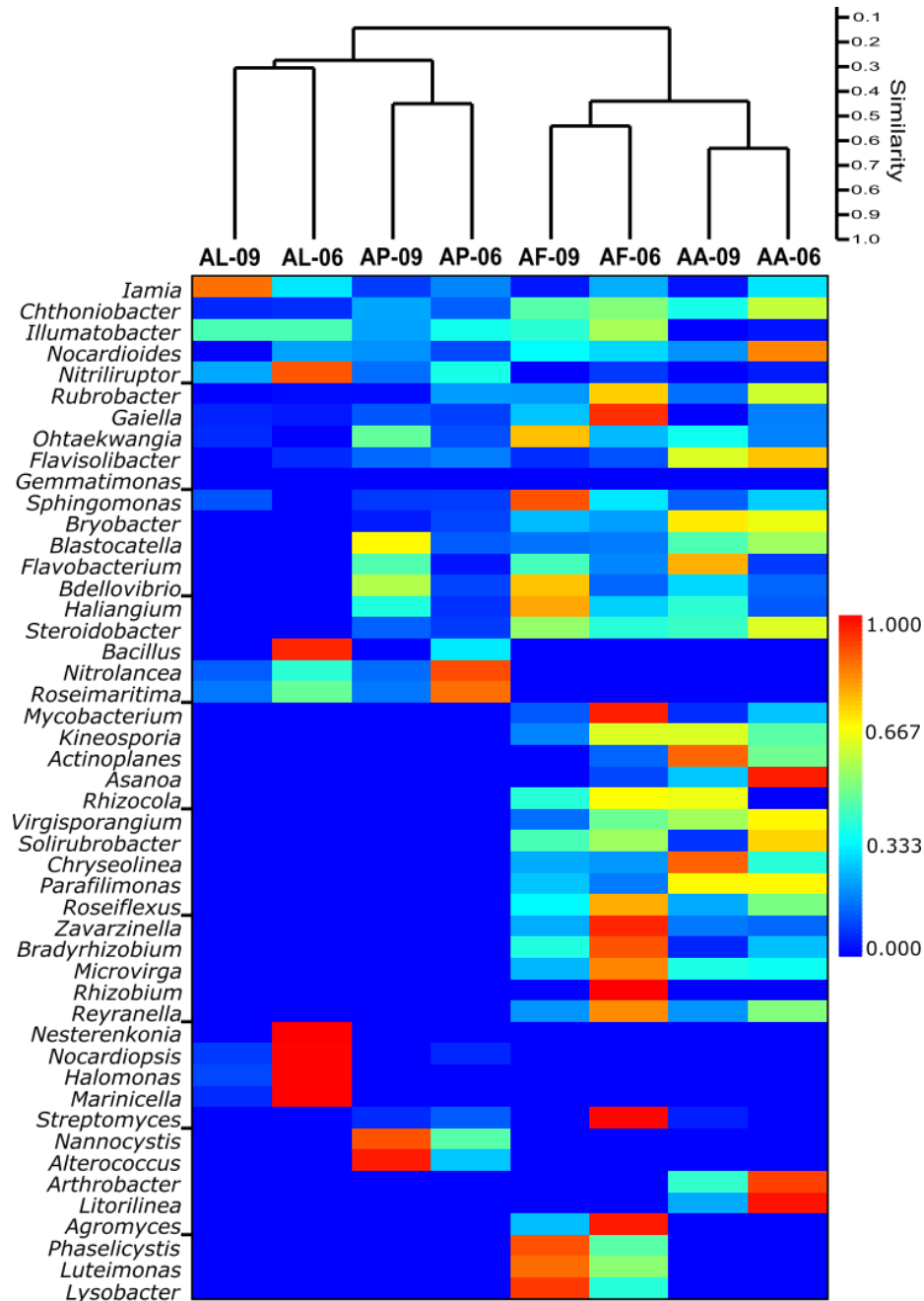
Actinobacteria törzsek tagjait találták a leggyakoribb és potenciálisan a legaktívabb közösségalkotóknak (Barnard és mtsai 2013). Az Acidobacteria törzs relatív abundancia viszonyai a KNP talajmintákban azonban nem csak az időjárási szélsőségek, hanem a vegetáció típusa szerint is változtak; arányuk a talaj szerves anyag tartalmának növekedésével és a fajlagos elektromos vezetőképesség csökkenésével párhuzamosan – vagyis az AL–AP–AA–AF növénytársulások irányában – emelkedett. A Gemmatimonadetes törzs képviselőnek a részesevé (különösen az újra nedvesedés alkalmával) sokkal nagyobb volt a vakszik és a szikfok mintákban, mint az ürmös- és szikes pusztai talajmintákban (5.1-11. ábra). Egy nagy áteresztőképességű piroszekvenálással végzett összehasonlító vizsgálatban, amelyet eltérő földhasználatú alkalkikus-sós talajokon végeztek, hasonlóan erős korrelációt figyeltek meg a talaj tulajdonságai (pl. pH, víztartalom, elektromos vezetőképesség és szervesanyag-tartalom) és a földhasználat, valamint a baktérium törzsek relatív abundanciája között; a Gemmatimonadetes törzs aránya a füves talajokban nagyobb volt, mint a mezőgazdasági és erdőtalajokban (Peng és mtsai 2017).



5.1-11. ábra Különböző kiskunsági szikes növénytársulások talajaiból származó 16S rRNS gén amplikon-szekvenciák százalékos megoszlása az azonosított törzsek és kandidátus divíziók között, valamint az OTU-k eloszlása alapján szerkesztett Bray–Curtis hasonlósági index alapú klaszteranalízis eredménye (Borsodi és mtsai 2021)

(Minta jelölések: AL – vakszik; AP – szikfok; AA – ürmös puszta; AF – szikes puszta; 06 – június; 09 – szeptember.)

Tenyésztésen alapuló kutatási eredményeinkkel összhangban, a piroszekvenálás is főként alkalikus és sós élőhelyekről (pl. talajokból, tengervízből, szikes tavakból) leírt növény-asszociált vagy halofil és/vagy alkalofil baktérium nemzetségekkel rokon filotípusok jelenlétét igazolta mintáinkban (5.1-12. ábra). Számos nemzetség (pl. *Nocardioides*, *Nitriliruptor*, *Rubrobacter*, *Gaiella*) képviselői ubikvisták voltak a kiskunsági szikes talajokban, míg mások (pl. *Mycobacterium*, *Kineosporia*, *Actinoplanes*, *Asanoa*, *Rhizocola*, *Virgisporangium*, *Solirubrobacter*) elsősorban a nagyobb növényborítottaságú és nagyobb szerves anyag tartalmú ürmös- és szikes puszta (AA és AF) mintákra voltak jellemzők. Ezek a baktériumok valamennyien aktívan részt vehetnek a különböző szerves anyagok lebontásában, és a talajban végbemenő nitrogén- és foszfor-forgalmi folyamatokban.



5.1-12. ábra Különböző kiskunsági szikes növénytársulásokból származó talajmintákból 16S rRNS gén alapú piroszekvenálással feltárt baktérium nemzetségek hasonlósági hőtésképe (Borsodi és mtsai 2021) (Minta jelölések: AL – vakszik; AP – szikfok; AA – ürmös puszta; AF – szikes puszta; 06 – június; 09 – szeptember.)

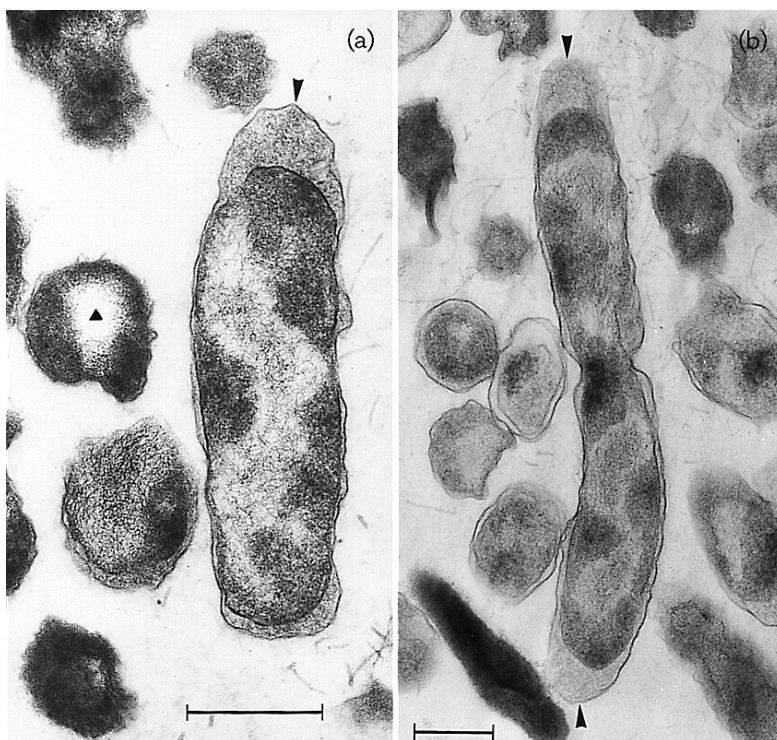
A szikfok mintákból pl. nagy gyakorisággal azonosítottunk *Defluviicoccus* (Rhodospirillales) nemzetségbe tartozó szekvenciákat. Ez a glikogén-felhalmozására is képes baktérium gyakori tagja szennyvíztisztító telepek eleven iszapjának (McIlroy & Seviour 2009). A *Sphingomonas* nemzetségbe (Sphingomonadales) sorolt szekvenciák minden szikes talajmintánkban jelen voltak. Ennek a nemzetségnek tagjai a természetben széleskörben elterjedtek, pl. különböző növények rizoszférájában (Takeuchi és mtsai 1995) vagy szennyezett talajokban (Leys és mtsai 2004), ahol különféle szerves anyagok (pl. akár policiklusos aromás szénhidrogének) lebontásában is részt vehetnek. A piroszekvenálással kimutatott *Bradyrhizobium* és *Microvirga*, valamint a tenyésztéssel azonosított *Rhizobium* nemzetségek (Rhizobiales) képviselői, mint potenciális nitrogén fixálók játszhatnak szerepet az ürmös- és szikes puszta talajok nitrogén körforgalmában. Csaknem minden kiskunsági szikes talajmintából kimutattunk *Gemmatimonas* nemzetséghez (Gemmatimonadales) tartozó filotípusokat. Ennek a nemzetségnek a tagjai a különböző talajokban, beleértve az extrém környezeteket is, ubikvista előfordulásúak (Niederberger és mtsai 2008; Wilhelm és mtsai 2011; Ma & Gong 2013). A *Gemmatimonas* nemzetség polifoszfat felhalmozásra képes típusfaját egy biológiai foszfor eltávolításra használt szennyvíztisztító reaktorból írták le (Zhang és mtsai 2003). Kutatásunk során a *Lysobacter* (Lysobacterales) nemzetségbe tartozó szekvenciákat csak a füves szikes pusztai (AA) talajmintából azonosítottuk. Ezt a baktériumot korábban domináns közösség alkotóként írták le a jeruzsálemi articsóka (*Helianthus tuberosus*) rizoszféra talajában (Yang és mtsai 2016). A *Lysobacter* nemzetség tagjai nemcsak kolonizálják a különböző növények gyökérzetét, hanem specifikus anyagcsere tulajdonságaik (pl. antibiotikum, extracelluláris enzim és biológiailag aktív anyagcsere-termékek szintézise) révén megakadályozhatják a növényi kórokozók szaporodását (Sullivan és mtsai 2003).

Kutatási eredményeink rávilágítottak arra, 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 van 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 anyagcsere aktivitására és taxonómiai összetételére, mint az időjárási szélsőségek. Az extrém időjárási körülmények hatásai egyes taxonómiai csoportok (elsősorban az acidobaktériumok és az aktinobaktériumok) relatív abundanciájának változásában mutatkoztak meg. A különböző növénytársulású szikes talajok baktériumközösségeit növény-asszociált, valamint alkalofil és/vagy halofil baktériumtaxonok dominálták (Borsodi és mtsai 2021).

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

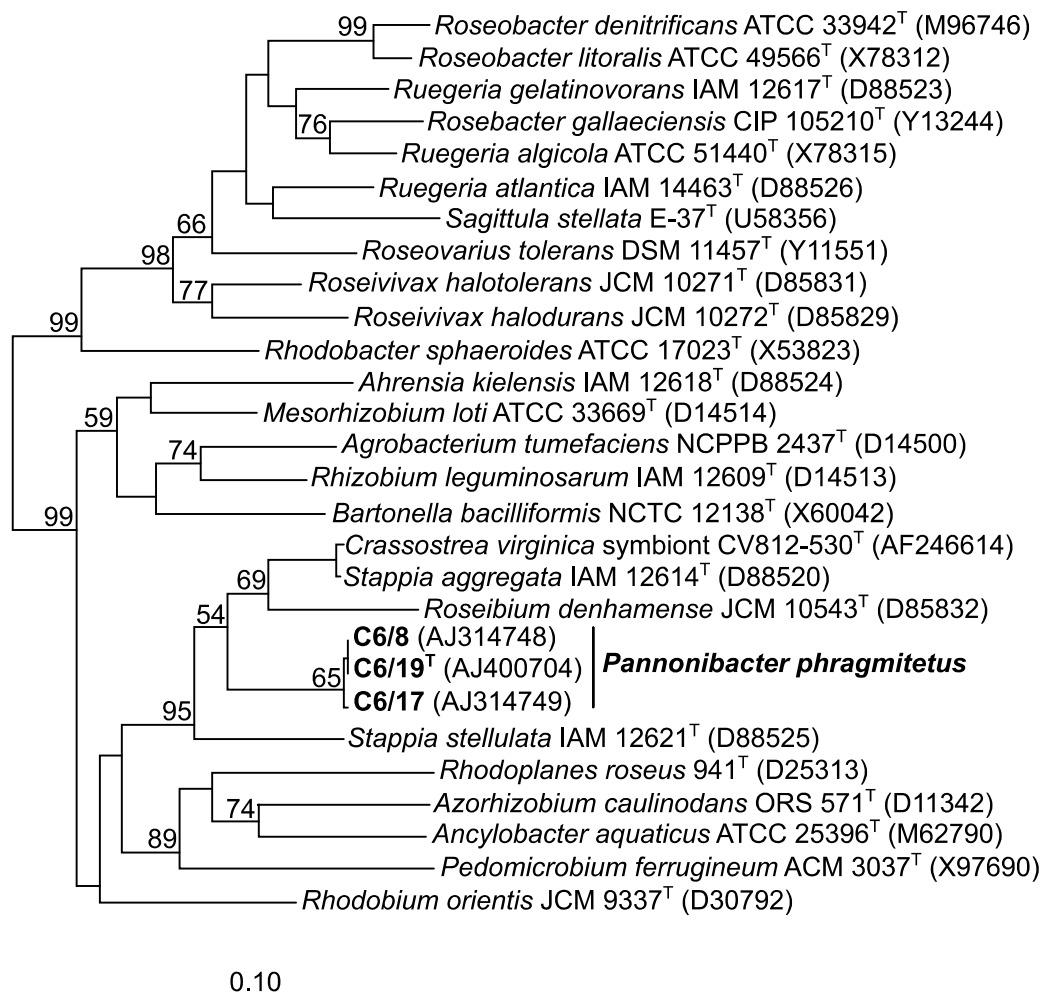
A hazai szikes élőhelyek környezeti körülményeihez alkalmazkodott extrémofil baktériumközösségek tenyésztésen alapuló vizsgálata során több törzset is jellemeztünk a bakteriológiai fajleírásban előírt polifázikus taxonómiai megközelítéssel (Vandamme és mtsai 1996; Prakash és mtsai 2007), majd azokat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

Elsőként a Fertőből nádnövény (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. et Steudel) bomló rizómájának felületéről izolált alkalitoleráns baktériumtörzseket írtuk le *Pannonibacter phragmitetus* gen. nov., sp. nov. néven (Borsodi és mtsai 2003a). (A Pan.no.ni.bac'ter. L. n. *Pannonia* elnevezés a mai Magyarország területének egy részét képező egykori római tartományra és az itt található sekély, szikes ún. Pannon tavakra utal.) A *Pannonibacter* gen. nov. nemzetséget három törzs (C6/19^T, C6/8 és C6/17) tulajdonságai alapján jellemeztük. Ezek a tenyésztéshez használt cellulóz tartalmú módosított Horikoshi-féle alkalikus (DSMZ 940) táptalajon kör alakú, épszélű, sima, domború, átlátszatlan és fehéres-bézs színű telepeket képeznek. Egyenes pálca alakú sejtjeik Gram-negatívan festődnek, poláris csillókkal rendelkeznek, tartalék tápanyagként poli-hidroxi-alkanoátot tartalmaznak és nem képeznek endospórákat (5.1-13. ábra). Fakultatív anaerobok és kemo-organotrófok. Aerob körülmények között nem szintetizáltak Bchl a-t. A D-glükózt savtermeléssel fermentálják, de gázt nem képeznek. Oxidáz és kataláz pozitívok. A nitrátot nitrogénné redukálják. Fő zsírsav összetevőjük a C_{18:1}ω7c, fő poláris lipidjei a foszfatidil-glicerin, a foszfatidil-amin és a foszfatidil-szerin. Fő légzési kinon komponensük a Q-10. A DNS G+C tartalma 64,6 mol%. A nemzetség a Proteobacteria törzs Alphaproteobacteria osztályának tagja. Típusfaja a *Pannonibacter phragmitetus*. A *Pannonibacter* nemzetségnek az értekezés írásakor 4 faja volt [1].



5.1-13. ábra A *Pannonibacter phragmitetus* gen. nov., sp. nov. C6/19^T törzs Gram-negatív pálca alakú sejtjének hosszanti metszetéről készült TEM felvétel (Borsodi és mtsai 2003a) (A nyíl a sejt végén található sapka-szerű struktúrát jelzi. A háromszöggel jelölt kerek világos terület PHA zárványt jelöl. A méretvonal 0,5 μm.)

A *Pannonibacter phragmitetus* sp. nov. C6/19^T jelzésű típusörzse a nemzetségre jellemző tulajdonságokon kívül a **Függelék 11.1-1. táblázatban** feltüntetett főbb fenotípusos jellemzőkkel bír. A típusörzse széles, pH 7,0 és 11,0 közötti toleranciával és pH 9,0-10,0 közötti optimummal rendelkezik. Növekedésének hőmérsékleti tartománya 10 °C és 37 °C, optimuma 22 °C és 28 °C között van. NaCl hiányában, de akár 5%-os (m/V) NaCl koncentrációnál is szaporodik. A C6/19^T típusörzse, valamint a C6/8 és a C6/17 törzsek közötti DNS-DNS hibridizációs értékek, valamint a 16S rRNS gén szekvencia hasonlósági értékek is megerősítették, hogy mindhárom törzs ugyanahhoz a fajhoz tartozik (**5.1-14. ábra**). Legközelebbi rokonaik a *Stappia aggregata*, a *Stappia stellulata* és a *Roseibium denhamense* fajok a 16S rRNS gén bázissorrend elemzése alapján mindössze 95,8%-os, 94,2%-os és 93,6%-os szekvencia egyezést mutattak a C6/19^T típusörzsszel (Borsodi és mtsai 2003a).



5.1-14. ábra A *Pannonibacter phragmitetus* gen. nov., sp. nov. C6/19^T, C6/8 és C6/17 törzseinek és a legközelebbi rokon fajok típusörzseinek 16S rRNS gén alapú neighbor-joining algoritlussal készült törzsfája (Borsodi és mtsai 2003a)

(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 10 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

Egy új faj, különösen egy új extrémofil baktériumfaj leírásakor a vizsgált nagyszámú fenotípusos és genotípusos tulajdonság ellenére sem tudhatjuk még pontosan, hogy később (vagy akár már előbb is) milyen gyakorlati (pl. ipari, biotechnológiai, klinikai) vagy akár taxonómiai jelentőséggel bír. Így volt ez a *Pannonibacter phragmitetus* gen. nov., sp. nov. esetében is. Először 2006-ban, Holmes és mtsai (2006) számoltak be arról, hogy az általunk *P. phragmitetus*-ként leírt baktériumot már 1975 óta

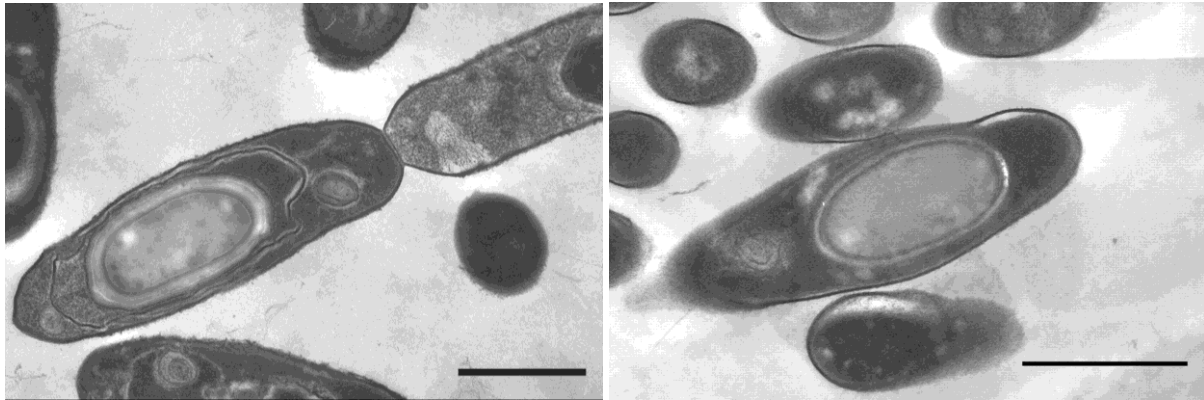
ismerték az Egyesült Királyságban és az *Achromobacter* B és E csoportjaként azonosították humán hemokultúrákból. Részletes polifázikus taxonómiai összehasonlító vizsgálatokkal – beleértve a 16S rRNS gén szekvenálást, a DNS-DNS hibridizációt, a DNS G+C mol% meghatározást, a celluláris zsírsav profil elemzést, a biokémiai tesztek – igazolták, hogy az *Achromobacter* B és E csoportba sorolt izolátumok és az általunk leírt *P. phragmitetus* egy és ugyanaz a faj (Holmes és mtsai 2006). A *P. phragmitetus* tehát klinikai jelentőséggel is bír, hiszen súlyos véráram fertőzéseket okozhat embereken. Már eddig is több esetben számoltak be *P. phragmitetus* (*Achromobacter* B és E) által okozott fertőzésről, köztük egy műbillentyű endokarditiszről (McKinley és mtsai 1990), két esetben szeptikémiáról (Holmes és mtsai 1992), egy esetben visszatérő szeptikémiáról (Jenks & Shaw 1997), és egy májtályoggal küzdő beteg véráram fertőzéséről (Wang és mtsai 2017). A 31801 jelzésű izolátum metagenomikai elemzésével Zhou és mtsai bizonyították, hogy a *P. phragmitetus* egy multirezisztens opportunistá patogén baktérium, mely számos virulencia faktort és több antibiotikum családdal szembeni rezisztencia gént is tartalmaz (Zhou és mtsai 2017).

Úgy tűnik ugyanakkor, hogy a *Pannonibacter* nemzetség képviselői poliextremofilek, melyek különféle extrém élőhelyeken képesek túlélni, pl. az alkalikus és sós környezetek mellett hévforrásokban is. Egy indiai hévforrás üledékéből írták le a *Pannonibacter* nemzetség egy alkalitoleráns és arzén rezisztens fajtát, *P. inducus* sp. nov. néven (Bandyopadhyay és mtsai 2013). Napjainkban a *P. phragmitetus* fajjal kapcsolatos kutatások elsősorban az izolátumok bioremediációs potenciáljának a kiaknázására irányulnak, beleértve a Cr(VI) redukcióját és a policiklusos aromás szénhidrogének (PAH) detoxifikálását extrém környezeti feltételek között. A *P. phragmitetus* fajnak például egy olyan törzsét izolálták, mely képes volt a Cr(VI) teljes redukciójára anaerob körülmények között, ezáltal alkalmas lehet kromáttal szennyezett alkalikus talajok és vizek bioremediációjára (Shi és mtsai 2012). A LSSE-09 jelzésű *P. phragmitetus* törzsről bebizonyosodott, hogy Cr(VI) redukciós képessége (pH 9,0-ig) lúgos kémhatású környezetben sem csökken (Xu és mtsai 2012). A BB jelzésű *P. phragmitetus* törzs redukciós képességét egészen 500 mg l⁻¹ Cr(VI) koncentrációig megőrizte (Chai és mtsai 2009).

A Kiskunsági Nemzeti Park szikes vizes élőhelyeiből tenyésztésbe vont izolátumaink közül a Firmicutes törzs tagjaként a *Bacillus aurantiacus* sp. nov. (Borsodi és mtsai 2008), a *Bacillus alkalisediminis* sp. nov. (Borsodi és mtsai 2011), a *Bacillus kiskunsagensis* sp. nov. (Borsodi és mtsai 2017c) és az *Anaerobacillus alkaliphilus* sp. nov. (Borsodi és mtsai 2019), az Actinobacteria törzs tagjaként a *Cellulomonas phragmiteti* sp. nov. (Rusznyák és mtsai 2011) és a *Nesterenkonia pannonica* sp. nov. (Borsodi és mtsai 2017b), a Proteobacteria törzs tagjaként a *Nitrincola alkalilacustris* sp. nov. (Borsodi és mtsai 2017a) alkalofil és mérsékelt halofil típusú törzseket írtuk le a tudományra nézve új extremofil baktérium fajokként.

Az első aerob alkalofil, endospóra képző baktériumfaj, a *Bacillus alcalophilus* (Vedder 1934) leírása óta számos eltérő sótoleranciával jellemezhető, fakultatív és obligát alkalofil *Bacillus* fajt írtak le polifázikus taxonómiai módszerekkel (Nielsen és mtsai 1995; Fritze 1996; Yumoto és mtsai 2003, 2005; Nowlan és mtsai 2006). Az új évezredben több új, fenotípusos és genotípusos tulajdonságaik alapján nem koherens alkalofil *Bacillus* fajt írtak le szikes környezetekből. A teljesség igénye nélkül ide sorolható pl. a *B. alkalicola* (Zhai és mtsai 2014), a *B. alkalinitrilicus* (Sorokin és mtsai 2008a), a *B. bogoriensis* (Vargas és mtsai 2005), a *B. caseinilyticus* (Reddy és mtsai 2015b), a *B. chagannorensis* (Carrasco és mtsai 2007), a *B. daliensis* (Zhai és mtsai 2012), a *B. lindianensis* (Dou és mtsai 2016) és a *B. lonarensis* (Reddy és mtsai 2015a). Az alkalofil és/vagy halofil *Bacillus* fajok nemcsak specifikus adaptációs mechanizmusuknak köszönhetően, hanem az alkalikus és/vagy sós környezetben stabil és aktív extracelluláris enzimjeik potenciális biotechnológiai alkalmazása miatt is nagy jelentőséggel bírnak (Horikoshi 1999; Van den Burg 2003; Nogi és mtsai 2005; Sarethy és mtsai 2011; Preiss és mtsai 2015). A *Bacillus* az egyik legnépesebb baktérium nemzetség, az értekezés írásakor 2453 fajjal és 121 alfajjal rendelkezett [2].

A *Bacillus aurantiacus* faj K1-5^T jelzésű típus törzsét a Kelemen-szék üledékfelszíni rétegéből vett mintából tenyésztettük ki módosított tengervizes (DSMZ-246) táptalajon (Borsodi és mtsai 2008). A *B. aurantiacus* fajnevét (au.ran.ti.a'cus N.L. masc. adj. *aurantiacus*) a tenyésztéséhez használt táptalajon fejlődő aranyárgás-narancs színű telepekről kapta. Sejtjeik Gram-pozitív festődésű, mozdulatlan, egyenes pálcák, melyek centrálístól szubterminális elhelyezkedésű, ellipszoidális, nem deformáló endospórát képeznek (5.1-15. ábra).



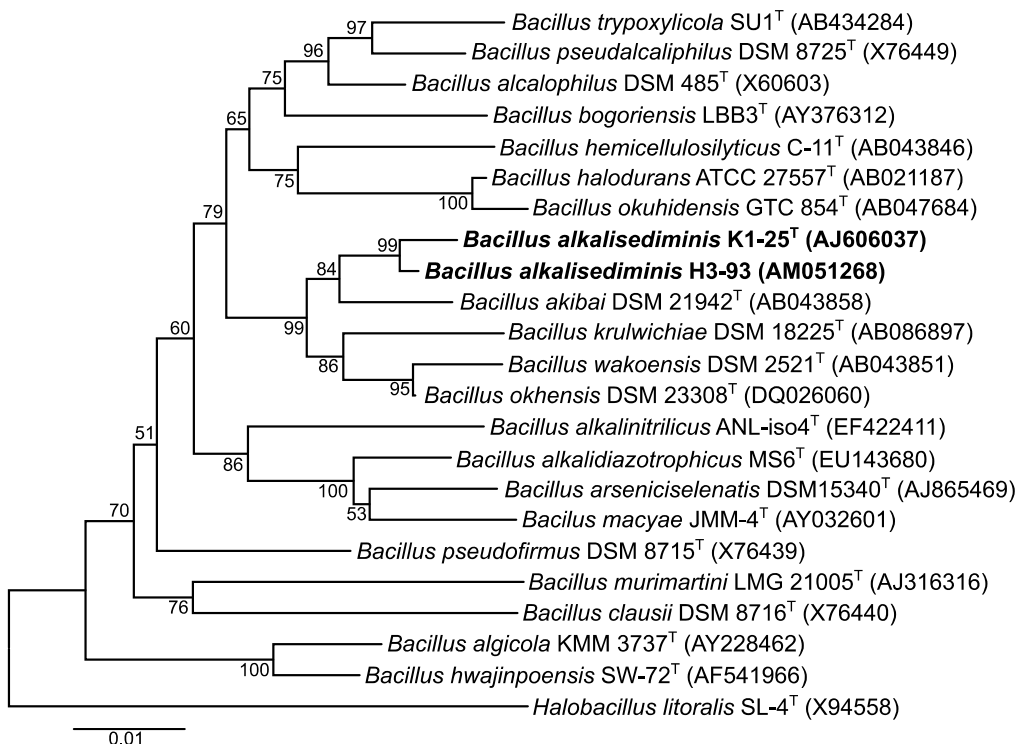
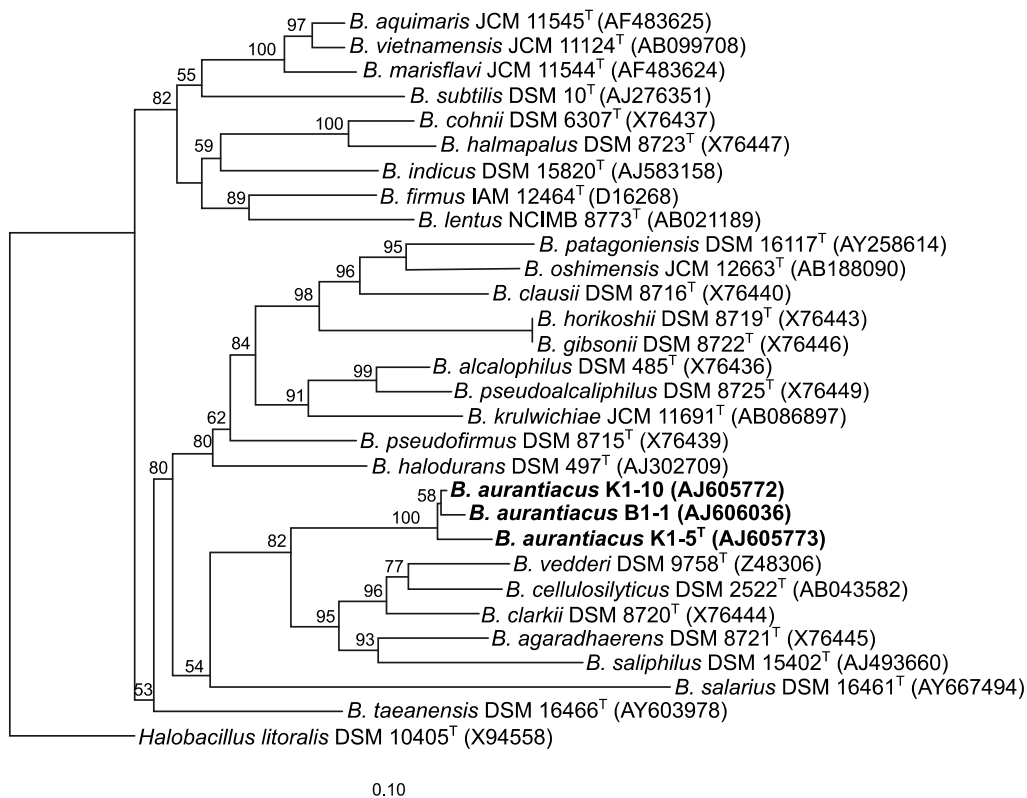
5.1-15. ábra A *Bacillus aurantiacus* sp. nov. K1-5^T törzs (balra) (Borsodi és mtsai 2008) és a *Bacillus alkalisediminis* sp. nov. K1-25^T törzs (jobbra) (Borsodi és mtsai 2011) centrálístól szubterminális elhelyezkedésű, ellipszoidális endospórát tartalmazó, pálcá alakú sejtjének hosszanti metszetéről készült TEM felvéte (A méretvonal 1 μ m.)

A típus törzs anyagcseréje obligát aerob. Kataláz-pozitív, oxidáz-negatív. Részletes fenotípusos és enzimátikus tulajdonságait a Függelék 11.1-1. táblázata tartalmazza. Az alkalofil típus törzs pH tartománya 8,0-12,0 közötti. Optimális szaporodást pH 9,5-10,0 között és 3-7% (m/V) NaCl koncentrációnál mutat. A 10 °C és 45 °C közötti hőmérsékleti tartományban szaporodó típus törzs optimuma 28 °C. Zsír sav profiljának jellemző komponensei az anteizo-C_{15:0}, az izo-C_{15:0} és az anteizo-C_{17:0} zsírsavak. A sejt fal peptidoglikánja mezo-diamino-pimelinsavat tartalmaz. A típus törzs DNS-ének G+C tartalma 42,9 mol%. A Kimura kétparaméteres modell alkalmazásával, neighbour-joining módszerrel szerkesztett filogenetikai fán látható, hogy az általunk izolált K1-5^T, K1-10 és B1-1 törzsek 96% alatti szekvencia hasonlósággal képeztek közös csoportot a *B. clarkii* DSM 8720^T (94,7-95,8%), a *B. cellulosityticus* N-4^T (94,5-95,7%), a *B. vedderi* JaH^T (94,3-95,4%), a *B. agaradhaerens* DSM 8721^T (93,9-95,2%) és a *B. saliphilus* 6AG^T (92,2-93,3%) fajok típus törzsével (5.1-16. ábra).

Az általunk *B. aurantiacus* sp. nov. leírt új faj (Borsodi és mtsai 2008) nemrégiben jelentős taxonómiai revízió esett át, >300 *Bacillus* faj metagenomikai-szintű filogenetikai elemzése és klád-specifikus protein konzervatív szignatúra inzerció/deléción (CSI) szekvenciák azonosítása alapján (Gupta és mtsai 2020). Az újonnan javasolt *Alteribacter* monofiletikus klád három genomszekvenált fajt (*B. aurantiacus*, *B. natronophilus* és *B. populi*) tartalmaz. Ennek a kládnak az elkülönítését öt csak ezekre a fajokra jellemző CSI (pl. a foszfatidil-szerin dekarboxiláz két aminosav inzerció szekvenciája) támasztja alá. Az *Aurantiacus* kládba tartozó három fajt az *Alteribacter* gen. nov. nemzetségként, típusfaját az *Alteribacter aurantiacus* comb. nov. fajként írták le (Gupta és mtsai 2020).

A *Bacillus alkalisediminis* sp. nov. faj K1-25^T jelzésű típus törzsét szintén a Kelemen-szék üledékéből gyűjtött mintából izoláltuk módosított tengervizes (DSMZ-246) táptalajról (Borsodi és mtsai 2011). A faj elnevezése (al'ka.li.se.di.mi'nis. N.L. n. *alkali*; L. gen. n. *sediminis*) az alkalikus kémhatású tavi üledékre utal, amiből a törzset kitenyésztettük. A telepek krémbarna színűek, simák és domborúak. Sejtjeik Gram-pozitív festődésű, mozdulatlan, egyenes pálcák, melyek centrálístól szubterminális elhelyezkedésű, ellipszoidális, enyhén deformáló endospórát képeznek (5.1-15. ábra).

kerine.borsodi.andrea_3_22

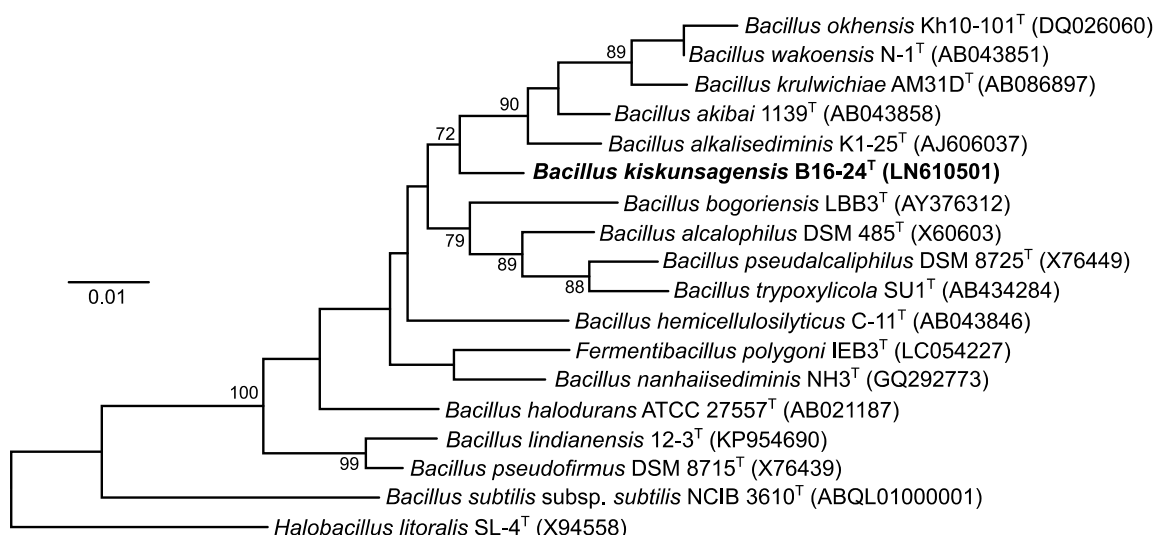


5.1-16. ábra A *Bacillus aurantiacus* sp. nov. K1-5^T, K1-10 és B1-1 törzseinek (felül) (Borsodi és mtsai 2008), és a *Bacillus alkalisediminis* sp. nov. K1-25^T és H3-93 törzseinek (alul) (Borsodi és mtsai 2011) a legközelebbi rokon fajok típus-törzseivel 16S rRNS gén alapon neighbor-joining algoritmussal szerkesztett törzsfája

(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 10 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

A típusörzs anyagcseréje obligát aerob. Kataláz-pozitív, oxidáz-negatív. Részletes fenotípusos és enzimátikus tulajdonságait a *Függelék 11.1-1. táblázata* tartalmazza. A fakultatív alkalofil típusörzs pH 7,0-12,0 tartományban szaporodik, optimálisan pH 9,0 értéken. Növekedéséhez 2-10% (m/V) NaCl koncentrációt igényel, optimális szaporodást 5%-nál mutat. Szaporodásának hőmérsékleti tartománya 15 °C és 37 °C között van, optimuma 25-28 °C. Zsírsvav profiljának jellemző komponensei az anteizo-C_{15:0} és az izo-C_{15:0} zsírsvavak. A sejtfal peptidoglikánja mezo-diamino-pimelinsavat tartalmaz. A típusörzs DNS-ének G+C tartalma 36,3-39,0 mol%. A Kimura kétparaméteres modell alkalmazásával, neighbour-joining módszerrel szerkesztett filogenetikai fán az általunk tenyésztésbe vont K1-25^T és H3-93 törzsek 98% alatti szekvencia hasonlóságot mutattak a *B. akibai* 1139^T (97,8-98,3%), a *B. okhensis* Kh10-101^T (97,1-97,4%), a *B. wakoensis* N-1^T (97,0-97,4%) és a *B. krulwichiae* AM31D^T (96,9-97,1%) típusörzsekkel (**5.1-16. ábra**).

A *Bacillus kiskunsagensis* sp. nov. B16-24^T jelzésű típusörzsét a kiskunsági Böddi-szék partmenti *Bolboschoenus maritimus* rizoszférájából származó mintából Horikoshi-féle alkalikus táptalajon (DSMZ-940) tenyésztettük ki (Borsodi és mtsai 2017c). A fajt (kis.kun.sag.en'sis N. L. masc. adj. *kiskunsagensis*) a Kiskunsági Nemzeti Park után neveztük el, ahol a mintavételi hely található. A telepek krémbarna színűek, simák és domborúak. Sejtjeik Gram-pozitív festődésű, mozdulatlan, egyenes pálcák, melyek centrális elhelyezkedésű, ellipszoidális, enyhén deformáló endospórát képeznek. A típusörzs anyagcseréje fakultatív anaerob. Kataláz-pozitív, oxidáz-negatív. Részletes fenotípusos és enzimátikus tulajdonságait a *Függelék 11.1-1. táblázata* tartalmazza. A fakultatív alkalofil típusörzs pH 7,0-12,0 tartományban szaporodik, optimálisan pH 9,0-10,0 értéken. A mérsékelt halofil típusörzs 5-10 % (m/V) NaCl koncentrációnál szaporodik, optimálisan 5-7 %-nál. Szaporodásának hőmérsékleti tartománya 10 °C és 40 °C közötti, optimuma 25-28 °C. Zsírsvav profiljának jellemző komponensei az anteizo-C_{15:0} és az anteizo-C_{17:0} zsírsvavak. Sejtfalának peptidoglikánjában megtalálható a mezo-diamino-pimelinsav. A típusörzs DNS-ének G+C tartalma 36,6 mol%. A maximum-likelihood módszerrel szerkesztett filogenetikai fán az általunk kitenyésztett B16-24^T törzssel legnagyobb szekvencia egyezést mutató fajok a *B. okhensis* Kh10-101^T (97,8%), a *B. akibai* 1139^T (97,4%), az általunk korábban leírt *B. alkalisediminis* K1-25^T (97,3%) és a *B. wakoensis* N-1^T (97,1%) típusörzsei (**5.1-17. ábra**).



5.1-17. ábra A *Bacillus kiskunsagensis* sp. nov. B16-24^T törzs és a legközelebbi rokon fajok típusörzseinek 16S rRNS gén alapú maximum-likelihood algoritmussal készült törzsfája (Borsodi és mtsai 2017c)

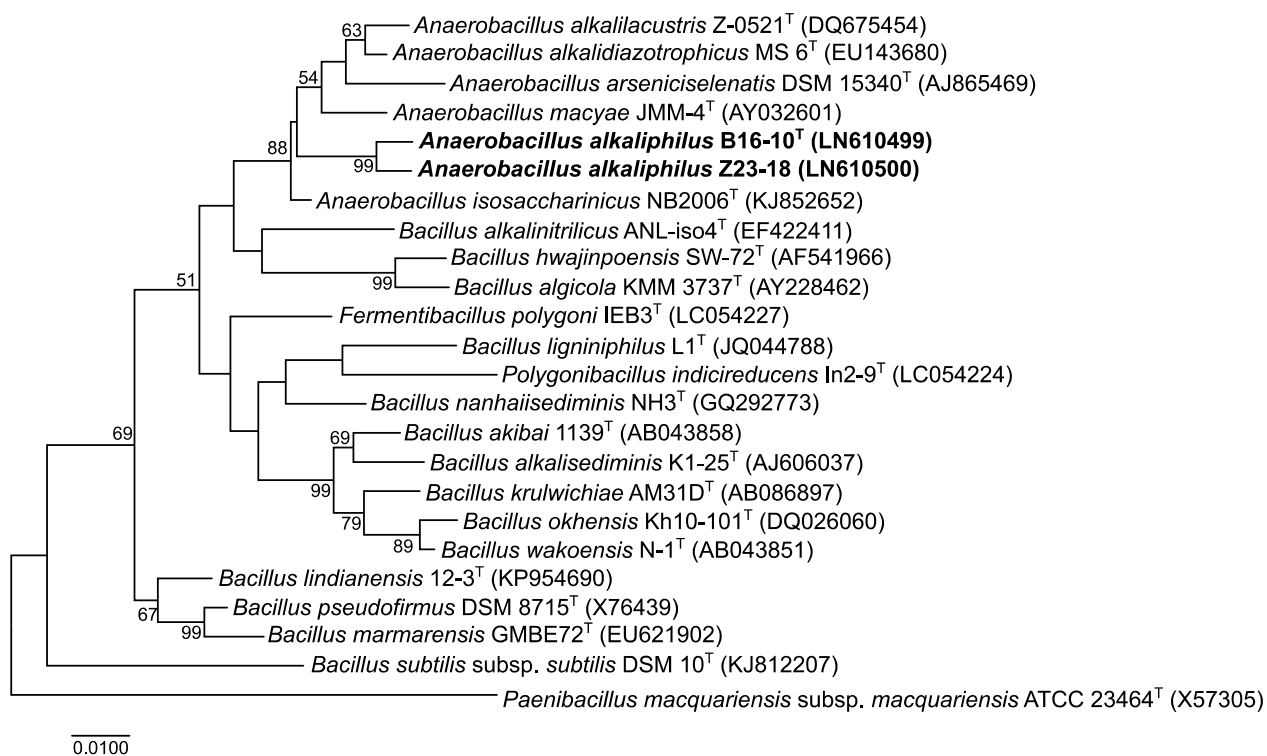
(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 70% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 1 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

A szigorúan anaerob anyagcserét folytató, obligát vagy mérsékelten alkalofil, halotoleráns vagy mérsékelten halofil *Bacillus* fajokat fiziológiai és genetikai tulajdonságaik alapján 2009-ben az újonnan létrehozott *Anaerobacillus* nemzetségbe sorolták át (Zavarzina és mtsai 2009). A nemzetségbe az általunk izolált új *Anaerobacillus* faj típus törzsének leírásáig öt faj tartozott (Zavarzina és mtsai 2009); a kaliforniai alkalikus és hipersós, arzénban gazdag vizű Mono-tóból izolált *A. arseniciselenatis* (Switzer Blum és mtsai 1998), az ausztráliai Bendigo aranybányából izolált arzenát-légző *A. macyae* (Santini és mtsai 2004), az észak-kelet mongóliai szikes talajból izolált *A. alkalidiazotrophicus* (Sorokin és mtsai 2008b), az oroszországi Khadyn szikes tó üledékéből izolált *A. alkalilacustris* (Zavarzina és mtsai 2009) és a Harpur Hill-i (UK) elhagyatott mészegető üledékéből izolált alkalofil *A. isosaccharinicus* (Bassil & Lloyd 2019). Az *Anaerobacillus* nemzetségbe az értekezés írásakor 7 faj tartozott [3].

Az *Anaerobacillus alkaliphilus* faj B16-10^T típus törzsét és a Z23-18 jelzésű törzset a kiskunsági Böddi-szék és a Zab-szék környéki *Bolboschoenus maritimus*-szal benőtt szikes talajból, módosított összetételű, alkalikus kémhatású R2A (DSMZ-830) táptalajról izoláltuk (Borsodi és mtsai 2019). A faj elnevezése (al.ka.li'phi.lus N.L. n. *alkali* from Arabic alqaliy the soda ash; Gr. adj. *philos* loving; N. L. masc. adj. *alkaliphilus*) a törzsek alkalikus környezetet kedvelő tulajdonságára utal. Az izoláláshoz használt táptalajon kinőtt telepek krémfehér színűek, sima felszínűek és domborúak. Az egyenes pálca alakú sejtek egyetlen szubpoláris csillóval aktív mozgásra képesek. Terminális, ellipszoidális endospórát képeznek deformáló sporangiumban. A típus törzs anyagcseréje fakultatív anaerob. Kataláz-pozitív, oxidáz-negatív. Részletes fenotípusos és enzimatisz tulajdonságait a *Függelék 11.1-1. táblázata* tartalmazza. Az alkalofil típus törzs pH 7,0-11,0 tartományban szaporodik, optimálisan pH 9,0-10,0 értéken. A mérsékelten halofil típus törzs 0-7% (m/V) NaCl koncentrációnál szaporodik, optimálisan 5%-nál. Szaporodásának hőmérsékleti tartománya 10 °C és 40 °C közötti, optimuma 25-28 °C. Zsír-sav profiljának jellemző komponensei az anteizo-C_{15:0} C_{16:1ω11c} és az izo-C_{14:0} zsír-savak. Sejt-fala tartalmaz mezo-diamino-pimelinsavat. A típus törzs DNS-ének G+C tartalma 36,9 mol%. A maximum-likelihood módszerrel szerkesztett filogenetika fán az általunk kitenyészített B16-10^T törzssel legnagyobb szekvencia egyezést mutató fajok az *A. isosaccharinicus* NB2006^T (98,7%), az *A. macyae* JMM-4^T (98,2%), az *A. alkalidiazotrophicus* MS 6^T (97,7%), az *A. alkalilacustris* Z-0521^T (97,5%) és az *A. arseniciselenatis* DSM 15340^T (97,5%) típus törzsei voltak (**5.1-18. ábra**).

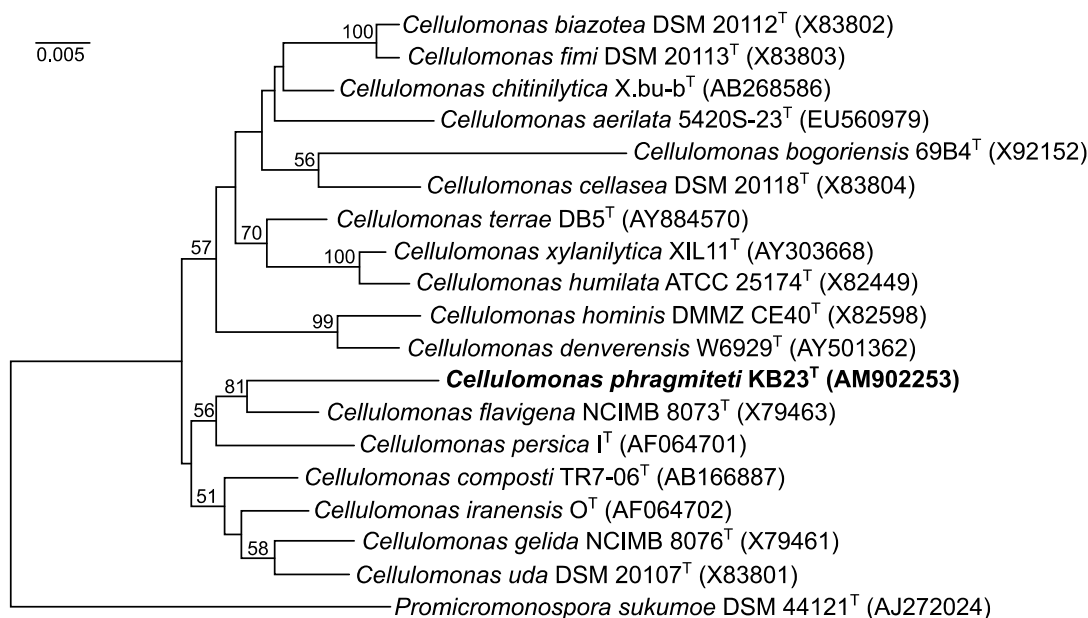
Az általunk *Anaerobacillus alkaliphilus* sp. nov. névvel leírt új faj néhány tulajdonsága eltért a Zavarzina és mtsai (2009) által az *Anaerobacillus* nemzetségre meghatározott tulajdonságoktól, ezért elvégeztük a nemzetség módosított leírását is (Borsodi és mtsai 2019). Eszerint a nemzetségbe tartozó fajok anyagcseréje obligát vagy fakultatív anaerob. Sejt-eik peritrich vagy szubpoláris csillóval aktív mozgásra képesek, de lehetnek mozdulatlanok is. A legtöbb faj, de nem mindegyik rendelkezik *nifH* génnel, és elektron akceptor-ként hasznosítja az arzenátot és a nitrátot, de a szulfátot nem (Borsodi és mtsai 2019).

Az Actinobacteria törzs Micrococcales rendjének *Cellulomonas* nemzetségébe tartozó baktérium-fajok aerob vagy fakultatív anaerob kemoorganotróf anyagcserét folytatnak, többségük cellulolitikus aktivitással is rendelkezik (Stackebrandt & Schumann 2015). A különböző fajok típus törzsei változatos élőhelyekről kerültek elő, pl. a *C. bogoriensis* a kenyai Bogoria-tó litorális zónájának üledékéből (Jones és mtsai 2005), a *C. composti* egy koreai marhafarm komposztjából (Kang és mtsai 2007), a *C. xylanilytica* egy korhadó szilfából (Rivas és mtsai 2004). A *Cellulomonas* nemzetségbe ugyanakkor több klinikai szempontból fontos faj is tartozik, pl. a *C. hominis* és a *C. denverensis* (Stackebrandt & Schumann 2015). Az értekezés írásakor a *Cellulomonas* nemzetségben 62 fajt jegyeztek [4].



5.1-18. ábra Az *Anaerobacillus alkaliphilus* sp. nov. B16-10^T és Z23-18 törzsek és a legközelebbi rokon fajok típus-törzseinek 16S rRNS gén alapú maximum-likelihood algoritmussal készült törzsfája (Borsodi és mtsai 2019)

(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 1 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

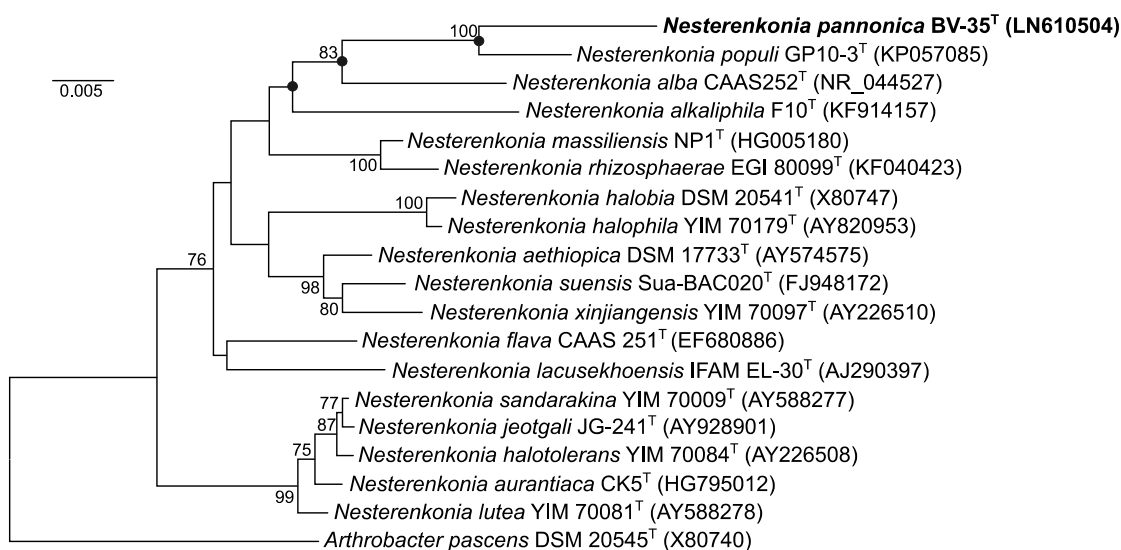


5.1-19. ábra A *Cellulomonas phragmiteti* sp. nov. KB23^T típus-törzs és a legközelebbi rokon fajok típus-törzseinek 16S rRNS gén alapú neighbor-joining algoritmussal készült törzsfája (Rusznay és mtsai 2011)

(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 5 nukleotid szubsztitúciót jelöl 1000 nukleotidonként.)

A kiskunsági Kelemen-székét övező nádasból gyűjtött perifiton mintából általunk módosított KingB táptalajról izolált KB23^T jelzésű törzset a polifázikus taxonómiai jellemzés alapján *Cellulomonas phragmiteti* sp. nov. fajként írtuk le (Rusznayk és mtsai 2011). A faj elnevezése (phrag.mi'te.ti. N.L. gen. n. *phragmiteti*) a nádasra, mint élőhelyre utal, ahonnan a típus-törzset tenyésztésbe vontuk. A KingB táptalajon fejlődő telepek sárgástól halvány narancssárga színűek, simák és domborúak. Sejtjeik Gram-pozitív festődésű, egyenes, mozgó pálcák, nem képeznek micéliumot. A típus-törzs anyagcseréje fakultatív anaerob. Kataláz-pozitív, oxidáz-negatív. Celluláz enzimet termel. Részletes fenotípusos és enzimatisz tulajdonságait a *Függelék 11.1-1. táblázata* tartalmazza. A típus-törzs 15 °C és 37 °C közötti hőmérsékleten, pH 7,0 és 9,0 között, 2,0-7,0% (m/V) NaCl koncentrációnál szaporodik, optimálisan 25 °C-on, pH 8,0 értéken és 5%-os (m/V) NaCl koncentrációnál. Zsírsvav profiljának jellemző komponensei az anteizo-C_{15:0}, C_{16:0} és az anteizo-C_{15:1} zsírsvavak. Peptidoglikán típusa A4β (L-Orn-D-Asp). MK-9(H4) a domináns menakinon. A típus-törzs DNS-ének G+C tartalma 74,8 mol%. A neighbor-joining módszerrel szerkesztett filogenetikai fán az általunk kitenyészített KB23^T típus-törzsszel legnagyobb szekvencia egyezést mutató faj a *C. flavigena* DSM 20109^T (97,35%) típus-törzse volt (*5.1-19. ábra*).

Az Actinobacteria törzs Micrococcales rendjének *Nesterenkonía* nemzetsége a korábban számos fajt tartalmazó *Micrococcus* nemzetségnek *Kocuria*, *Nesterenkonía*, *Kytococcus*, *Dermacoccus* és *Micrococcus* nemzetségekre történő felosztásával keletkezett (Stackebrandt és mtsai 1995). Ezt követően a *Nesterenkonía* nemzetség taxonómiai leírásához Collins és mtsai, továbbá Li és mtsai nyújtottak be módosításokat a sejtmorfológiai, a környezeti tolerancia, a peptidoglikán típusa és a DNS G+C aránya alapján (Collins és mtsai 2002; Li és mtsai 2005). A *Nesterenkonía* nemzetségnek az értekezés írásakor 27 fajt tartották nyilván [5].



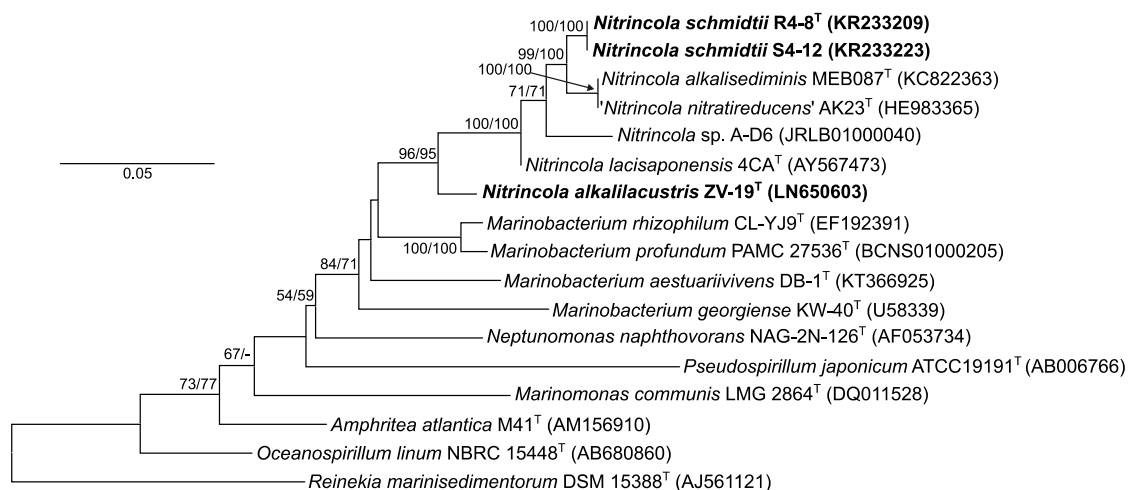
5.1-20. ábra A *Nesterenkonía pannonica* sp. nov. BV-35^T típus-törzs és a legközelebbi rokon fajok típus-törzseinek 16S rRNS gén alapú maximum-likelihood algoritlussal készült törzsfája (Borsodi és mtsai 2017b)

(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 70% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 5 nukleotid szubsztitúciót jelöl 1000 nukleotidonként.)

A *Nesterenkonía pannonica* sp. nov. faj BV-35^T jelzésű típus-törzsét a kiskunsági Böddi-szék vizéből módosított R2A (DSMZ-830) táptalajról izoláltuk (Borsodi és mtsai 2017b). A faj elnevezése (pan.no'ni.ca. L. fem. adj. *pannonica*) a mai Magyarország területének egy részét képező egykori római tartományra és az itt található sekély, szikes ún. Pannon tavakra utal. A módosított R2A táptalajon fejlődő telepek narancssárga színűek, simák és domborúak. Sejtjeik Gram-pozitív festődésű,

mozdulatlan, kokkoidális pálcák, nem képeznek endospórát. A típusörzs anyagcseréje obligát aerob. Kataláz-pozitív, oxidáz-negatív. Részletes fenotípusos és enzimátikus tulajdonságait a *Függelék 11.1-1. táblázata* tartalmazza. A típusörzs 10 °C és 40 °C közötti hőmérsékleten, pH 6,0 és 12,0 között, 0-15,0% (m/V) NaCl koncentrációnál szaporodik, optimálisan 25-28 °C-on, pH 9,0-10,0 értéken és 5-7%-os (m/V) NaCl koncentrációnál. Zsírsv profiljának jellemző komponensei az anteizo-C_{15:0} és az anteizo-C_{17:0} zsírsvak. Peptidoglikán típusa A4β (L-Lys-L-Glu), de emellett GABA-t is tartalmaz. MK-7 a domináns menakinon. A típusörzs DNS-ének G+C tartalma 65,4 mol%. A maximum-likelihood algoritmussal szerkesztett filogenetikai fán az általunk kitenyészített BV-35^T típusörzssel legnagyobb szekvencia egyezést mutató fajok a *N. populi* GP 10-3^T (97,9%) és a *N. alba* CAAS 252^T (96,1%) típusörzsei voltak (*5.1-20. ábra*).

A *Nitrincola* nemzetséget egy a Washington állambeli (USA) meromiktikus szikes Soap-tóból izolált alkalofil típusörzs polifázikus taxonómiai jellemzésével, *Nitrincola lacisaponensis* gen. nov., sp. nov. néven írták le (Dimitriu és mtsai 2005). Azóta a nemzetségben két további alkalofil fajt írtak le *N. alkalisediminis* (Joshi és mtsai 2016) és *N. nitratreducens* (Singh és mtsai 2015) néven egy indiai krátertó, a Lonar-tó alkalikus vizéből és üledékéből. A *Nitrincola* nemzetségbe az értekezés írásakor 8 faj tartozott [6].



5.1-21. ábra A *Nitrincola alkalilacustris* sp. nov. ZV-19^T típusörzs és a legközelebbi rokon fajok típusörzseinek 16S rRNS gén alapú maximum-likelihood algoritmussal készült törzsfája (Borsodi és mtsai 2017a)

(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 5 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

A ZV-19^T jelzésű baktériumörzset a kiskunsági Zab-szék vizéből izoláltuk módosított R2A (DSMZ-830) táptalajról, és jellemeztük a polifázikus taxonómia elveinek megfelelően (Borsodi és mtsai 2017a). A *Nitrincola alkalilacustris* sp. nov. néven leírt faj elnevezése (al.ka.li.la.cus'tris. N.L. at. n. alkali; L. masc. adj. lacustris) a szikes vizes élőhelyre utal. A módosított R2A táptalajon fejlődő telepek krémfehér színűek, simák és domborúak. A sejtek Gram-negatív festődésűek, poláris csillóval rendelkező rövid pálcák. A típusörzs anyagcseréje fakultatív anaerob. Kataláz-pozitív, oxidáz-pozitív. Részletes fenotípusos és enzimátikus tulajdonságait a *Függelék 11.1-1. táblázata* tartalmazza. A típusörzs pH 7,0-11,0 tartományban, 0-10% (m/V) NaCl koncentrációnál, 10 °C és 37 °C közötti szaporodik, optimálisan pH 8,0-9,0 értéken, 0-7% (m/V) NaCl koncentrációnál, 20-28 °C közötti hőmérsékleten. Zsírsv profiljának jellemző komponensei a C_{18:1} ω7c, a C_{16:1} ω7c és a C_{16:0} zsírsvak. A típusörzs DNS-ének G+C tartalma 54,5 mol%. A maximum-likelihood módszerrel szerkesztett filogenetikai fán az általunk kitenyészített ZV-19^T típusörzssel legnagyobb szekvencia egyezést mutató fajok a *N. lacisaponensis* 4CA^T (96,6%) és a *N. alkalisediminis* MEB087^T (95,5%) típusörzsei voltak (*5.1-21. ábra*).

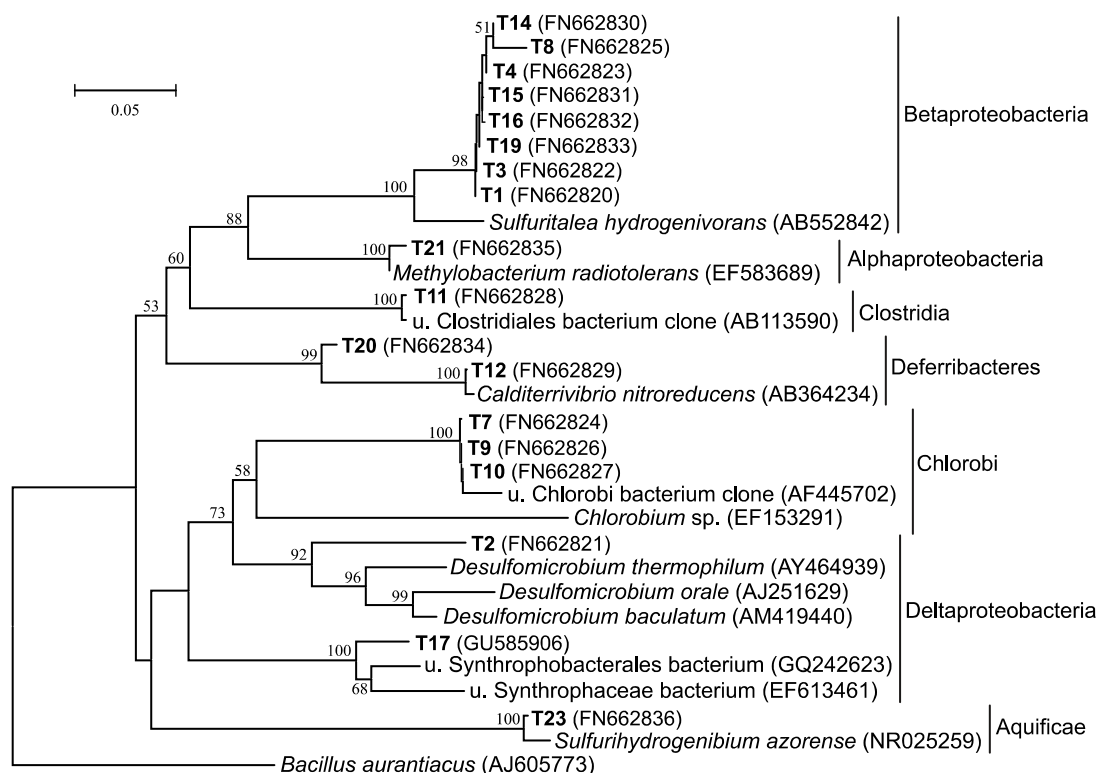
5.2. Hazai mélyfúrású kutak termálvizére jellemző extremofil prokarióta közösségek taxonómiai összetétele

5.2.1. 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, pozitív nyomású és szabad kifolyású kutak a fürdő területén található. A dolomitos mészkörétegből kinyert karsztvíz hidrogén-karbonátos (476-622 mg l⁻¹) és magas ásványianyag tartalmú (730-900 mg l⁻¹). Relatív nagy szulfid (11 mg l⁻¹), nátrium (190 mg l⁻¹) és klorid (108 mg l⁻¹) tartalma (Függelék 11.1-5. táblázat), és a közeli langyos vizeket szolgáltató kutak vizénél magasabb vízkora (32 000 év) arra utal, hogy a termálvizek a Villányi-hegység mélységi fedett karszt, illetve szénhidrogén-tartó metamorf kőzetek határzónájából származnak (Harkányi Gyógyfürdő Zrt., 2008).

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 (Miseta és mtsai 2012).

A harkányi VI. sz. termálkútból 2008-ban gyűjtött vízminták baktériumközösségeinek összetételét molekuláris klónkönyvtár segítségével tártuk fel (Miseta és mtsai 2009, 2012). A molekuláris klónokat a Proteobacteria, az Aquificae, a Chlorobi, a Clostridia és a Deferribacteres taxonómiai csoportok tagjaiként azonosítottuk (5.2-1. ábra).



5.2-1. ábra A harkányi VI. számú termálkút vizéből származó (félkövérrel jelölt) molekuláris klónok 16S rRNS gén alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon baktériumfajok feltüntetésével (Miseta és mtsai 2012)

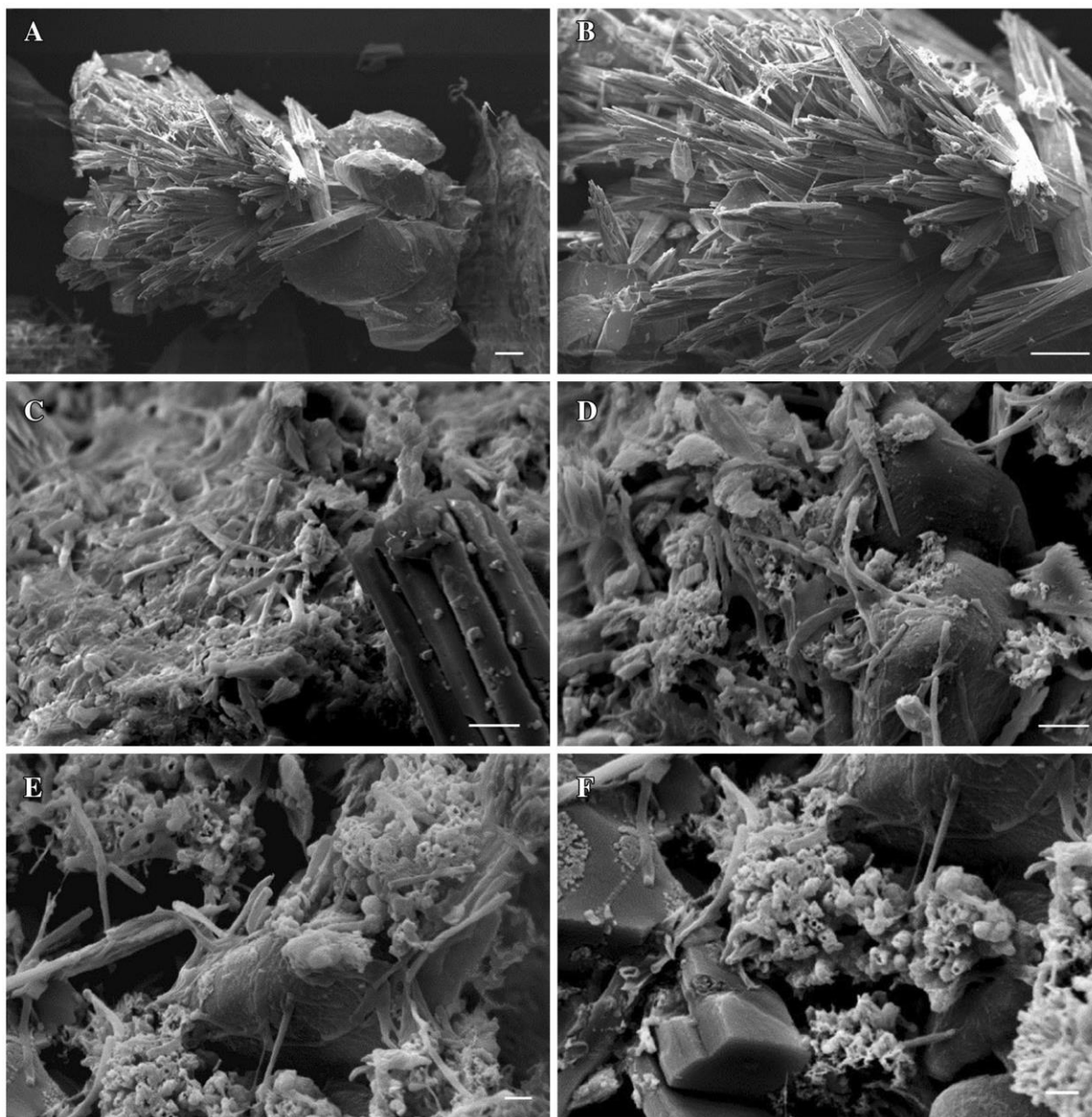
(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 5 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

Közöttük legnagyobb gyakorisággal a *Sulfuritalea hydrogenivorans* fajjal (Betaproteobacteria) nagyfokú szekvencia egyezést mutató klónok fordultak elő. Ennek a fakultatív anaerob, kén/tioszulfát vagy hidrogén oxidációra is képes mezofil baktériumnak a típus törzsét egy japán tó vizéből izolálták és írták le (Kojima & Fukui 2011). A kén alapú anyagcseréhez köthető szervezetek között azonosítottunk még *Sulfurihydrogenibium* fajokkal (Aquificae) közeli rokonságban álló molekuláris klónokat. A *Sulfurihydrogenibium subterraneum* faj fakultatív anaerob, kemolitototróf, hidrogén vagy kén/tioszulfát oxidáló, termofil típus törzsét egy japán aranybánya felszínalatti termálvízű vízáadó rétegéből izolálták és írták le (Takai és mtsai 2003). Az Aquificae osztály tagjai kitűnően alkalmazkodtak az extrém magas hőmérsékletű, anoxikus, kénvegyületekben gazdag élőhelyekhez (Nakagawa & Fukui 2003; Reysenbach és mtsai 2009), képviselőiket a Budai-termáلكarsztból is kimutattuk (Borsodi és mtsai 2012). További molekuláris klónok a termofil, nitrát-redukáló *Calditerrivibrio nitroreducens* fajjal képeztek közös klasztert. Ezt a fajt Japánban egy szulfidban gazdag hévforrás (Yumata, Nagano) vizéből izolálták és írták le (Iino és mtsai 2008). A molekuláris klónok között találtunk még *Methylobacterium radiotolerans* fajjal egyező szekvenciákat is. A harkányi termálvízben előforduló metilotróf anyagcseréjű baktériumok feltehetően a mélységi eredetű metánt hasznosíthatják. A klónkönyvtárban kisebb csoportokként (egy-egy klónnal) más, nem kén alapú anyagcserét folytató mikrobák, például mezofil, kemoorganotróf tenyésztésbe még nem vont Syntrophobacterales, Clostridiales és Chlorobiales környezeti klónokkal egyező szekvenciák is jelen voltak. A harkányi VI. sz. termáلكút vizének baktériumközösségeire nagyfokú időbeni stabilitás jellemző, amit a szezonálisan vett vízminták DGGE vizsgálatával igazoltunk. A molekuláris klónkönyvtárak domináns tagjainak jelenlétét a DGGE vizsgálatok is megerősítették (Miseta és mtsai 2013).

Eredményeink alapján a harkányi termáلكút 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 vehetnek részt (Miseta és mtsai 2012, 2013).

A Budai-termáلكarszt (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 Duna budapesti szakaszának mindkét partján található, Európa szerte méltán híres termáلفürdők a felszín alatti áramlási rendszereknek ezeknél a forrásfeltörési pontjainál találhatóak. A Széchenyi Gyógyfürdőt ellátó városligeti termáلكutak a BTK központi megcsapolódási rendszeréhez tartoznak (Déri-Takács és mtsai 2015; Mádl-Szőnyi és mtsai 2017). Az első termáلكutat 1868 és 1878 között Zsigmondy Vilmos fúratta (talpmélysége 970 m, a feltörő víz hőmérséklete 74,5°C), majd a másodikat 1936-ban Pávai-Vajna Ferenc. Az utóbbi kút 1246 m mélységben éri el a felső-triász dachsteini mészkövet, ami a termálvíz szűrőjeként szolgál (Alföldi és mtsai 1968). A karbonátos kőzetek (mészkő és dolomit) kioldásával keletkezett kalcium – magnézium – hidrogén-karbonátos (156 mg l⁻¹, 35 mg l⁻¹, 555 mg l⁻¹) termálvíz (73,7°C) viszonylag nagy mennyiségben tartalmaz nátriumot (176 mg l⁻¹), szulfátot (215 mg l⁻¹) és kloridot (170 mg l⁻¹) is (*Függelék 11.1-5. táblázat*). Utóbbiak nem tipikus karsztvíz komponensek, megnövekedett koncentrációjuk a közeli medencefluidum eredetre utal (Eröss és mtsai 2012; Mádl-Szőnyi és mtsai 2018). Az összes szerves széntartalom (1,7 mg l⁻¹) alapján a városligeti II. sz. termáلكút vize oligotrófnak tekinthető, ahol a mért redox-potenciál érték (-290 mV) redukáló környezetet sejtet. A kemolitotrófok számára a szulfid (12 mg l⁻¹), a Fe(II) (0,17 mg l⁻¹) és az ammónium (0,16 mg l⁻¹) is potenciális elektron donorként kínálkozik. 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 T6 kút (Miseta és mtsai 2012) vize hasonlóságot mutatott egymással.

A termálkarsztok mélyén előforduló mikroorganizmusok nemcsak sejtfelepítésük és anyagcsere tulajdonságaik révén képesek az extrém környezeti körülményekhez alkalmazkodni, de hozzájárulhatnak a hipogén karsztosodási folyamatokhoz is (Barton és mtsai 2001; Engel 2007; Gray & Engel 2013; Candiroglu & Gungor 2017). A városligeti II. sz. termálkút (Szent István-forrás) hévizének és a csővezetékben képződött biofilmnek a vizsgálata során ezért a prokarióta közösségek morfológiai struktúrájának és taxonómiai összetételének megismerését tűztük ki célul. A városligeti és a harkányi termálkútak vízmikrobiotájának összehasonlításával hasonló hidrogeológiai helyzetű és vízkémiai tulajdonságokkal rendelkező karsztos területeken általánosan előforduló extremofilek jelenlétét valószínűsítettük. A 2012-ben gyűjtött 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 (Anda és mtsai 2015).

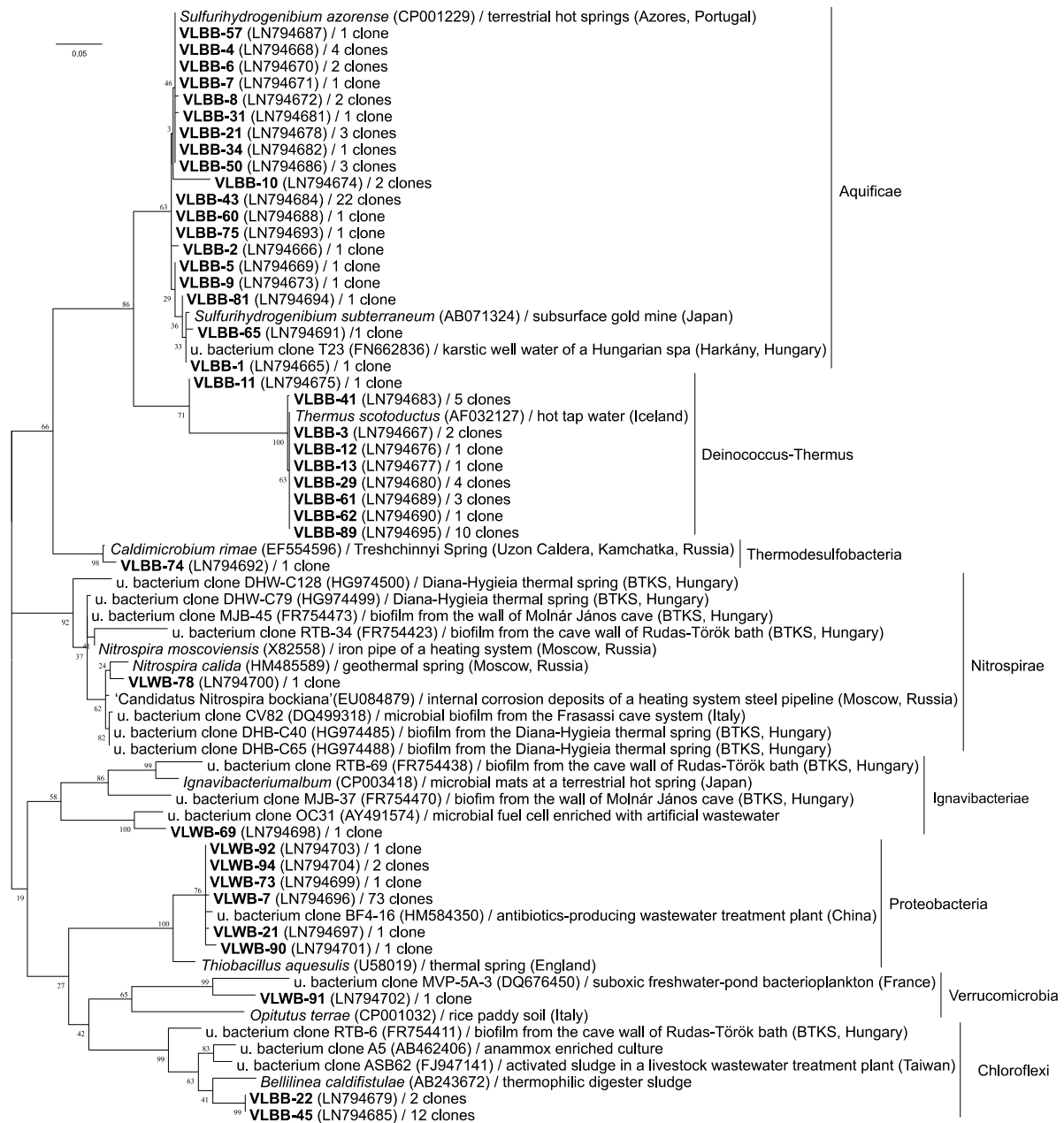


5.2-2. ábra A városligeti II. sz. termálkút csővezetékének falán fejlődött biofilmről készült SEM felvételek (Anda és mtsai 2015)
(Méretvonalak: a)-b) 20 μm ; c)-d) 2 μm ; e)-f) 1 μm . Fotó: Makk Judit)

A városligeti kútvizet szállító csővezeték falán képződött biofilmről készült SEM felvételeken változatos morfológiájú baktériumsejtek láthatók kalcium-karbonát kristályok (pl. aragonit) felületéhez kötődve (5.2-2. *ábra*). A nagy felbontású elektronmikroszkópos képeken – a korábbi BTK vizsgálati eredményekkel összhangban (Borsodi és mtsai 2012; Anda és mtsai 2014) – többségében 2-4 μm hosszúságú, egyenes pálcá alakú baktériumsejtek fordulnak elő, de mellettük különböző átmérőjű, és akár 300-400 μm hosszúságot is elérő fonalakat és csoportokba rendeződött kokkoidális sejteket is megfigyelhetünk. A mikrobák körüli szerves anyag mátrix részben az elhalt sejtekből, részben a biofilmképző sejtek által termelt extracelluláris polimer anyagokból (EPS) származhat. A sejtaggregátumokban azonosítható apró, üreges struktúrák felszínükön vas-oxi-hidroxid ásványokat (pl. goethitet, ferrihidritet) felhalmozó baktériumsejtek maradványai lehetnek. Az üreges szerkezet keresztmetszeti képe (5.2-2. *ábra E, F*) alapján valószínűsíthető, hogy ezek a baktériumok részt vehetnek a felületükön felhalmozódott vas-oxi-hidroxid ásványok kialakulásában, ahogy azt a BTK forrásbarlangjaiban kialakult biofilmek Mössbauer spektroszkópiás elemzése is megerősítette (Kuzmann és mtsai 2014).

A városligeti termálvíz és biofilm minták prokarióta közösség szerkezetének megismerésére mintánként közel 100 tagú molekuláris klónkönyvtárakat hoztunk létre. A vízmintából származó Bacteria klónkönyvtárát csaknem kizárólagosan (96,3%-ban) a Betaproteobacteria osztályba tartozó filotípusok dominálták (5.2-3. *ábra*), melyek a *Thiobacillus aquesulis*, fakultatív kemolitotróf autotróf kénoxidáló baktériumfajjal mutatták a legnagyobb fokú szekvencia egyezést. Ennek a mérsékelt termofil fajnak a típus törzsét az angliai Bath termálforrásainak egyikéből izolálták (Wood & Kelly 1988). A biofilm Bacteria klónkönyvtárban ezzel szemben az Aquificae törzs képviselői részesedtek több mint 50%-kal (5.2-3. *ábra*). Említésre érdemes, hogy az Aquificales rend számos tagja fakultatív hidrogénoxidáló, termofil szervezet, melyeket szerte a világon kimutattak már különféle hidrotermális környezetekből (Blank és mtsai 2002; Eder & Huber 2002; Hirayama és mtsai 2005; Vick és mtsai 2010). A legtöbb városligeti biofilm klón legközelebbi rokonságban a termofil, mikroaerofil, hidrogénoxidáló *Sulfurihydrogenibium azorense* fajjal (Aquificae) állt, melynek típus törzsét az Azorszigetek egyik hévforrásából írták le (Aguiar és mtsai 2004). Eredményeinkhez hasonlóan, egy szulfidos, enyhén lúgos kémhatású, japán hőforrásban fejlődött mikrobiális bevonatban szintén a *S. azorense* fajjal közelrokon filotípusok voltak a molekuláris klónkönyvtár domináns közösségalkotói (Everroad és mtsai 2012). A *Sulfurihydrogenibium* fajok jelenlétéről gyakran számolnak be neutrális közeli kémhatású, magas hőmérsékletű élőhelyeken, ahol ezek a fakultatív kemolitotróf anyagcseréjű szervezetek elektron donorként hidrogént, Fe(II)-t, ként vagy tioszulfátot, elektron akceptoroként pedig nitrátot, Fe(III)-t vagy oxigént használhatnak (Hirayama és mtsai 2005; Nakagawa és mtsai 2005; Everroad és mtsai 2012). *Sulfurihydrogenibium* fajokkal rokon filotípusokat a harkányi VI. sz. termálkút vizéből is azonosítottunk (Miseta és mtsai 2012).

A városligeti II. sz. termálkútból származó biofilm klónkönyvtárban a *Thermus scotoeductus* (Deinococcus-Thermus) faj képviselői is relatíve magas (30,1%) arányban voltak jelen. Ennek a termofil (opt. 65 °C), fakultatív anaerob heterotróf fajnak a típus törzsét egy izlandi kisváros melegvíz rendszeréből írták le (Kristjánsson és mtsai 1994), de kimutatták már egy 3,2 km mélyen fekvő dél-afrikai aranybányából és új-mexikói (USA) hévforrásokból is (Balkwill és mtsai 2004). A faj csaknem minden tenyésztésbe vont törzse képes volt a Fe(III) disszimilatórikus redukciójára is (Balkwill és mtsai 2004). A termofil (opt. 55 °C), szigorúan anaerob, fonalas morfológiájú *Bellilinea caldifistulae* (Yamada és mtsai 2007) fajjal rokon klónszekvenciák képezték a harmadik leggyakoribb filotípust a városligeti biofilm mintában. Ugyanakkor mindössze egyetlen molekuláris klón képviselte a *Caldimicrobium rimae* fajt (Thermodesulfobacteria), melyet a kamcsatkai Uzon kaldera (Oroszország) egyik legforróbb vizű forrásából, a Treshchinnyi Springből izoláltak (Miroshnichenko és mtsai 2009). Ez a termofil (opt. 75 °C), szigorúan anaerob, fakultatív kemolitotróf baktérium elemi kénnel vagy tioszulfáttal, mint elektron akceptorral képes a hidrogén (elektron donorként történő) oxidálására is.

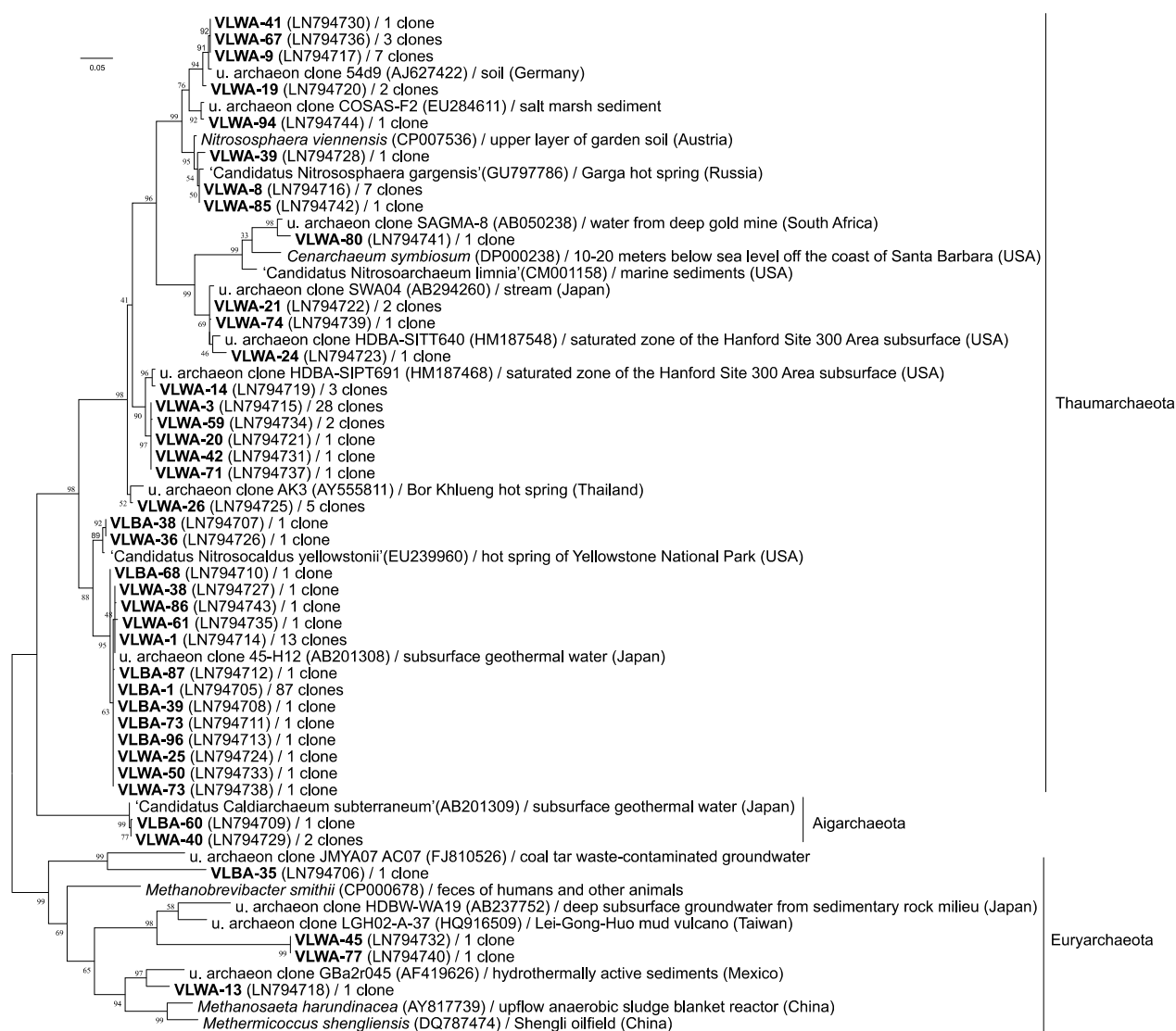


5.2-3. ábra A városligeti II. sz. termálkút vizéből és biofilmjéből származó (félkövérrel jelölt) Bacteria molekuláris klónok 16S rRNS gén alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon baktériumfajok feltüntetésével (Anda és mtsai 2015)

(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvencia azonosítók, a reprezentatív klónok után az ARDRA csoportba tartozó klónszámok láthatók. A méretvonal 5 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

Az Archaea klónkönyvtárakban Euryarchaeota, Aigarchaeota és Thaumarchaeota törzsekbe tartozó szekvenciákat azonosítottunk (5.2-4. ábra). A városligeti víz és biofilm molekuláris klónok közel 60%-a a 'Candidatus Nitrosocaldus yellowstonii', termofil (opt. 65-72 °C), kemolito-autotróf ammóniaoxidáló ősbaktérium képviselőjének bizonyult, amit a Yellowstone Nemzeti Park (USA) egyik hévforrásából írtak le (de la Torre és mtsai 2008). Egy a Nagy-medence (USA) hévforrásain végzett kutatás szintén a 'Ca. N. yellowstonii'-val legközelebbi rokonságot mutató filotípusok domináns előfordulásáról számolt be (Costa és mtsai 2009). Később az itt található ~80 °C-os hévforrásokban végzett nitrogén-körforgalmi vizsgálatok során erőteljes ammónia-oxidációs aktivitást mértek, melyért elsősorban a dominánsan előforduló 'Ca. N. yellowstonii' OTU tagjait tették felelőssé (Dodsworth és mtsai 2011). A városligeti vízmintákból további ammóniaoxidáló ősbaktériumokkal, így a

(AOA) '*Candidatus Nitrososphaera gargensis*' (Spang és mtsai 2012) és a *Nitrososphaera viennensis* (Stieglmeier és mtsai 2014) fajjal rokon filotípusokat is kimutattunk. Az első aerob, ammóniát nitritté oxidáló nitrifikáló ősbaktérium, a *Nitrosopumilus maritimus* gen. nov., sp. nov. (Könneke és mtsai 2005) izolálása óta számos különböző hőmérsékletű és kémhatású természetes környezetben detektáltak az ammónia-oxidációért felelős ősbaktériális ammónia-monooxygenáz enzim A-alegységének (*amoA*) génjét, ami az AOA-k széleskörű előfordulását jelzi (Zhang és mtsai 2008; Erguder és mtsai 2009; Zhao és mtsai 2011). Napjainkban egyre több kutatási eredmény utal arra, hogy az AOA-k a felszín alatti geotermikusan fűtött élőhelyeken végbemenő ammónia-oxidációs folyamatokban is kulcsszerepet játszanak (Huang és mtsai 2007; Zhao és mtsai 2011; Marks és mtsai 2012). A városligeti víz- és biofilm mintákból kimutatott AOA-k jelenléte és az elektron donorként szolgáló ammónia mennyisége a termálvízben megerősíti, hogy a BTK területén a kemolitotróf kénoxidáció mellett az ammónia-oxidáció is számottevő mértékű lehet.



5.2-4. ábra A városligeti II. sz. termálkút vizéből és biofilmjéből származó (félkövérrel jelölt) Archaea molekuláris klónok 16S rRNS gén alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon baktériumfajok feltüntetésével (Anda és mtsai 2015)

(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvencia azonosítók, a reprezentatív klónok után az ARDRA csoportba tartozó klónszámok láthatók. A méretvonal 5 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

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 ősbaktériumokhoz (*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 háttérben 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).

A városligeti eredményeket a BTK-hoz tartozó más (pl. Rudas-Török-forrásbarlang, a Diana-Hygieia termálforrás és Molnár János-barlang) biofilm vizsgálati eredményekkel összevetve minden mintából kimutattuk a *Chloroflexi* és *Thermodesulfobacteria* törzsek tagjait (Borsodi és mtsai 2012; Anda és mtsai 2014). A magasabb taxonómiai szinteken észlelt hasonlóságok ellenére a városligeti II. sz. termálkút baktériumközösségeinek szerkezete jelentősen különbözött a BTK többi forrásfeltörési pontjától és faji szinten sokkal kevésbé volt változatos (Anda és mtsai 2015). A kisebb prokarióta genetikai diverzitás elsősorban a hidrogeológiai sajátosságok különbségeire vezethető vissza, amit a városligeti II. sz. termálkútnál és a BTK más forrásainál végzett részletes, összehasonlító elemzések is alátámasztottak (Déri-Takács és mtsai 2015).

5.2.2. 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 átlagosan 1400 l min⁻¹ vízhozammal több mint 90 °C-os hőmérsékletű termálvíz nyerhető ki. A termelőkutak vizének fizikai és kémiai tulajdonságait rendszeresen ellenőrzik (*Függelék 11.1-5. táblázat*); a vizsgált termálvizek enyhén lúgos kémhatásúak (pH 7,9-8,5) és nagy sótartalommal jellemezhetők (vezetőképességük 3770-4270 µS cm⁻¹ között változik). Emellett összes fenol (9,2-10,0 mg l⁻¹), KOI_k (768-1060 mg l⁻¹) és BOI₅ (494-584 mg l⁻¹) értékeik is magasak (Németh és mtsai 2014).

Ezeknek a különleges élőhelyeknek a mikrobiális közösségről kutatásunkat megelőzően még semmilyen ismerettel sem rendelkeztünk. Vizsgálatunk során három mélyfúrású kút (SZR18, K87 és SZR21) termálvizében előforduló Bacteria és Archaea közösségek taxonómiai összetételét térképeztük fel 16S rRNS gén alapú molekuláris klónkönyvtárak létrehozásával (Németh és mtsai 2014).

Az egyenként több mint 90 tagú klónkönyvtárba tartozó molekuláris klónok bázissorrend elemzése a Bacteria doménen belül a Firmicutes, a Proteobacteria, a Nitrospirae, a Thermodesulfobacteria és a Chlorobi törzsek, valamint az OP1 és az OPB7 leszármazási vonalakkal rokon szekvenciák jelenlétét tárta fel (*Függelék 11.2-5. ábra*). Eredményeink alapján a földrajzilag egymáshoz közel fekvő kutak termálvizének baktériumközösségei taxonómiai összetételük alapján jelentősen eltértek egymástól (Németh és mtsai 2014). Az SZR18 kút vizét a *Bacillus* nemzetséggel közel rokon *Fictibacillus* és *Alicyclobacillus* nemzetségek (Firmicutes) képviselői dominálták, míg a K87 kút vizében a *Thermanaeromonas*, a *Desulfotomaculum* és a *Pelotomaculum* nemzetségekkel (Firmicutes) rokon szekvenciák voltak a leggyakoribbak. A reprezentatív molekuláris klónok egyike a legnagyobb szekvencia egyezést a termofil, nitrát- és nitritredukáló *Thermanaeromonas toyohensis* faj típus törzsével mutatta, amit egy japán aranybánya 71 °C-os termálvizéből izoláltak (Mori és mtsai 2002). Más reprezentánsok az anaerob szulfátredukáló *Desulfotomaculum solfatarium* és *Pelotomaculum schinkii* fajok típus törzseivel voltak közeli rokonságban. A termofil (opt. 60 °C) *Desulfotomaculum solfatarium* fajt az észak-kelet izlandi Krafla régió szolfatára iszapjából írták le (Goorissen és mtsai 2003). A molekuláris klónok egy részének a szekvenciája a szulfátredukáló fajok közül a *Thermodesulfobacterium commune* fajjal (Thermodesulfobacteria) egyezett meg nagymértékben. Ennek a termofil (opt. 70 °C), obligát anaerob fajnak a típus törzsét a Yellowstone Nemzeti Park vulkanikus aktivitáshoz köthető Ink Pot hévforrásából izolálták (Zeikus és mtsai 1983). Az Alphaproteobacteria osztályba sorolt molekuláris klónok a legnagyobb szekvencia hasonlóságot a szén- és energiaforrásként kizárólag metánt és metil-alkoholt hasznosító, metanotróf *Methylocystis hirsuta* (Lindner és mtsai 2007) és a redukált kénvegyületek oxidációjában résztvevő, haloalkalofil *Rhodovulum steppense* (Kompantseva és mtsai 2010) fajok típus törzseivel mutatták. A Betaproteobacteria osztályba tartozó molekuláris klónok között a denitrifikáló *Thauera mechernichensis* (Scholten és mtsai 1999) és *Tepidiphilus margaritifera* fajokkal rokon szekvenciák fordultak elő. Utóbbi faj típus törzsét egy anaerob termofil (60 °C) iszaprothasztóból izolálták (Mania és mtsai 2003).

Az OP1 és az OPB7 leszármazási vonalak képviselői között főként hőforrásokból kimutatott filotípusok találhatók (Hugenholtz és mtsai 1998). Egy közelmúltban metagenomikai módszerekkel végzett elemzés OP1 („Acetothermia”) filotípusok dominanciáját mutatta ki az oroszországi Bajkál-hasadék zónában található legnagyobb természetes alkalikus termálforrásnak, a Dikij Arjaannak a vizében (Korzhenkov és mtsai 2018).

Az ősbaktérium molekuláris klónokat a Crenarchaeota és az Euryarchaeota törzsek képviselőiként azonosítottuk mindhárom termálkút vizében (Függelék 11.2-6. ábra), közel azonos arányban (Németh és mtsai 2014). A Crenarchaeota törzsből a kénlégző *Thermofilum pendens* (Zillig és mtsai 1983) és a fermentatív *Sulfophobococcus zilligii* (Hensel és mtsai 1997) termofil, anaerob fajokkal rokon szekvenciák kerültek elő. Az Euryarchaeota törzset az acetotróf *Methanosaeta harundinacea* (Ma és mtsai 2006) és *Methanosaeta thermophila* (Kamagata és mtsai 1992), továbbá a hidrogenotróf *Methanothermobacter tenebrarum* (Nakamura és mtsai 2013) és *Methanothermobacter crinale* (Cheng és mtsai 2011) termofil metanogén fajokkal rokon molekuláris klónszekvenciák képviselték.

A Szarvas környéki termálvizekből származó molekuláris klónok nagy részét azonban nem tudtuk faji vagy nemzetség szinten azonosítani (Németh és mtsai 2014); azok különböző geotermális élőhelyekről, pl. egy magas hőmérsékletű kőolajtározóból (Kobayashi és mtsai 2012), egy Japán délnyugati részén található akkréciós prizmával összefüggő mély víztározóból (Kimura és mtsai 2010), egy enyhén lúgos, szulfid-tartalmú hévforrás mikrobiális bevonatából (Everroad és mtsai 2012) és bolgár hévforrások vizéből (Tomova és mtsai 2011) származó környezeti klónokkal mutatták a legnagyobb szekvencia egyezést.

A mélyfúrású kutak forrásponthoz közeli vizéből azonosított prokarióta filotípusok többsége hasonló geotermális környezetekből leírt termofil 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-légző és obligát anaerob szulfát- és kénlégző anyagcsere, továbbá a metanotróf baktériumok, valamint az acetotróf és a hidrogenotróf metanogének által hajtott biológiai metán-ciklus működése valószínűsíthető (Németh és mtsai 2014).

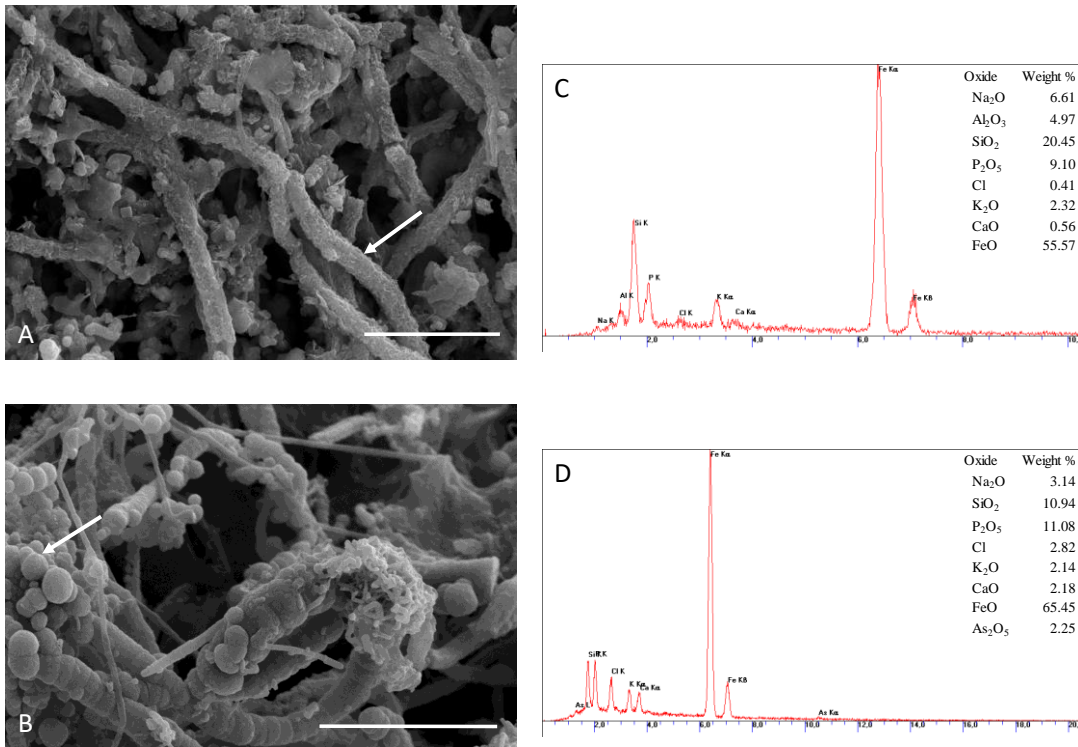
5.3. Hipogén karsztosodási folyamatokhoz kapcsolódó oligotróf és sugárrezisztens mikrobaközösségek morfológiai és taxonómiai változatossága

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

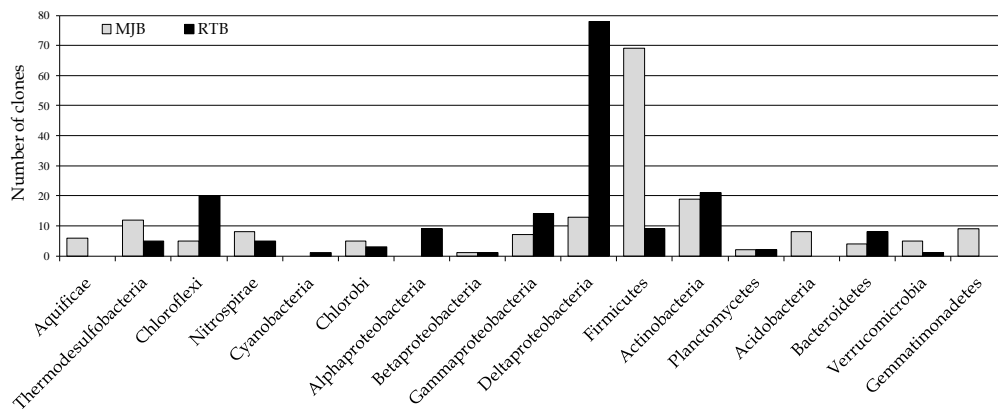
A Dunántúli-középhegység észak-keleti peremén, a Budai-termálkarszt (BTK) triász és eocén karbonátos kőzeteiben száznál is több barlang húzódik (Leél-Őssy 1995; Leél-őssy & Virág 2018). Budapest lakott területe alatt, a fedett és fedetlen karbonátos víztartó rétegek határán, a megcsapolódási pontoknak 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-Őssy 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 elhanyagolható a meteorikus vizek hozzájárulása a karsztfejlődési folyamatokhoz. Az itt található, lencseszerű, kisebb méretű forrásbarlangokban a mélységi fluidumok és az oldott gázok nagyon változatos karsztos formák kialakulását eredményezték (Virág és mtsai 2013).

Az első mikrobiológiai kutatásokat a BTK központi és déli megcsapolódási pontjainál (a Molnár János-barlangban és a Rudas-Török-forrásbarlangban) hipogén karsztfelszínen fejlődött biofilmeken végeztük pásztázó elektronmikroszkópia (SEM) és 16S rRNS gén alapú molekuláris klónozás alkalmazásával (Borsodi és mtsai 2012). A két forrásfeltörési ponton a biofilmek mikroszkópos morfológiai és taxonómiai diverzitás vizsgálatával is egymástól eltérő közösség szerkezetet tártunk fel. A Molnár János-barlangi biofilmben hasonló méretű, hosszú fonalas és pálca alakú sejteket figyeltünk meg többé-kevésbé homogén eloszlásban, ezzel szemben a Rudas-Török-forrásbarlangi biofilmben nagyon változatos morfológiájú sejtek fordultak elő nagy mennyiségű amorf szerves anyag mátrixba (EPS, extracellular polymeric substances) ágyazódva (5.3-1. ábra).

Bár a filogenetikai elemzés mindkét élőhelyen főként a kén- és a vas-biogeokémiai ciklusában résztvevő, mezofil és termofil (Thermodesulfobacteria, Chloroflexi, Nitrospirae, Chlorobi, Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Planctomycetes, Bacteroidetes, Verrucomicrobia) baktériumokkal rokon molekuláris klónok meglepően nagy diverzitását mutatta, a Molnár János-barlangból származó mintát a Firmicutes törzs, míg a Rudas-Török-forrásbarlangból származót a Deltaproteobacteria osztály képviselői dominálták (5.3-2. ábra). A SEM által a mikrobajetek között kimutatott szoros fizikai összeköttetések és a baktériumközösségekben azonosított taxonómiai sokféleség egyaránt összetett és sokrétű biogeokémiai kölcsönhatásokra utalt a barlangi biofilmekben (Borsodi és mtsai 2012).



5.3-1. ábra Pásztázó elektronmikroszkópos felvételek és a (nyilakkal jelölt részek) SEM-EDX analízisének eredményei a Molnár János-barlangból (A és C) és a Rudas-Török-forrásbarlangból (B és D) származó biofilm mintákról (Borsodi és mtsai 2012)
(Méretvonal: 10 μm)

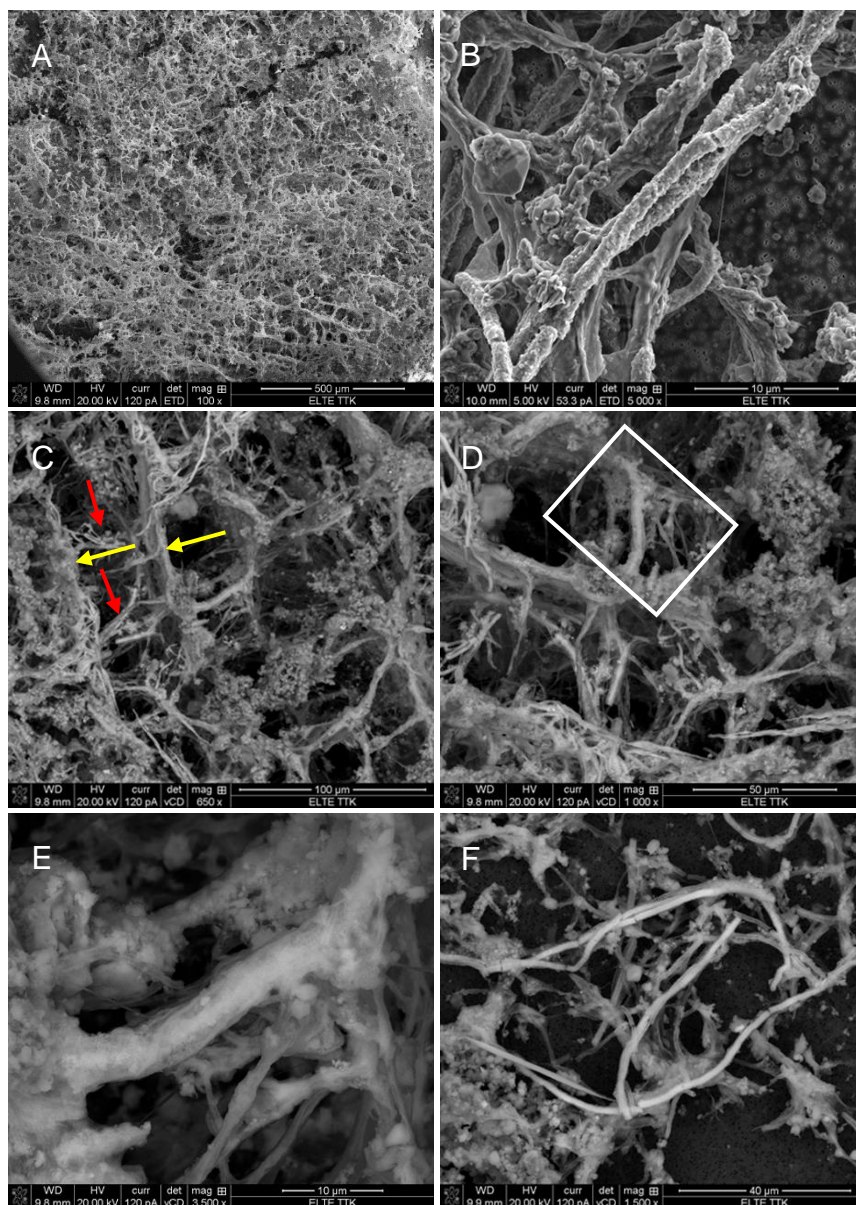


5.3-2. ábra A Molnár János-barlangból (MJB) és a Rudas Török-forrásbarlangból (RTB) származó klónkönyvtárak 16S rRNS-gén szekvenciáinak törzs szintű filogenetikai megoszlása (Borsodi és mtsai 2012)

Mindez arra ösztönzött bennünket, hogy a Budai-termálkarszt területén behatóbban tanulmányozzuk az aktív karsztfeloldási (oldódási és kiválási) folyamatokkal összefüggésben lévő (pl. termálvízhez, kőzetfelszíni biofilmhez, vízfelszíni és hipogén barlangi biogeokémiai kiválásokhoz társítható) extremofil mikrobaközösségeket. A 2012-ben megkezdett vizsgálataink során ezért a BTK központi és déli megcsapolódási területén a különböző forrásbarlangi élőhelyekhez kapcsolódó mikrobióta morfológiai tulajdonságainak és taxonómiai összetételének átfogó elemzését, továbbá a mikroorganizmusok karsztfeloldási folyamatokban és a lokális biogeokémiai ciklusokban betöltött lehetséges szerepének megismerését tűztük ki célul. Vizsgálatainkhoz pásztázó elektronmikroszkópos, tenyésztéses, molekuláris klónozási és új generációs szekvenálási módszereket is alkalmaztunk (Anda és mtsai 2017; Borsodi és mtsai 2018; Enyedi és mtsai 2019).

A BTK forrásfeltörési pontjainál a 2012-es mintavételkor az átlagos vízhőmérséklet $31,0 \pm 7,5$ °C, a pH semleges körüli ($6,9 \pm 0,1$), a fajlagos elektromos vezetőképesség $1595,4 \pm 331,3$ $\mu\text{S cm}^{-1}$ volt. A termálvízben a szulfát ($307,4 \pm 105,0$ mg l^{-1}) és a klorid ($110,4 \pm 42,5$ mg l^{-1}) volt a domináns anion, de a központi területen mért értékek a délieknek csak a felét/harmadát tették ki. A kationok közül a Fe(II) átlagos koncentrációja $0,1 \pm 0,1$ mg l^{-1} -nek adódott. Az ammónium-, a nitrát-, a nitrit- és a foszfát ionok koncentrációja a kimutatási határ közelében, vagy alatta volt. A termálvizek összes szerves szén mennyisége nagyon alacsony volt, átlagosan $2,3 \pm 0,1$ mg l^{-1} . Az összes szerves szén mennyisége ugyanakkor jelentős ($81,7 \pm 29,7$ mg l^{-1}) volt, de mintavételi helyenként nagymértékben változó. Az összes nitrogén mennyisége az összes szerves szén mennyiségének körülbelül a felét tette ki ($0,8 \pm 0,6$ mg l^{-1}). A részletes adatokat a Függelék **11.1-6. táblázata** tartalmazza.

A Molnár János-barlangból gyűjtött vöröses-barna színű, nyálkás, kőzetfelszíni biofilm SEM elemzése során fonalas szerkezetű és változatos morfológiájú baktériumsejtek ásványi anyagokkal és szerves anyag mátrixszal összetartott, hálózatos szerkezetére derítettünk fényt (**5.3-3. ábra**).



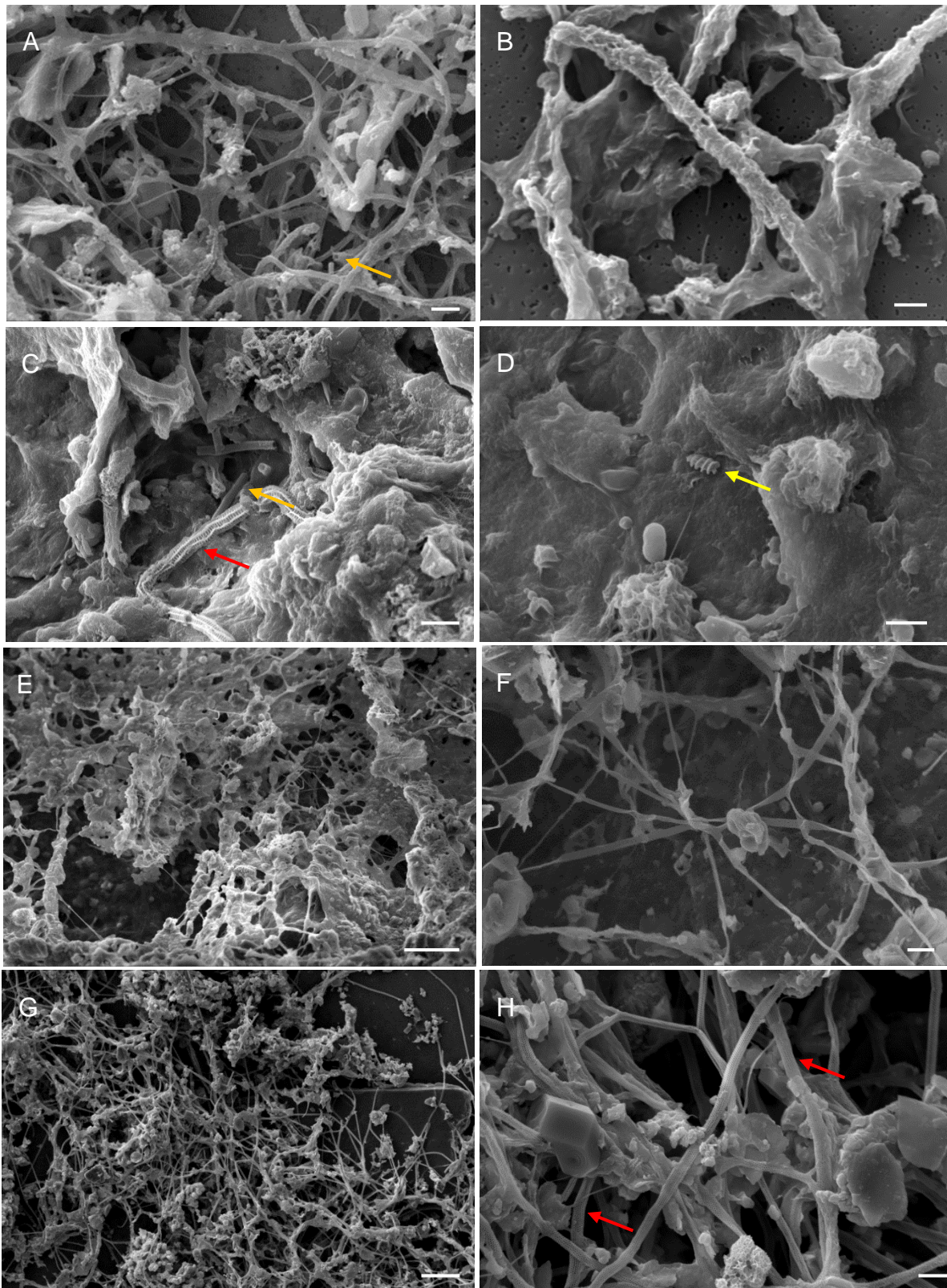
5.3-3. ábra Pásztázó elektronmikroszkópos felvételek a Molnár János-barlangból származó biofilm mintákról (Anda és mtsai 2017)
(Méretvonalak: A, 500 μm ; B, 10 μm ; C, 100 μm ; D, 50 μm ; E, 10 μm ; F, 40 μm .)

A szerkezetileg komplex biofilmben egymással párhuzamos elrendeződésű, réteges struktúrákat fedeztünk fel (5.3-3. *ábra C*, sárga nyilak), ahol a rétegeket EPS-sel határolt, *Leptothrix*-szerű fonalas baktériumok kapcsolják egymáshoz (5.3-3. *ábra C*, piros nyilak). Hasonló egymásba fonódó, fonalas baktériumok által képzett hálózatos szerkezetet más vizes környezetekben pl. talajvízzel táplált, vasban gazdag mikrobiális bevonatokban is megfigyeltek (Schieber & Glamoclija 2007). Néhány vCD detektorral készült felvételen a nagyon kis méretű gömbszerű precipitátumok (5.3-3. *ábra F*) és egyes fonalas baktériumok (5.3-3. *ábra F*) a környezetükhöz képest jóval világosabbnak látszottak, vagyis ezek a sejtek felületükön nagyobb rendszámú elemeket (pl. vasat) tartalmazó vegyületeket halmozhattak fel. A mikrobák által felhalmozott vasvegyületeket korábban a BTK vasban gazdag biofilmjének EDX-analízisével is kimutattuk (Borsodi és mtsai 2012). A felvételen (5.3-3. *ábra E*) az is látható volt, hogy a biofilmben lévő egyes fonalakat áttetsző, kis rendszámú elemeket (C, H, O, N) tartalmazó vékony, hártyaszerű anyag vette körül, ami az EPS maradványa lehetett (Anda és mtsai 2017).

A BTK déli megcsapolódási pontjairól származó biofilm minták kis nagyítású SEM felvételein szintén ásványi szemcséket és főként nagy mennyiségű EPS mátrixba ágyazott, hálózatos szerkezetű fonalas baktériumot figyeltünk meg (Borsodi és mtsai 2018). A nagy felbontású SEM-felvételek azonban már a biofilmeket alkotó baktériumsejtek morfológiai változatosságát is feltárták (5.3-4. *ábra*).

A Rác Gyógyfürdő Nagyforrás mintában a mikrobiális biofilm többségében egészen vékony (0,2-0,3 μm átmérőjű) fonalas struktúrákból állt (5.3-4. *ábra E, F*). Ezzel szemben a Rudas-Török forrásbarlangból (5.3-4. *ábra A, B*), a Diana-Hygieia (5.3-4. *ábra G, H*) forrásból és a Gellért-Ősforrásból (5.3-4. *ábra C, D*) származó biofilm minták elsősorban az ismert vasoxidáló baktériumokéhoz hasonló, vastagabb fonalas struktúrákat tartalmaztak. Ezek főként *Leptothrix* fajokra emlékeztető, hüvelyképző morfortípusok voltak. Ismert, hogy az aerob kemoorganotróf anyagcserét folytató *Leptothrix* fajok (Betaproteobacteria) pálca alakú sejtjei, az osztódásokat követően hosszú sorban egymás után, láncszerűen rendeződnek el a körülöttük kialakult csőszerű, hüvelynek nevezett képződményben (Spring 2006). A nagy mélységen lévő karsztos víztartó rétegekből a forrásvizekkel a felszínre jutó redukált vas(II)- és mangán(II) tartalmú vegyületek az oxigénben dús, aerob környezet hatására spontán kémiai úton is oxidálódnak. A *Leptothrix* fajok, melyek leggyakrabban ezekben az oxikus-anoxikus határretegekben fordulnak elő, a sejtjeik körüli szerves anyagokból álló hüvely révén nagy mennyiségű fém-oxidot és hidroxidot képesek megkötni és felhalmozni (van Veen és mtsai 1978; Hashimoto és mtsai 2007). A baktériumok körüli oxidált vasvegyületekben gazdag hüvely többféle feladatot is ellát; egyrészt védelmet biztosít a sejtek számára a parazitákkal és predátorokkal pl. bakteriofágokkal, ragadozó baktériumokkal és metazoákkal szemben, másrészt a fémek kicsapódásával és sejt felszíni felhalmozódásával a vízben oldott formák koncentrációja a sejtekre toxikus szint alá csökkenhet, ami biztosítja a túlélésüket (Spring 2006). A *Leptothrix*-szerű töredezett fonalak a SEM felvételeken gyakran üreges szerkezetekként láthatók (5.3-4. *ábra C*).

A Gellért-Ősforrásból származó biofilm mintában szokatlanul nagyméretű, hálózatos, prokarióta filamentumokat észleltünk (5.3-4. *ábra C*, melyekhez hasonló struktúrák a Diana-Hygieia termálforrás mintában is bőségesen előfordultak (5.3-4. *ábra H*). Emellett a Gellért-Ősforrás minta mikroszkópos felvételein *Nitrospira* fajokra jellemző spirillum alakú baktériumok is megfigyelhetők voltak (5.3-4. *ábra D*). A fonalas mikrobiális biofilmek nagyobb nagyítású felvételein jól látható, hogy a fonalas formák között jellegzetes, hálózatos (kb. 0,6 μm átmérőjű) szálak találhatók (5.3-4. *ábra F*). Ezeket a hálózatos képződményeket a Diana-Hygieia termálforrásból származó biofilm mintában már korábban is kimutattuk (Anda és mtsai 2014). A BTK biofilmekben megfigyelthez hasonló, fémekben gazdag hálózatos filamentumoknak más barlangi környezetekben való előfordulásáról nincs tudomásunk, de a portugáliai Paranhos forrásvízes alagút gránitfalain képződött fekete színű ferromangán bevonat tanulmányozása során hasonló morfológiai képződményekről számoltak be (Miller és mtsai 2012).



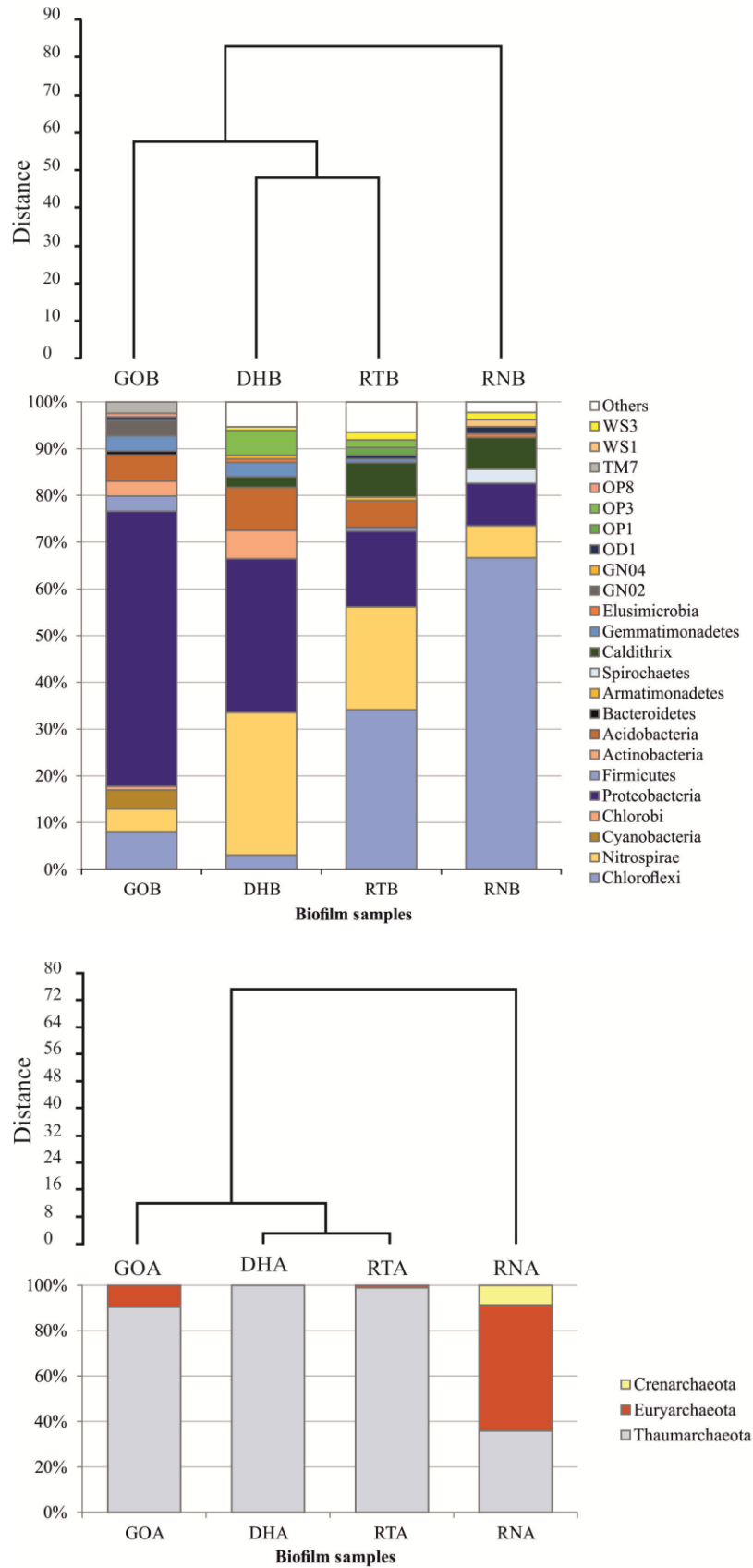
5.3-4. ábra Pásztázó elektronmikroszkópos felvételek a BTK déli megcsapolódási területén képződött vöröses-barna színű biofilmekről a Rudas-Török forrásbarlangból (A, B), a Gellért-Ősforrásból (C, D), a Rác Nagyforrásból (E, F) és a Diana-Hygieia forrásból (G, H) (Borsodi és mtsai 2018)
 (A *Leptothrix*hez hasonló morfolópusokat narancssárga, a hálózatos filamentumokat piros és a spirillum alakú baktériumokat sárga nyilak jelzik. Méretvonalak: A, 2 μm ; B) 1 μm ; C) 1 μm ; D) 1 μm ; E) 10 μm ; F) 1 μm ; G, 10 μm ; H, 1 μm .)

A BTK központi és déli megcsapolódási területéhez tartozó forrásfeltörések közül a Molnár János-barlangból, illetve a Rác Gyógyfürdő Nagyforrásából, a Rudas Gyógyfürdő Török forrásbarlangjából és Diana-Hygieia forrásából, valamint a Gellért Gyógyfürdő Ősforrásából 2012-ben gyűjtött termálvíz és kőzetfelszíni biofilm minták (továbbá a Molnár János-barlang esetében még a szürkés-fekete színű biogeokémiai kiválások) prokarióta közösségeinek tanulmányozását összesen 16 molekuláris klónkönyvtár (9 Bacteria és 7 Archaea) elemzésével végeztük el (Anda és mtsai 2017; Borsodi és mtsai 2018).

A BTK budai területén vett valamennyi termálvíz mintában – a városligeti II. sz. termálkútból származó vízmintához hasonlóan – a Betaproteobacteria osztály képviselőinek a 78-99%-os gyakoriságát mutattuk ki. Nemzetség szinten a molekuláris klónok a legnagyobb (91-94%-os) szekvencia egyezést kemolitoautotróf kénoxidáló baktériumokkal, pl. az *Annwoodia aquaesulis* (Boden és mtsai 2017) (korábban *Thiobacillus aquaesulis*), a *Thiobacillus thioeparus* és a *Sulfuritortus calidifontis* (Kojima és mtsai 2017) fajokkal mutatták. A 16S rRNS gén alapú faji/nemzetség szintű azonosítást lehetővé tevő (97/95%-os) szekvencia egyezési küszöbértékek (Stackebrandt & Goebel 1994; Tindall és mtsai 2010; Kim és mtsai 2014) alatt detektált hasonlóságok arra utalnak, hogy a BTK vízmintáiban domináns filotípusok egy eddig ismeretlen, új kénoxidáló baktériumfajnak vagy akár nemzetségnek a képviselői lehetnek. Ezt a molekuláris klónok egymás közötti 98%-nál nagyobb fokú szekvencia egyezése is megerősíti. A *Thiobacillus* nemzetség változatos anyagcseréjű, kemolitotróf kénoxidáló baktériumokat foglal magába, melyek gyakori tagjai a kénes édesvizek, tengerek és felszín alatti élőhelyek mikrobaközösségeinek (Kelly & Wood 2000). A kénoxidáló baktériumok (SOB) szerepét a karsztos barlangképződési folyamatokban mára számos kutatás igazolta (Macalady és mtsai 2007; Porter és mtsai 2009; Engel 2011; Kumaresan és mtsai 2014). Anyagcseréjük során a kénoxidáló baktériumok az elektron donorként szolgáló szulfid oxidációjával kénsavat termelnek, ami hozzájárul a karbonátos kőzetek oldódásához. A kénsavas barlangképződési folyamatok szerepét a BTK esetében nemcsak a kénoxidálókkal rokon filotípusok szokatlanul nagy relatív abundanciája alapján valószínűsíthetjük, hanem a termálvizekben mért viszonylag nagy mennyiségű szulfid koncentráció alapján is, ami szubsztrátként szolgálhat ezen kénoxidálók számára.

A BTK kőzetfelszíni biofilm mintáiból létrehozott Bacteria klónkönyvtárakban összesen 14 törzs (Chloroflexi, Nitrospirae, Cyanobacteria, Chlorobi, Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Armatimonadetes, Spirochaetes, Caldithrix, Gemmatimonadetes és Elusimicrobia), 7 kandidátus törzs (Gracilibacteria, Parcubacteria, Acetothermia, Omnitrophica, Aminicenantes, Saccharibacteria és Latescibacteria) és 2 kandidátus divízió (GN04 és WS1) képviselőit detektáltuk, vagyis a vízmintákhoz képest minden biofilm mintában már törzs szinten is sokkal nagyobb taxonómiai diverzitást tártunk fel. Közülük a Chloroflexi, a Nitrospirae, és a Proteobacteria törzsek képviselőit mutattuk ki a legnagyobb relatív abundanciával, bár mintavételi helyenként jelentősen különböző arányban (5.3-5. ábra). Meg kell jegyeznünk ugyanakkor, hogy számos taxonómiai csoport (törzs és kandidátus divízió) relatív abundanciája az 1%-ot sem érte el a mintákban, vagy csak egy-egy mintában fordult elő nagyon kis gyakorisággal.

A biofilm mintákból létesített Archaea klónkönyvtárakban 3 törzs (a Thaumarchaeota, az Euryarchaeota és a Crenarchaeota) képviselői fordultak elő (5.3-5. ábra). A Rác-Nagyforrás kivételével – ahol az Euryarchaeota törzsbe sorolt molekuláris klónok voltak a leggyakoribbak, – mindegyiket a Thaumarchaeota dominálta. A Crenarchaeota törzsbe sorolt filotípusok is csak a Rác-Nagyforrás biofilm mintában fordultak elő. A molekuláris klónok jelentős része a legnagyobb szekvencia egyezést hasonló élőhelyekről (pl. karsztforrások vizéből, barlangrendszerek mikrobiális biofilmjéből, vasban gazdag mikrobiális bevonatokból, hévforrásokból) származó környezeti klónokkal mutatta.



5.3-5. ábra A BTK köztérfelszíni biofilm mintákból létrehozott Bacteria (felül) és Archaea (alul) klónkönyvtárakban a 16S rRNS gén szekvenciák alapján azonosított filotípusok törzs szintű százalékos megoszlása mintánként (Borsodi és mtsai 2018)

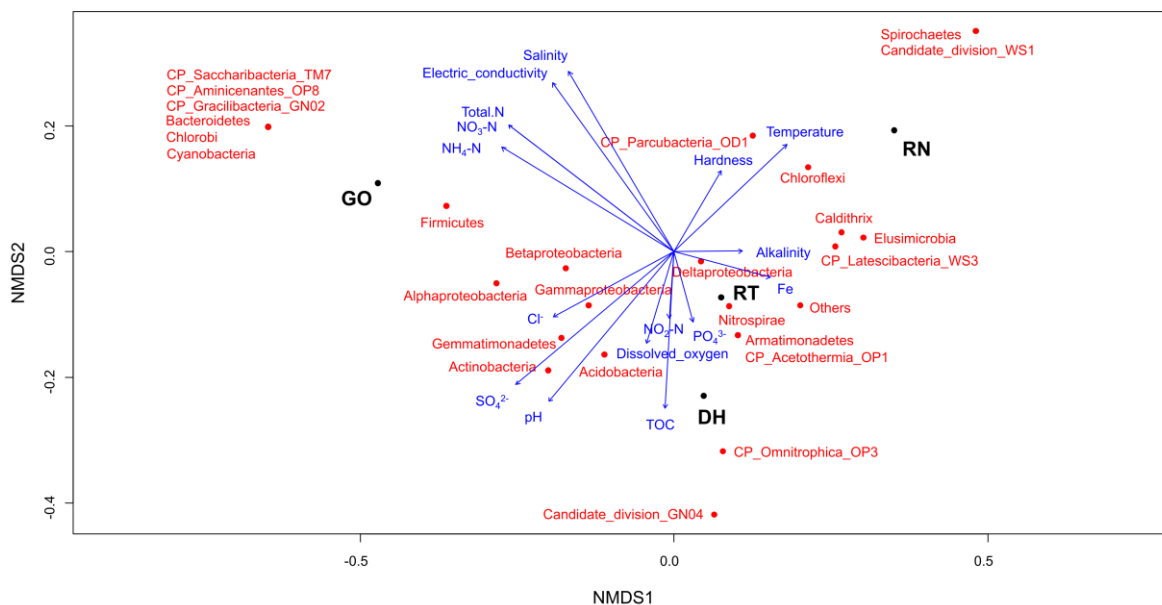
(Rövidítések: GOB – Gellért-Ósforrás; DHB – Diana-Hygieia termálforrás; RTB – Rudas-Török forrásbarlang; RNB – Rác-Nagyforrás.)

A vizsgálatba vont csaknem 2000 molekuláris klón közül mindössze alig néhányat lehetett faj- vagy nemzetség szinten azonosítani, mivel a 16S rRNS gén szekvencia egyezések messze az elfogadott határértékek alatt voltak (Stackebrandt & Goebel 1994; Kim és mtsai 2014). Mindebből arra következtethetünk, hogy a termálforrások és a forrásbarlangok karbonátos kőzetfelszínén kialakult biofilmek – a termálvizekhez hasonlóan – számos még ismeretlen, extrémofil prokarióta megtelepedése számára biztosítanak kedvező életfeltételeket.

Bár hidrogeológiai tulajdonságaik alapján mindegyik vizsgált forrásfeltörési pont a BTK déli területéhez tartozik, mégis határozott különbségek mutatkoztak az egyes mintavételi helyek között mind a biofilmek morfológiai szerkezetében, mind a molekuláris klónok taxonómiai megoszlásában.

A Rác Nagyforrásban tártuk fel a legkisebb Bacteria diverzitást (10 törzs szintű leszármazási vonallal) (5.3-5. *ábra*), emellett itt detektáltuk a legnagyobb Archaea diverzitást (5.3-5. *ábra*), valamint a legvékonyabb és legkevésbé strukturált biofilm szerkezetet (5.3-4. *ábra*). Ezzel ellentétben a Gellért-Ősforrásból származó biofilm mintában mutattuk ki a legnagyobb Bacteria diverzitást (14 törzs szintű leszármazási vonallal) (5.3-5. *ábra*) és a legnagyobb morfológiai komplexitás is ezt a biofilmet jellemezte (5.3-4. *ábra*). A Rudas Gyógyfürdő egymással szomszédos Török forrásbarlangjának és Diana-Hygieia forrásának biofilmjéből feltárt domináns Bacteria és Archaea taxonok megoszlása (5.3-5. *ábra*) és a prokarióta sejt típusok szerveződése a biofilmekben nagyfokú hasonlóságot mutatott egymással (5.3-4. *ábra*).

Mindezek alapján úgy tűnik, hogy a biofilmek taxonómiai összetételében és szerkezetében megfigyelt eltérések főként a feltörő forrásvizek fizikai és kémiai tulajdonságainak a különbözőségeit tükrözik vissza (5.3-6. *ábra*). Meg kell jegyezni azonban, hogy az NMDS diagramra illesztett környezeti változók közül egyik sem mutatott szignifikáns korrelációt a minták elválási mintázatával. Úgy gondoljuk ezért, hogy egyéb tényezőknek, mint pl. a karbonátos anyakőzet típusának is jelentős szerepe lehetett a minták elkülönülésében, hiszen a többitől leginkább eltérő Rác-Nagyforrás vize a többi forrásfeltöréstől eltérően nem a szépvölgyi mészkő, hanem a budai márga formációból származik (Borsodi és mtsai 2018).



5.3-6. *ábra* A BTK biofilm mintákból azonosított baktériumtörzsek és Proteobacteria osztályok kétdimenziós NMDS diagramja (Borsodi és mtsai 2018)

(A környezeti változókat vektorokként illesztettük a PCA ordinációra. Stressz: <0,1.

Rövidítések: GO – Gellért-Ősforrás; DH – Diana-Hygieia termálforrás;

RT – Rudas-Török forrásbarlang; RN – Rác-Nagyforrás.)

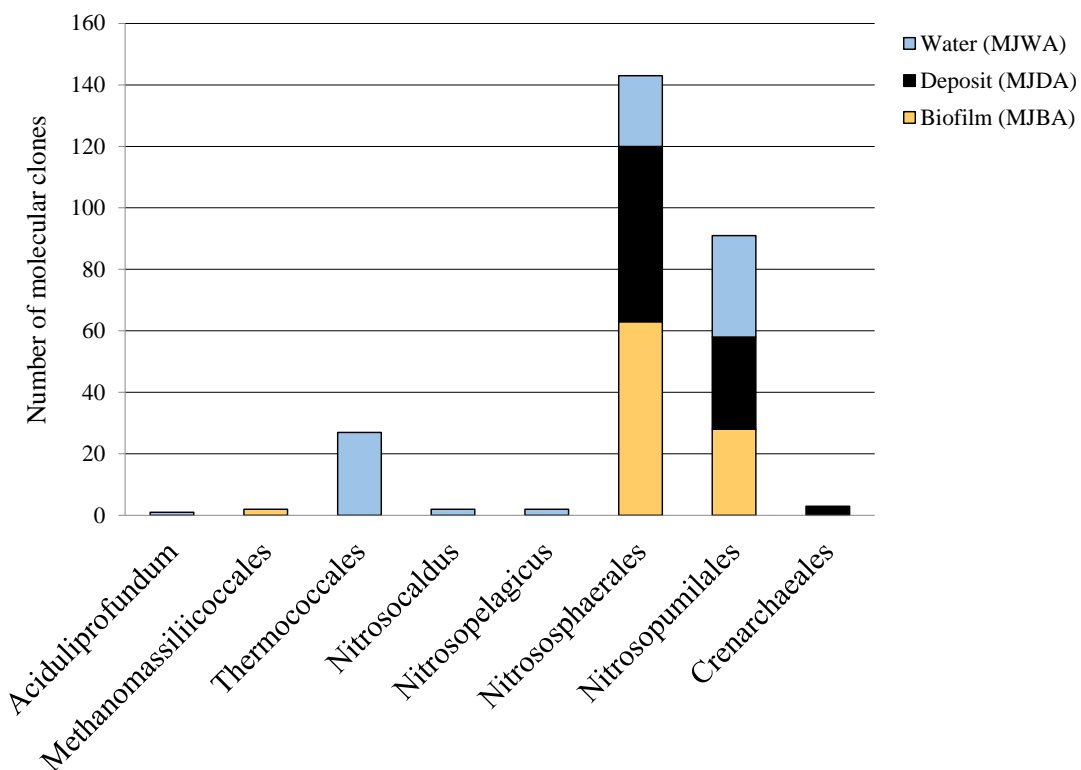
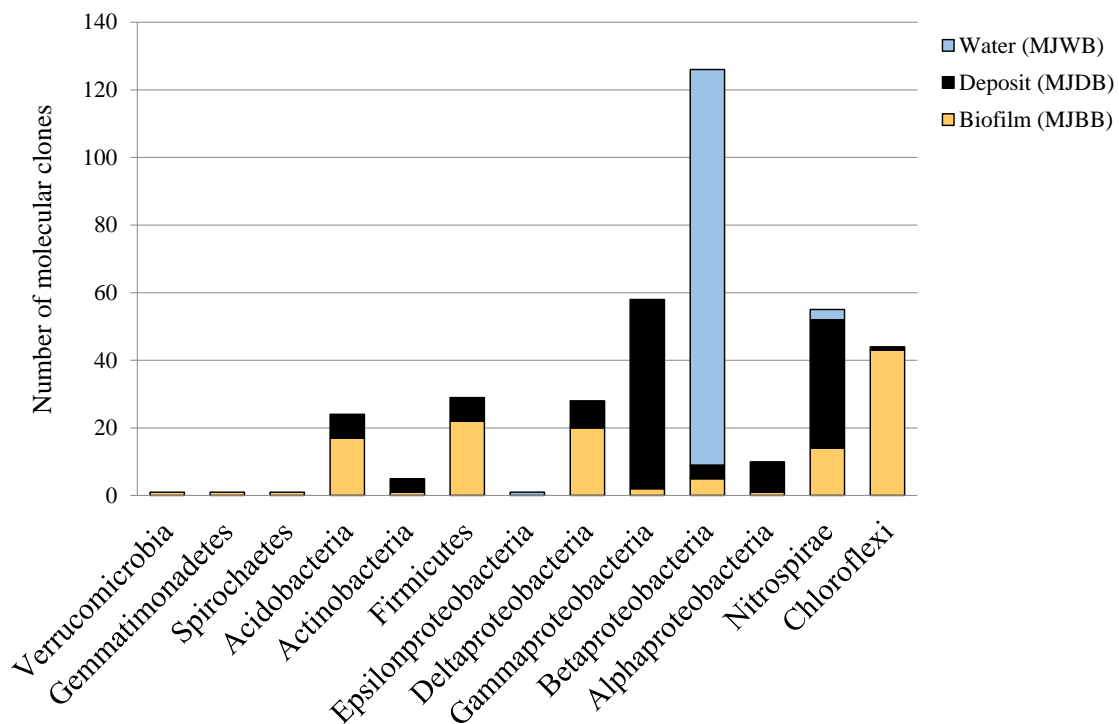
A BTK déli megcsapolódási területén egyes taxonómiai csoportok relatív abundanciája és a mintavételi helyek közti földrajzi távolság között is korrelációt lehetett felfedezni; a legdélibb Gellért Ősforrástól a legészakibb Rác Nagyforrás irányában a molekuláris klónok arányában a Proteobacteria törzsnél csökkenést, míg a Chloroflexi törzsnél növekedést figyeltünk meg (5.3-5. ábra).

A Chloroflexi törzsbe sorolt klónszekvenciák legnagyobb (30%-ot meghaladó) gyakorisággal a központi Molnár János-barlang (5.3-7. ábra), valamint a déli Rác-Nagyforrás és Rudas-Török forrásbarlang (5.3-5. ábra) biofilm mintákban voltak jelen. A Chloroflexi törzs tagjai gyakoriak hévforrásokban (Costa és mtsai 2009; Grégoire és mtsai 2011; Miller és mtsai 2012), de *Chloroflexus* fajokat detektáltak a wyomingi Lower Kane-barlang, az olaszországi Frasassi-barlangrendszer és a mexikói Cueva de Villa Luz hipogén barlangokból is (Engel 2007). Mindegyik BTK Bacteria klónkönyvtárban azonosítottunk Anaerolineae osztályba tartozó molekuláris klónokat, és a rájuk jellemző hosszú fonalakat elektronmikroszkópiával is megfigyeltük. Ennek az osztálynak a termofil, szigorúan anaerob kemoorganotróf életmódja (Yamada és mtsai 2006) összhangban van a BTK által biztosított környezeti feltételekkel. Eredményeink alapján ezért azt feltételezzük, hogy az Anaerolineae osztályba tartozó baktériumok a hazai termálkarszt rendszerek állandó tagjai lehetnek, hiszen jelenlétüket nemcsak ebben az összehasonlító vizsgálatban, hanem a korábbi BTK kutatás során is igazoltuk mind a Molnár János-barlang, mind a Rudas Török-forrásbarlang biofilmjéből (Borsodi és mtsai 2012), és kimutattuk a Villányi-hegység előterében lévő harkányi termálvízben (Miseta és mtsai 2012), valamint a városligeti II. sz. kút csővezetékében képződött biofilmből is (Anda és mtsai 2015).

A BTK termálvíz mintákban, ahol mindegyik forrásfeltörésnél neutrálshoz közeli pH értékeket mértünk (Függelék 11.1-6. táblázat), kizárólag Betaproteobacteria osztályba tartozó (*Thiobacillus*, *Thiobacter*, *Sulfuricella*, *Sulfurisoma* és *Sulfuritalea*) fajokkal rokon filotípusok képviselték a kénoxidáló és egyben nitrát-redukcióra is képes baktériumokat (5.3-8. ábra). A kemolitotróf és fakultatív anaerob anyagcsere-kombinációnak ez a formája a termálkarszt redukív körülményeihez való alkalmazkodás mellett, a kén és a nitrogén biogeokémiai ciklusának szoros kapcsolatára is utal. A BTK-val szemben az extrém savas kémhatású hipogén barlangokból (pl. az új-mexikói Lechuguilla- és Carlsbad-barlangból vagy az olaszországi Frasassi-barlangrendszerből) a Beta-, a Gamma- és az Epsilonproteobacteria osztályokba tartozó, acidofil kénoxidáló baktériumoknak sokkal nagyobb diverzitását tárták fel (Macalady és mtsai 2006, 2008; Engel 2011; Gray & Engel 2013). A BTK-ra jellemző relatíve magas szulfát koncentráció (Függelék 11.1-6. táblázat) és a redukív környezet ugyanakkor kedvező feltételeket biztosított a Deltaproteobacteria osztályba tartozó, anaerob kén-, szulfát- és vas(III)-redukáló (pl. *Desulfuromonas*, *Deferrisoma*, *Desulfomonile*, *Desulfuromusa*, *Desulfovibrio*) fajokkal rokon filotípusok biofilmekben való megtelepedéséhez (5.3-8. ábra).

Az új évezredben egyre több tanulmány számolt be a Nitrospirae törzsbe tartozó filotípusok jelenlétéről hévforrások biofilmjében (Marks és mtsai 2012) és különböző felszín alatti karsztos környezetekben (Pašić és mtsai 2010; Kostanjšek és mtsai 2013; Pleše és mtsai 2016). Vizsgálatunk során a Nitrospirae mindhárom ismert anyagcseretípusával (az autotróf nitritoxidáló Nitrospirales, az anaerob metán-oxidáló *Methylomirabilis* és az anaerob, termofil, szulfátredukáló *Thermodesulfovibrio*) szoros rokonságban álló molekuláris klónokat kimutattunk, legnagyobb arányban az egymással szomszédos Diana-Hygieia termálforrásból és Rudas-Török forrásbarlangból származó biofilm mintákban (5.3-8. ábra), valamint a Molnár János-barlangból gyűjtött barnás-fekete színű biogeokémiai kiválásban (5.3-8. ábra). Molekuláris klónjaink a legnagyobb fokú (de mindössze 95,9%-os, így faji szintű azonosítást nem biztosító) szekvencia egyezést a *Nitrospira moscoviensis* faj típus törzsével mutatták, amit egy korrodált vas-csővezetékéből írtak le (Ehrich és mtsai 1995). Érdekes megjegyezni, hogy a *Candidatus Nitrospira inopinata* fajnak egy geotermikus forrás (Aushiger, Észak-Kaukázus, Oroszország) biofilmjéből izolált törzse képes a teljes nitrifikációra (vagyis az ammóniának nitráttá történő oxidációjára) (Daims és mtsai 2015; Daims & Wagner 2018). A két geotermikus élőhely fizikai-

kémiai tulajdonságainak nagyfokú hasonlósága és a Nitrospirae törzs képviselőinek domináns előfordulása alapján ezért azt feltételezzük, hogy az ún. komammox szervezetek a BTK biofilmjeiben is jelen lehetnek.



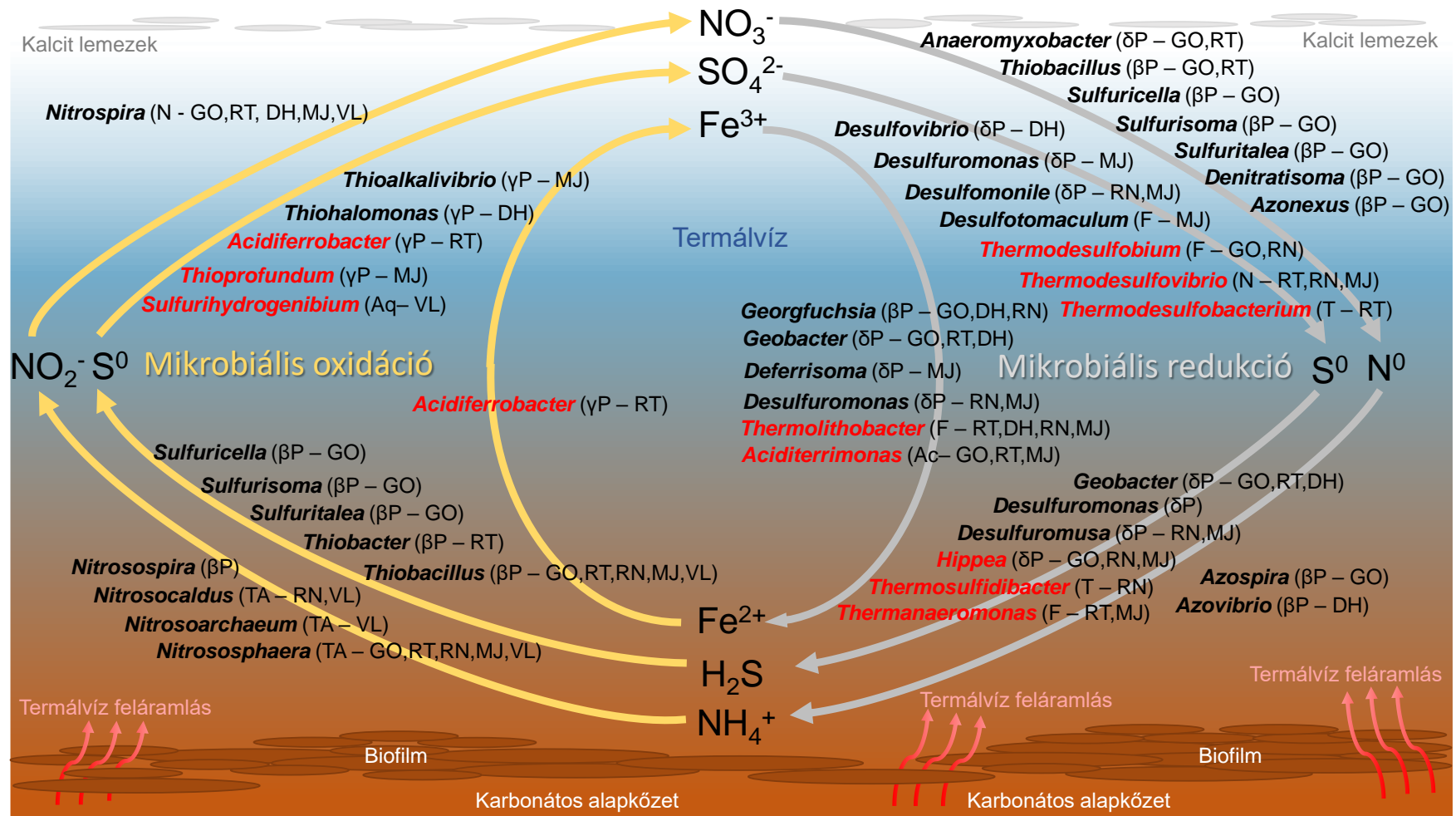
5.3-7. ábra A Molnár János-barlangból (MJ) létrehozott Bacteria (B, felül) és Archaea (A, alul) klónkönyvtárak 16S rRNS génszekvenciáinak baktériumtörzsek és Proteobacteria osztályok, valamint Archaea rendek közötti megoszlása minta típusonként (*Anda és mtsai 2017*)
(Rövidítések: W – vízminta; D – biogeokémiai kiválás; B – biofilm.)

A termofil, anaerob nitrát-redukáló kemoorganotróf anyagcserét folytató *Caldithrix* nemzetséggel rokon filotípusok általános előfordulása szinte valamennyi vizsgált biofilm mintában a BTK déli részén található különleges hidrogeológiai jellemzőknek (pl. a mély regionális áramlási rendszerből származó magas hőmérsékletű víznek) tulajdonítható (Eröss és mtsai 2012; Mádl-Szőnyi és mtsai 2017). Ismereteink alapján ebbe a leszármazási vonalba tartozó baktériumok képviselőit elsősorban különböző geotermikusan fűtött és/vagy aktív vulkanikus környezetekből mutatták ki (Miroshnichenko és mtsai 2003, 2010), de termálvízzel érintett, hipogén karsztos ökoszisztémákból még nem.

A BTK triász-dolomitből fakadó gellérthegyi forrásainak biofilmjeiben az Acidobacteria törzsbe sorolt filotípusok is viszonylag nagy változatosságban voltak jelen. Tenyésztéstől független geomikrobiológiai vizsgálatok szerint más karsztok mikrobiális közösségeinek is meghatározó részét képezik az Acidobacteria törzs képviselői (Engel és mtsai 2010; Pašić és mtsai 2010; Shabarova & Pernthaler 2010; Rusznyák és mtsai 2012). Ökofiziológiai szerepük azonban a tenyésztésbe vont és leírt fajok igen kis száma miatt többnyire ismeretlen.

A Bacteria domén taxonómiai diverzitásához képest a karsztos barlangi környezetekben előforduló Archaea sokféleség még nagyrészt feltáratlan (Legatzki és mtsai 2011; Tetu és mtsai 2013; Ortiz és mtsai 2014). Vizsgálatunk során a mélyen leágazó Thaumarchaeota törzshöz tartozó filotípusok dominálták a BTK biofilmeket, a Rác-Nagyforrás kivételével (5.3-7. *ábra*). Molekuláris klónjaink a legnagyobb szekvencia egyezéseket a *Nitrososphaera viennensis* (Stieglmeier és mtsai 2014) és a *Candidatus Nitrososphaera gargensis* (Spang és mtsai 2012) szekvenciákkal mutatták. A Molnár János-barlangból származó mindhárom mintatípus Archaea közösségeit a Nitrososphaerales rend képviselői mellett a Nitrosopumilales rend képviselői dominálták (5.3-7. *ábra*). Napjainkban a Thaumarchaeota fajokat a globális nitrifikáció meghatározó szereplőinek tekintik (Stahl & de la Torre 2012). Az aerob kemolitoautotróf ammóniaoxidáló archaeákat (AOA) az ammóniaoxidáló baktériumokhoz (AOB) képest extrémebb élőhelyeken is detektálták, pl. hévforrásokban és savas talajokban (Stahl & de la Torre 2012). A Kartchner-barlang (Arizona, USA) és az ausztráliai Nullarbor Plain hipogén Weebubbarlang speleotémáinak metagenomikai elemzése szintén a Thaumarchaeota törzsbe tartozó AOA dominanciáját mutatta (Tetu és mtsai 2013; Ortiz és mtsai 2014), ami megerősíti az ősbaktériumok közreműködésével zajló aerob ammónia-oxidáció lehetőségét a BTK területén is.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a BTK területén kialakult biofilmek morfológiai szerkezetét és taxonómiai összetételét nagymértékben befolyásolják a felszínalatti vizek regionális áramlási rendszerei, a feltörő forrásvizek fizikai és kémiai tulajdonságai és a forrásbarlangok anyakőzetének a típusa is. A BTK egyedi hidrogeológiai sajátosságainak köszönhetően a kutatásba vont molekuláris klónok a legnagyobb szekvencia-egyezést 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 (5.3-8. *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).



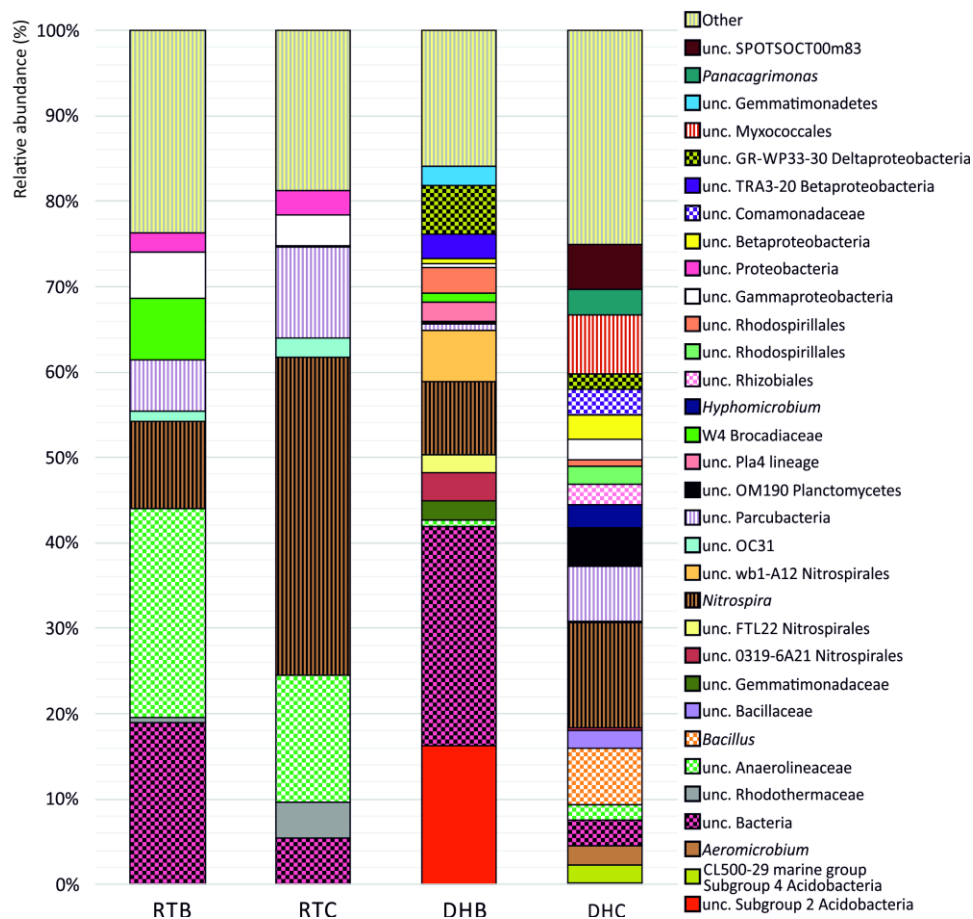
5.3-8. ábra A BTK biofilm mintákból azonosított baktérium nemzetségeknek a nitrogén-, a kén- és a vas biogeokémiai ciklusában feltételezett szerepe (Rövidítések: MJ – Molnár János-barlang; RN – Rác Nagyforrás; RT – Rudas-Török forrásbarlang; DH – Diana-Hygieia termálforrás; GOB – Gellért-Ősforrás; Aq – Aquificae; Ac – Actinobacteria; F – Firmicutes; N – Nitrospirae; β P – Betaproteobacteria; γ P – Gammaproteobacteria; δ P – Deltaproteobacteria; T – Desulfobacterota; TA – Thaumarchaeota.)

Annak érdekében, hogy részletesebb betekintést nyerjünk a BTK forrásbarlangjainak különböző felületein fejlődött mikrobaközösségek taxonómiai összetételébe, 2015-ben újabb elemzést végeztünk NGS módszerrel (a 16S rRNS gén variábilis V3-V4 régiójának nagy áteresztőképességű piroszekvenálásával). Ennek során a BTK déli megcsapolódási területén a Diana-Hygieia termálforrásban és a Rudas-Török forrásbarlangban a kőzetfelszíni vöröses-barna biofilm és a termálvíz felültén úszó szürkés-barna karbonát-kiváláson fejlődött baktériumközösségek összetételét hasonlítottuk össze (Enyedi és mtsai 2019).

A BTK minták elemanalízisével megállapítottuk, hogy az egymással szomszédos mintavételi helyeken a legfőbb elemek (≥ 1 m/m%) a Fe és a Ca voltak, melyek vas-oxihidroxidok és mészkőásványok formájában halmozódtak fel a biofilmekben. A Fe-tartalomban mintánként eltérést találtunk, a legnagyobb értéket a Diana-Hygieia biofilm mintában mértük. Emellett a Mg és a S a Rudas-Török biofilm mintára, míg a Mn a Diana-Hygieia karbonát-kiválás mintára volt jellemző. A kisebb mennyiségben előforduló elemek közül (0,1-1 m/m%) az Al, a Si, a P és a Ti mindenütt jelen volt, míg néhány más elem mintaszpecifikusnak bizonyult, pl. a Sr a Diana-Hygieia karbonát-kiválás esetében, míg az As a Diana-Hygieia biofilm esetében. A BTK biofilm mintákban kimutatott elemkoncentrációk (pl. As, Hg, Pb, Sn, Sr, Zn) 1,5-től 60-szor nagyobbak voltak, mint a nem szennyezett talajok tipikus háttérértékei, ami ezen elemeknek a biogeokémiai kiválásokban való felhalmozódására utalt. Az ebben a vizsgálatban mért értékek jó egyezést mutattak a BTK biofilmekben korábban mért TXRF értékekkel (Dobosy és mtsai 2016). Az ólom biofilmekben való feldúsulása a radon és leányelemeinek bomlástermékeire volt visszavezethető. A forrásvizek radioaktivitása hasonló volt az Eröss és mtsai (2012) által korábban közzétett adatokhoz. A BTK termálvizeiben detektált ^{222}Rn koncentrációk (600 ± 21 Bq l⁻¹ és 1006 ± 45 Bq l⁻¹) kimagaslóan magasnak tekinthetők a világ más természetes termálvizeiben mért radon aktivitással összehasonlítva. A BTK biofilmek kémiai jellemzőit a medence eredetű fluidumok áramlási mintázata és a lokális fizikai, kémiai és hidrogeológiai viszonyok egyaránt befolyásolták (Eröss és mtsai 2012; Mádl-Szőnyi & Tóth 2015).

A BTK két termálforrásában, a bevonatképző baktériumközösségek összetételét feltáró kutatásunk során a négy mintából összesen 9032 jó minőségű baktérium 16S rRNS génszekvenciát nyertünk piroszekvenálással. A Good-féle értékek alapján valamennyi minta nagyfokú szekvencia-lefedettséget mutatott (Függelék **11.1-4. táblázat**). A diverzitási (pl. inverz Simpson) és a fajgazdagsági (pl. Chao1, ACE) indexek a szürkés-barna karbonát-kiválás mintákban nagyobbak voltak, mint a vöröses-barna biofilm mintákban. A Diana-Hygieia termálforrás mintákban a Rudas-Török forrásbarlanghoz képest megfigyelt kisebb fajgazdagság hátterében az előbbi esetében mért extrém magas radioaktivitás és a potenciálisan toxikus fémtartalom koncentráció értékek diverzitás csökkentő hatása állhatott. Egyes környezeti paraméterek extremitása ellenére – az újgenerációs szekvenálási adatok alapján – meglepően nagy taxonómiai diverzitást tártunk fel mindegyik vizsgált baktériumközösségben. A szekvenciák jelentős részét azonban, leírt és ismert taxonok hiányában, nem tudtuk a Bacteria doménen belül pontosabb taxonómiai csoportba besorolni. Az elemzés a domináns törzsek (Nitrospirae Chloroflexi, és Proteobacteria) vonatkozásában mindegyik mintában hasonló eredményre vezetett, bár azok relatív gyakoriságában nagy különbségeket találtunk (**5.3-9. ábra**). Ez alapján azt feltételezzük, hogy az egyes minták baktérium összetételében mutatkozó különbségek a minták mikrokémiai elemzésével összefüggő élőhelyi különbségekből adódhattak (Enyedi és mtsai 2019).

A Nitrospirae törzs képviselőinek a relatív abundanciája 8,7% és 37,2% között változott a mintákban (**5.3-9. ábra**). Ezek a viszonylag nagy gyakorisági értékek összecsengtek a BTK-ban korábban végzett kutatási eredményeinkkel (Anda és mtsai 2017; Borsodi és mtsai 2018). A nitritoxidáló kemolitotróf anyagcseréjű *Nitrospira* baktériumoknak ez az állandó és tömeges jelenléte a termálkarsztos élőhelyeken bizonyítja alapvető szerepüket a lokális nitrogén körforgalomban.



5.3-9. ábra A Rudas-Török forrásbarlang és a Diana-Hygieia termálforrás bevonatképző baktériumközösségeinek piroszekvenálással feltárt taxonómiai összetétele nemzetség szinten (Enyedi és mtsai 2019)

(Rövidítések: RTB – Rudas-Török forrásbarlang vöröses-barna biofilm; RTC – Rudas-Török forrásbarlang szürkés-barna karbonát-kiválás; DHB – Diana-Hygieia termálforrás vöröses-barna biofilm;

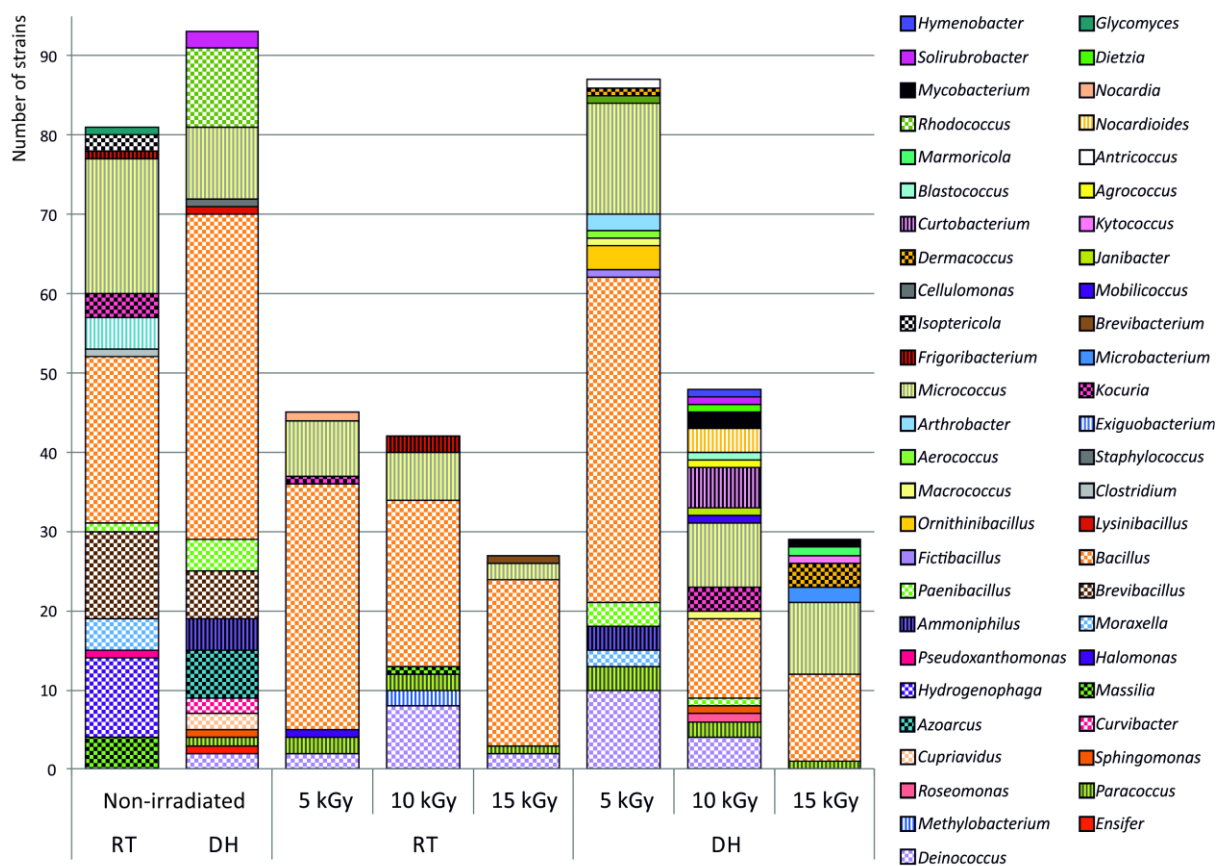
DHC – Diana-Hygieia termálforrás szürkés-barna karbonát-kiválás.

A <2% relatív gyakoriságú nemzetségeket "Other" kategóriába soroltuk.)

Korábbi vizsgálati eredményeinkkel összhangban (Borsodi és mtsai 2018), a Chloroflexi törzs (Anaerolineaceae) képviselőinek aránya elsősorban a Rudas-Török forrásbarlangi mintákban volt jelentős (5.3-9. ábra). Ezeket a fonalas szerveződésű baktériumokat a Hévízi-tó termálvizéből (Krett és mtsai 2017) és más barlangi környezetekből is kimutatták már (Barton 2015). Az Actinobacteria törzsbe tartozó szekvenciákat azonban csak a szürkés-barna karbonát-kiválásokról mutattuk ki (5.3-9. ábra). A hipogén barlangi környezet (a nagy relatív páratartalom, az állandó hőmérséklet) és a kemolitotrófok által előállított biomassza lehetőséget teremthet az aerob heterotróf baktériumok, különösen az Actinobacteria törzs képviselőinek a szaporodásához (Cañveras és mtsai 2001). Nem véletlen, hogy az Actinobacteria törzs tagjai a száraz karsztbarlangok jellemző, tenyésztendő baktériumai közé tartoznak (Groth és mtsai 1999; Cuezva és mtsai 2012; Zhu és mtsai 2019). Az is ismert róluk, hogy aktívan képesek részt venni a biomineralizációs folyamatokban (Rusznay és mtsai 2012; Cao és mtsai 2016). A jelentőségükhöz hozzájárul az is, hogy bioaktív vegyületeket is termelhetnek (Rangseekaew & Pathom-aree 2019). A barlangi környezetekből is gyakran tenyésztésbe vont *Bacillus* fajokkal (Firmicutes) rokon szekvenciákat kizárólag a Diana-Hygieia termálforrásból származó karbonát-kiválás mintából azonosítottuk. A közismerten nagy ellenállóképességű (pl. sugárrezisztens) és endospóra képzésre is képes *Bacillus* fajokhoz tartozó izolátumokat korábbi tenyésztéses vizsgálatunk során is azonosítottuk ebből a forrásbarlangi környezetből (Anda és mtsai 2014). Jelentősnek mondható arányban (5,8%-10,6%) fordultak elő mintáinkban a Parcubacteria törzs képviselői is, melyeket főként

anoxikus környezetekből írtak le (Nelson & Stegen 2015), de kimutatták őket nitráttal és radionukliddal szennyezett talajvízből is (Nazina és mtsai 2020). Bár laboratóriumi körülmények között még nem sikerült tenyésztésbe vonni a Parcubacteria törzsbe tartozó szervezeteket, a genomikai elemzések arra utalnak, hogy ezek a rendkívül kis genommérettel (<1 Mb) és korlátozott anyagcsere-képességekkel rendelkező (pl. bioszintetikus útvonalak teljes vagy részleges hiányát mutató) baktériumok ektoszimbionta vagy parazita életmódot folytathatnak (Nelson & Stegen 2015). Biofilmekben való előfordulásuknak az is kedvez, hogy a sejt-sejt kontaktust potenciálisan közvetítő géneknek a széles skáláját azonosították bennük.

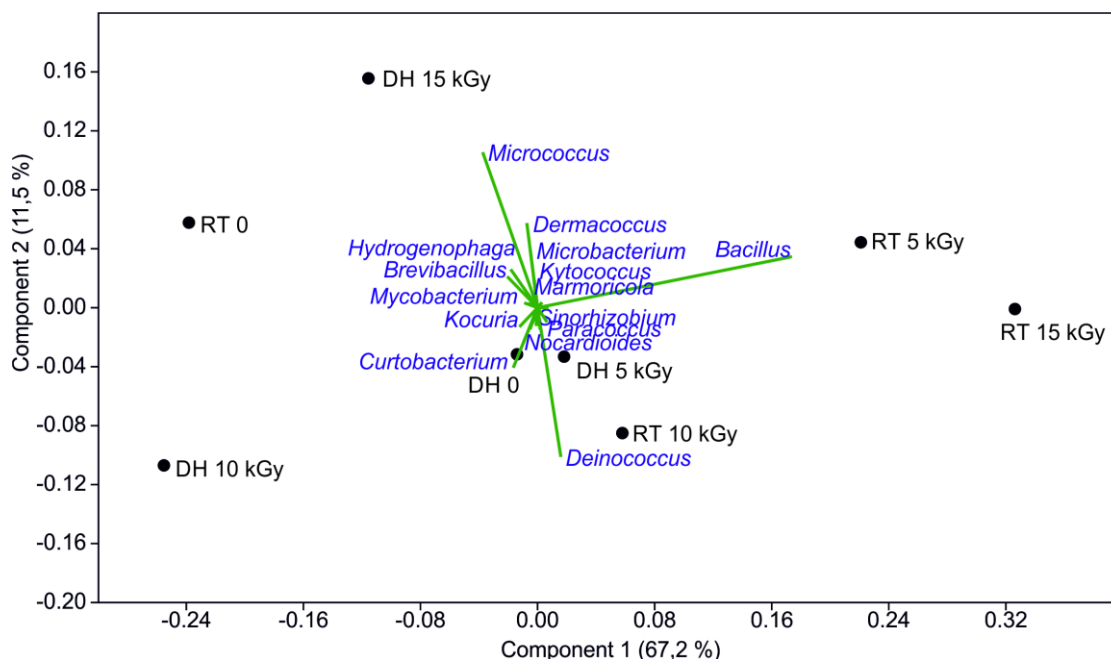
A BTK forrásbarlangi környezetében élő extremofil baktériumok sugárrezisztencia képességének vizsgálatára a bevonatmintákat az NNK Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Főosztályán 5 kGy, 10 kGy és 15 kGy dózisu Co-60 sugárforrásból származó gammasugárzásnak tettük ki, melyek aktuális aktivitása 93,7 TBq, legdózis-teljesítménye 28,9679 Gy min⁻¹ volt (Enyedi és mtsai 2019). A besugárzást követően a mintákat a barlangi környezetet utánzó, különféle összetételű, de minden esetben alacsony szerves anyag tartalmú táptalajon szélesztettük. Kontrollként mindegyik esetben nem besugárzott (kezeletlen) mintákat használtunk. A tenyésztés során a mintákból összesen több mint 450 baktériumtörzset vontunk vizsgálatba. ARDRA csoportosításuk után 131 törzs 16S rRNS gén bázissorrend elemzését végeztük el a faji szintű azonosításhoz. A reprezentatív izolátumok döntő többségét (123-at a 131-ből) a Firmicutes, az Actinobacteria, a Proteobacteria (Alpha-, Beta- és Gammaproteobacteria osztályok) és a Deinococcus-Thermus törzsek képviselőiként azonosítottuk (5.3-10. ábra).



5.3-10. ábra A Rudas-Török forrásbarlangból (RT) és a Diana-Hygieia termálforrásból (DH) nemzettség szinten azonosított kezeletlen és 5 kGy, 10 kGy és 15 kGy gammasugárzással kezelt tenyésztésbe vont baktériumtörzsek megoszlása (Enyedi és mtsai 2019)

A többi izolátum ugyanakkor mindössze 93,0-96,4%-os szekvenencia-hasonlóságot mutatott a *Glycomyces*, a *Deinococcus*, az *Antricoccus*, a *Bacillus*, az *Ornithinibacillus* és a *Paenibacillus* nemzetségek különböző fajainak típusörzseivel. Ezeknek a potenciálisan új fajoknak a képviselőit szinte kizárólag a besugárzott mintákból tenyésztettük ki. Vizsgálatunk során csaknem minden mintából a Gram-pozitív Firmicutes és Actinobacteria törzsekbe sorolt izolátumok kerültek elő leggyakrabban. Emellett a kezeletlen mintákból Betaproteobacteria osztályba tartozó baktériumokat is izoláltunk. Egyes taxonok esetében minta specifikus előfordulást figyeltünk meg, pl. az Alphaproteobacteria és a *Deinococcus-Thermus* csoportok tagjai csak a Rudas-Török biofilmből, míg a Gammaproteobacteria tagjai csak a Diana-Hygieia biofilmből kerültek elő. A tenyésztéssel kimutatott baktériumtaxonok többségét piroszekvenálással nem tudtuk azonosítani, vagy <1%-os relatív abundanciával fordultak elő az amplikon-könyvtárakban. Mindez ráirányította a figyelmünket a tenyésztéses és nemtenyésztéses eljárások eltérő szelektivitásából adódó ismert korlátokra (Staley & Konopka 1985; Spring és mtsai 2000; Márialigeti 2008; Pham & Kim 2012), ugyanakkor rávilágított a kétféle módszer párhuzamos alkalmazásának egymást kiegészítő eredményességére is (Bohus és mtsai 2010; Krett és mtsai 2017).

Meglepetésünkre a Diana-Hygieia termálforrás sugárkezelt biofilmjéből nagyobb taxonómiai diverzitást tártunk fel, mint az ugyaninnen származó kezeletlen mintából. Ez összhangban lehetett a két termálforrás eltérő radioaktivitásával is, mivel a Diana-Hygieia mintából sugárzásnak jobban ellenálló baktériumokat tenyésztettünk ki, mint a Rudas-Török mintából (Enyedi és mtsai 2019). A jelenség talán azzal magyarázható, hogy a besugárzást követően a sugárrezisztens, de lassan fejlődő (így kevésbé versenyképes) és a sugárzást kitarító képletek (pl. endospóra) formájában túlélő baktériumok is tenyészthetővé váltak. Ezt a feltételezést támasztja alá a tenyészthető nemzetségek mintatípusok szerinti megoszlásáról készült ordinációs diagram is (5.3-11. ábra), melyen a nagyobb (10 kGy és 15 kGy dózissal) sugárzással kezelt minták a kezeletlen és kisebb (5 kGy dózissal) sugárzással kezelt mintáktól távol helyezkednek el. Az ábráról az is látható, hogy bizonyos nemzetségek nagy számú izolátummal vagy csak az egyik vagy csak a másik sugárkezelt mintában voltak jellemzők pl. a *Bacillus* az 5 kGy-es és 15 kGy-es, a *Deinococcus* a 10 kGy-es Rudas-Török mintákban, míg a *Micrococcus* az 5 kGy-es Diana-Hygieia mintában.



5.3-11. ábra A besugárzott és a kezeletlen mintákból kitenyésztett baktérium nemzetségek főkomponens-analízisének biplotja (Enyedi és mtsai 2019)
(Az ábrán csak a variancia szempontjából releváns nemzetségeket tüntettük fel. A számok a gammasugárzással kezelt dózist jelölik. Rövidítések: RT – Rudas-Török forrásbarlang; DH – Diana-Hygieia termálforrás.)

Általánosságban elmondható, hogy a BTK biofilmekből tenyésztésbe vont izolátumok többsége Gram-pozitív sejtfalszerkezetű és/vagy nagy (>65 mol%) DNS G+C aránnyal rendelkező baktériumfaj képviselője volt. Ezek a sejtszerkezeti sajátosságok más ismert tulajdonságokkal (pl. pigmentképzéssel) együtt hozzájárulhattak a baktériumok sugárrezisztenciájához. Az endospóra képzésük révén a környezeti hatásoknak ellenálló *Bacillus* nemzetség képviselői mindkét mintavételi helyről származó mintában változatos faji összetételben fordultak elő. A BTK-ból származó izolátumok nagyon jól alkalmazkodtak a különböző erősségű gammasugárzáshoz (5.3-11. ábra), csakúgy mint a hazai felső perm homokkőből (aleurolit formációból) izolált és változatos sugárrezisztenciát mutató aerob és anaerob spóráképző baktériumok (Farkas és mtsai 2002).

Tenyésztéses vizsgálatainkat a radioaktív Misasa termálforrás (Japán) Ra-, Fe- és Mn-tartalmú biofilmjének 2,3 kGy gammasugárzást követően vizsgált baktériumközösségeivel (Asker és mtsai 2007) összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a BTK Diana-Hygieia és Rudas-Török biofilm minták egyedi baktériumtaxon-összetétellel rendelkeztek. Eredményeink ugyanakkor összhangban voltak más sugárkezelés kísérlet pl. *Brevibacterium* spp. (Welch & Maxcy 1975), *Deinococcus aquaticus* (Im és mtsai 2008), *Exiguobacterium acetylicum* (Kim és mtsai 2007) és *Kocuria* sp. (Asgarani és mtsai 2012) eredményeivel, bár a BTK-ból izolált baktériumokat nagyobb mértékű sugárrezisztencia jellemezte. A legerősebb (15 kGy) sugárdózisnak kitett BTK biofilm mintákból *Paracoccus*, *Marmoricola*, *Kytococcus* és *Dermacoccus* nemzetségekbe sorolt izolátumokat azonosítottunk. Számos, vizsgálataink alapján sugárrezisztensnek tekinthető izolátum, pl. a *Paracoccus*, az *Ornithinibacillus*, a *Fictibacillus*, az *Antricoccus*, az *Aerococcus*, a *Macrooccus*, a *Mobilicoccus*, a *Frigoribacterium*, a *Kytococcus*, a *Dermacoccus*, a *Roseomonas*, a *Moraxella* és a *Halomonas* nemzetségek tagjai, korábban még nem kerültek elő radioaktív sugárzásnak kitett élőhelyekről vagy nem volt ismert sugárzással szembeni rezisztenciájuk. Korábban a BTK központi megcsapolódási területéhez tartozó Molnár János-barlangból, mely szintén jelentős (12,71-83,68 Bq l⁻¹) radioaktivitással jellemezhető (Csondor és mtsai 2017), a *Brevibacillus*, a *Janibacter* és a *Micrococcus* nemzetségek mellett az *Aeromonadaceae* és *Enterobacteriaceae* (Proteobacteria) családok tagjait vontuk tenyésztésbe (Anda és mtsai 2017).

A BTK-ból kitenyésztett sugárrezisztens baktériumok nagy része más környezeti tényező, pl. nehézfémekkel és toxikus elemekkel szembeni tűrőképesség vonatkozásában is extremotoleránsnak tekinthető. A BTK biofilmekben mért fémek és toxikus elemek koncentrációja alapján valószínűsíthető, hogy számos általunk tenyésztésbe vont baktériumtörzs a potenciálisan mérgező elemek és fémek megemelkedett koncentrációját is képes elviselni. Irodalmi adatok alapján ismert a fémrezisztencia pl. a *Moraxella osloensis* (Escalante és mtsai 2009), a *Kocuria palustris* és számos *Bacillus* spp. (Kumari és mtsai 2015), valamint a *Curtobacterium citreum* (Roane & Kellogg 1996) fajoknál. Ezenkívül különböző baktériumok pl. a *Paracoccus chinensis* és a *Brevibacillus choshinensis* (Durve és mtsai 2013), valamint a sejtfelszíni S-réteggel rendelkező *Bacillus* spp. (Allievi 2011) a fémek bioakkumulációjával vagy bioszorpciójával hozzájárulhatnak a biofilmekben végbemenő fémfelhalmozódáshoz. Egy indiai arzénal szennyezett talajvízből kitenyésztett és *Pseudoxanthomonas mexicana* fajként azonosított baktériumban pl. nemrégiben kimutatták az arsenát detoxifikációért felelős arsenát redukáz *arsC* gén jelenlétét (Sarkar és mtsai 2013).

A baktériumok negatív töltésfelesleggel rendelkező sejtfala és a sejtek körüli EPS képes kationokat megkötni, ami elősegítheti a különféle ásványok (pl. karbonátok, vas és mangán oxidok és hidroxidok) képződésének passzív folyamatát. Ezeknek az ásványoknak a jelenlétét a BTK biofilmekben az elektronmikroszkópos és elemanalízis vizsgálatok is bizonyították. Taxon-specifikus kristálymorfológiájú kalcit biomineralizációt több általunk is izolált baktérium, pl. a *Bacillus* spp., a *Cupriavidus necator* (Chalia és mtsai 2017), a *Lysinibacillus fusiformis* (Park és mtsai 2010), a *Rhodococcus* és az *Arthrobacter* (Rusznay és mtsai 2012), valamint a *Halomonas* (Achal és mtsai 2012) nemzetségek esetében is megfigyeltek. A vas-oxidokkal és karbonátokkal együtt számos toxikus

fém is koprecipitálódhat, ami csökkenti a baktériumközösség mikrokörnyezetében az oldott formák elérhetőségét, ezáltal megkönnyíti a baktériumsejtek túlélését (Achal és mtsai 2012).

Kutatásaink eredményeinek összegzésekképpen megállapíthatjuk, hogy a komplex (kémiai, elemanalitikai, mikromorfológiai, tenyésztéses, klónozásos és újgenerációs szekvenálási) 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 (Enyedi és mtsai 2019).

5.3.2. *A Rudas Gyógyfürdő forrásbarlangjában in situ végbemenő biofilm képződés nyomon követése mikroszkópos és új generációs pirosekvenálási 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. A napjainkban is aktív hipogén karsztbarlangok olyan természetes laboratóriumoknak tekinthetők, ahol a mikrobióta tanulmányozása közvetlenül is hozzájárulhat a karsztos rendszerekben zajló biogeokémiai folyamatok megismeréséhez.

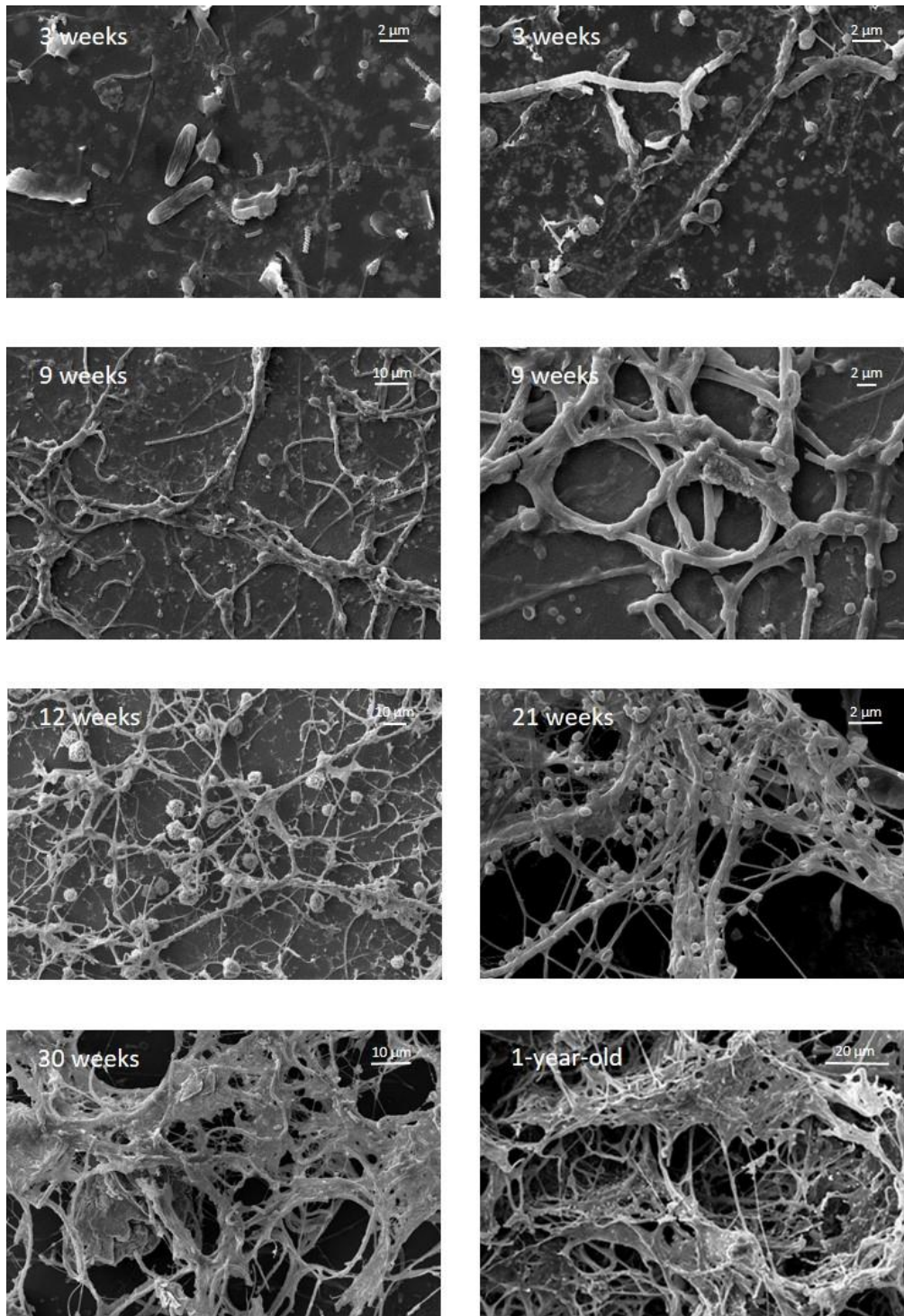
Kutatásunk folytatásaképpen ezért a BTK-ra jellemző biofilm képződés folyamatát a Rudas-Török forrásbarlang medencéjében – mint egy antropogén hatástól mentes „természetes laboratóriumban” – monitoroztuk, egy *in situ* kísérleti modellrendszer segítségével (5.3-12. ábra). A Rudas-Török forrásbarlang medencéjének vizében elhelyezett szonda folyamatos helyszíni mérési eredményei alapján a termálkarszt környezetét stabilnak tekintettük a 2015. 09. és 2016. 09. közötti időszakban. A vízhőmérséklet 32,7 °C és 37,5 °C, a pH 6,0 és 6,6, az oldott oxigén koncentrációja 0,2 mg l⁻¹ és 1,2 mg l⁻¹, a fajlagos elektromos vezetőképesség 1672 μS cm⁻¹ és 1771 μS cm⁻¹ között változott. Az *in situ* kísérlet egy éve alatt, rendszeres mintavételezéseket követően, mikroszkópos technikákkal vizsgáltuk a mesterséges szubsztrátumon fejlődő biofilm morfológiai szerkezetében bekövetkező változásokat, és nagy átteresztőképességű 16S rRNS gén alapú pirosekvenálással követtük nyomon a baktériumközösségek taxonómiai összetételének átalakulását (Anda és mtsai 2020).



5.3-12. ábra A biofilm képződés vizsgálatára a BTK Rudas-Török forrásbarlangban elhelyezett, *in situ* kísérleti modellrendszer (Anda és mtsai 2020)

A kísérlet indítása után három héttel vett biofilm mintáról készült nagy felbontású SEM felvételeken csak néhány, különböző hosszúságú, fonalas baktérium, továbbá egy-egy kokkusz, pálcá- és spirál alakú (*Nitrospira*-szerű) baktérium volt megfigyelhető (5.3-13. ábra). A biofilm képződésnek ebben a kezdeti szakaszában az ún. elsődleges kolonizálók általában változatos (specifikus és nem specifikus) kölcsönhatások révén kötődnek a kolonizáló felületre (a kísérletben a tárgylemez felületére) kitapadt szerves anyagokból álló ún. kondicionáló filmhez (Rickard és mtsai 2003). Később, a kilenches biofilm mintákban már egyre több, túlnyomórészt fonalas morfológiájú sejtet lehetett látni. A különböző vastagságú fonalas baktériumok mellett (feltehetően) kalcium-karbonát ásványokba ágyazott, EPS-t felhalmozó, különböző méretű, sejtaggregátumokat alkotó pálcikákat és kokkuszokat is megfigyeltünk. A sejtek egy része nyálkás burokba (EPS-be) ágyazódott, ami először a hathetes biofilm mintában vált láthatóvá. Erőteljes EPS termelődést a biofilm fejlődés kilencedik és tizenkettedik hete között figyeltünk meg. A baktériumsejtek közötti teret kitöltő, járatokat és csatornácskákat is magában

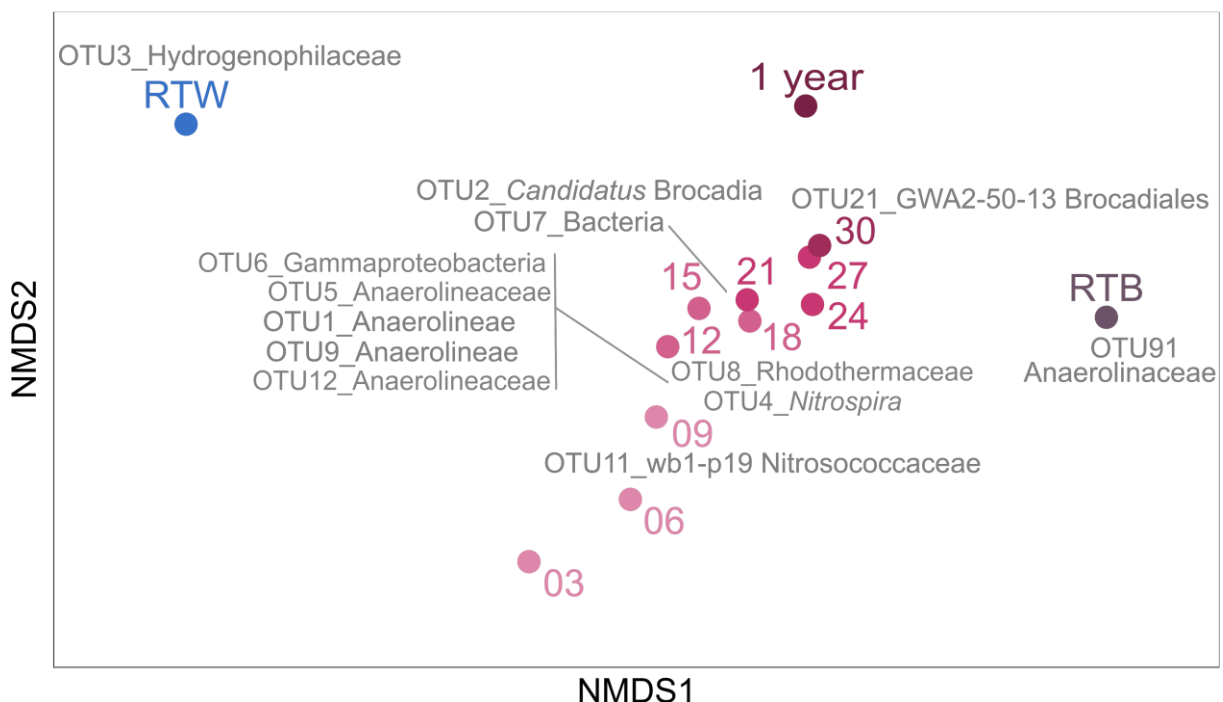
foglaló EPS nagy mennyiségű szerves anyagot (pl. poliszacharidokat, glikoproteineket, nukleinsavakat) és különféle exoenzimeket is tartalmazhat (Wingender és mtsai 1999). Az ásványok később a tizenkét hetes biofilm minták SEM-felvételein is jól azonosíthatók voltak. A huszonegy hetes biofilm mintákról készült felvételeken a mikrobiális biofilm többrétegű, főként hosszú, fonalas szerveződésű baktériumok által alkotott hálózatos architektúrája szembevető. A harminchetes és az egyéves biofilm minták SEM-felvételeit különböző vastagságú és megjelenésű, nyálkás anyagba ágyazódott fonalas baktériumok sokasága és közöttük ásványi anyagok (pl. rombold kalcit kristályok) előfordulása jellemezte (Anda és mtsai 2020).



5.3-13. *ábra* Pásztázó elektronmikroszkópos felvételek a BTK Rudas-Török forrásbarlangjában mesterséges alzaton fejlődő biofilm időbeni változásáról (Anda és mtsai 2020)

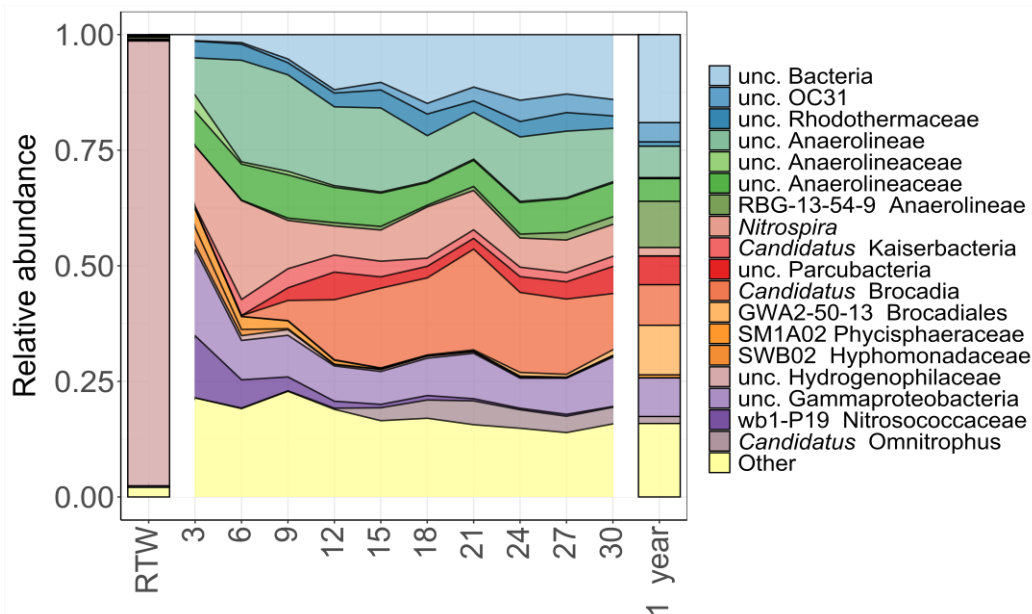
A BTK Rudas-Török forrásbarlangban *in situ* körülmények között fejlődő biofilm minták baktériumközösségeinek taxonómiai összetételét 12 alkalommal elemeztük az egy éves kísérlet során. A 16S rRNS gén V3-V4 variábilis régiójának piroszekvenálással történő bázissorrend meghatározása során összesen 88 000 jó minőségű szekvenációt nyertünk (Függelék **11.1-4. táblázat**). A fajgazdagsági (pl. Chao1, ACE) indexek értéke és az OTU szám a vízmintában, valamint a harmadik, hatodik és tizenkettedik heti biofilm mintákban volt a legkisebb. A Shannon-, és az inverz Simpson-diverzitás index is a vízmintában volt a legkisebb, a biofilm érése során értékeik többé-kevésbé növekvő tendenciát mutattak (Függelék **11.1-4. táblázat**).

A forrásbarlangi termásvíz mintából mindössze 47 OTU-t azonosítottunk, ezzel szemben már a háromhetes biofilmben 143, a harminchetes biofilm mintában pedig 214 OTU-t találtunk (ez volt a legnagyobb OTU érték). Az OTU-k száma az első kilenc hét során nőtt jelentősen (Függelék **11.1-4. táblázat**), amikor a biofilm morfológiai komplexitása is egyre nagyobb lett. Az OTU-szinten megfigyelt változások nagy része a tizenkettedik hétig megtörtént, amiből arra következtettünk, hogy az érett biofilm kialakulásához kilenc-tizenkét hétre volt szükség. A vizsgált egyéves időtartamban bekövetkezett OTU szintű dinamikus változásokat jól tükrözi az NMDS elemzés eredményeképpen kapott ordináció, ahol a minták közti különbségek 60%-áért felelős és család szinten azonosított taxonokat tüntettük fel (**5.3-14. ábra**). A mintatípusok elkülönüléséhez a medence termásvíz (RTW) esetében az OTU3 (unclassified Hydrogenophilaceae), míg a Rudas-Török forrásbarlang kőzetfelszínén kialakult természetes biofilm (RTB) esetében az OTU91 (unclassified Anaerolineaceae) járult hozzá a legnagyobb mértékben. Az Anaerolineaceae család más képviselői (pl. az OTU1, az OTU5, az OTU9 és az OTU12) az érett, kilenc-tizenkét hetes biofilmben voltak a legmeghatározóbbak. Bizonyos OTU-k csak a vizsgálati időszak elején voltak jelen (pl. az OTU62 *Candidatus* Kaiserbacteria) vagy csak az első hetekben domináltak (pl. az OTU11 – wb1-P19 (Nitrosococcaceae), az OTU18 – unclassified Gammaproteobacteria), más OTU-k pedig jóval később váltak meghatározóvá a biofilmben (pl. az OTU2-*Candidatus* Brocadia, az OTU7 és az OTU10 – nem azonosítható Bacteria).



5.3-14. ábra A BTK Rudas-Török forrásbarlangjában mesterséges alzaton fejlődő biofilm minták, valamint a természetes biofilm (RTB) és a termásvíz (RTW) baktériumközösségeinek Bray-Curtis hasonlóságon alapuló NMDS ordinációja (Anda és mtsai 2020)
(A számok a biofilm képződés hetét jelölik. Stressz érték: 0,03.)

A Rudas-Török forrásbarlangi termálvíz és biofilm mintákból nyert bakteriális ampikon-szekvenciákat összesen 40 különböző törzs és kandidátus divízió tagjaként azonosítottuk. A törzs szintű taxonómiai diverzitás már a biofilm képződés harmadik hetében elérte a maximumot. A mintákban a Chloroflexi, a Nitrospirota, a Planctomycetota, a Patescibacteria, a Proteobacteria és egy tovább nem osztályozható Bacteria csoport tagjai bizonyultak a leggyakoribbnak. Egyes baktériumtaxonok a vizsgálat teljes időtartama alatt egyformán gyakoriak voltak, míg mások relatív abundanciája nagymértékben változott (5.3-15. ábra).



5.3-15. ábra A BTK Rudas-Török forrásbarlangjában mesterséges alzaton fejlődő biofilm mintákból és a termálvízből a 16S rRNS-gén ampikon-szekvencia adatok alapján azonosított baktérium nemzetségek százalékos megoszlása (Anda és mtsai 2020)
(A <2%-os relatív gyakoriságú nemzetségeket "Other" kategóriába soroltuk.)

A Chloroflexi törzs képviselői a teljes egyéves vizsgálati időszakban a biofilmek baktériumközösségének csaknem egynegyedét tették ki (5.3-15. ábra). Ezek a Gram-negatív, termofil és szigorúan anaerob kemoorganotróf szervezetek (Yamada és mtsai 2006) a Rudas-Török forrásbarlangban zajló biofilm képződés kulcsfontosságú szereplői voltak. A SEM felvételek tanúsága szerint ezek a hosszú fonalas szerveződésű baktériumok lehettek a tárgylemez felületének elsődleges kolonizálói (5.3-13. ábra). Megtelepedésüket követő szaporodásukhoz a forrásbarlang termálvízének fizikai-kémiai tulajdonságai (pl. a relatív magas hőmérséklet és az alacsony oxigénszint) is hozzájárulhattak. Ezt bizonyítja, hogy pl. az unclassified Anaerolineaceae nemzetség (Chloroflexi) relatív abundanciája a kezdeti 8,1%-ról a biofilm érése során 21,9%-ra nőtt (5.3-15. ábra). A Chloroflexi törzsbe sorolt OTU-k nemcsak a tárgylemezeken képződött biofilmben, hanem a Rudas-Török forrásbarlang természetes kőzetfelszínén kialakult biofilmekben is gyakoriak voltak (Borsodi és mtsai 2018; Enyedi és mtsai 2019).

A *Nitrospira* nemzetség (Nitrospirota) képviselői a hatodik héten voltak a biofilm leggyakoribb közösségalkotói (21,4%-kal) (5.3-15. ábra). Jellegzetes csavart pálca alakú sejteik már a háromhetes biofilm mintáról készült SEM felvételeken is jól láthatók (5.3-13. ábra). A kemolitotróf autotróf anyagcserét folytató prokarióták, köztük a nitrifikálók is fontos szerepet játszanak a barlangi környezetek elsődleges termelésében (Ortiz és mtsai 2015; Borsodi és mtsai 2018). A BTK-ban mért alacsony ammónia-koncentrációk egyik lehetséges oka, a mikrobiális ammónia-oxidáció. Korábbi kutatásaink során a BTK forrásbarlangjaiból származó biofilmekből létrehozott Archaea klónkönyvtárakban nagy gyakorisággal mutattunk ki Thaumarchaeota törzsbe tartozó ammóniaoxidáló ősbaktériumokat (Anda és mtsai 2015, 2017; Borsodi és mtsai 2018). Jelen vizsgálatunk során a biofilm

képződés tizenötödik hetétől kezdve figyeltük meg az ősbaktériumok arányának növekedését a mintákban, annak ellenére, hogy az amplikon-könyvtárak létrehozásához Bacteria specifikus primer párt használtunk (Klindworth és mtsai 2013). Az egyéves biofilm mintában a Nitrospirota szekvenciák relatív gyakorisága azonban 1,8%-ra lecsökkent, ami szubsztrát (pl. nitrit) kompetíció miatt fellépő szaporodás gátlással is magyarázható ezen mikroorganizmusok esetében az érett biofilmben.

A Planctomycetota törzs tagjai a tizenkettedik héttől kezdve (21,7%-kal) dominánssá váltak a biofilm mintákban, pedig képviselőiket az első hat hétben szinte alig lehetett kimutatni (5.3-15. ábra). A *Candidatus Brocadia* nemzetség képviselői szintén a nitrogén ciklusban vehetnek részt, mégpedig az ammónia anaerob oxidációjával (az ún. anammox reakcióval), ami anyagcseréjükben nitrit-redukcióval párosulva elemi nitrogén képződését eredményezi (van Niftrik & Jetten 2012). Az anaerob ammóniaoxidáló baktériumokra jellemző, hogy nagyon lassan növekednek, a leggyorsabban szaporodó fajok generációs ideje is 10 nap (Fuerst & Sagulenko 2011). Ez magyarázat lehet arra, hogy a törzs relatív abundanciája miatt csak a biofilm képződés hatodik hetétől kezdve mutatott jelentős növekedést. Úgy tűnik azonban, hogy a nitritért folyó versengésben ekkor hatékony kompetitorai lettek a nitrítoxidáló Nitrospirota szervezeteknek. A Patescibacteria törzs (unclassified Parcubacteria) képviselőinek relatív abundanciájában mindvégig enyhe növekedést figyeltünk meg a biofilm érése során. Ezeket a baktériumokat főként anoxikus környezetekből mutatták ki (Nelson & Stegen 2015), de jelenlétüket a BTK természetes kőzetfelszíni biofilm közösségeinek vizsgálata során is igazoltuk (Enyedi és mtsai 2019).

A Proteobacteria törzs jelentős taxonómiai diverzitást mutatott mind a víz-, mind a biofilm mintákban. Ez nem meglepő, hiszen e törzs képviselői gyakoriak különböző barlangi képződmények baktériumközösségeiben (Holmes és mtsai 2001; Northup és mtsai 2003; Macalady és mtsai 2006; Porter és mtsai 2009; Barton 2015). A Rudas-Török forrásbarlangból származó termálvíz mintát 96,1%-os relatív abundanciával egy unclassified Hydrogenophilaceae (OTU3) dominálta (5.3-15. ábra). Az OTU3 a legnagyobb (93,4%-os) szekvencia-hasonlóságot a kemolitotróf kénoxidáló *Sulfuritortus calidifontis* (Kojima és mtsai 2017) baktériumfajjal mutatta az EzBioCloud adatbázis alapján (Yoon és mtsai 2017). Tudomásunk szerint ez az első beszámoló egy karsztbarlangi élőhelyet szinte kizárólagosan uraló OTU jelenlétéről. Hasonló jelenségről számoltak be a Kárpátok előterének szulfidokban gazdag vizein végzett vizsgálat során, egy a Comamonadaceae családhoz tartozó, unclassified Betaproteobacteria OTU esetében (1,7 és 57,8% közötti abundanciával) (Deja-Sikora és mtsai 2019). A BTK termálvizében abszolút domináns OTU3 szekvenciák a biofilm mintákban azonban szinte alig kimutatható mennyiségben fordultak elő. Ez megerősíti a BTK több forrásfeltörési pontján korábban végzett vizsgálatok eredményeit (Anda és mtsai 2015, 2017; Borsodi és mtsai 2018). A BTK mintákban a kísérleti idő előrehaladtával, vagyis a biofilm érése során a nem osztályozható Bacteria taxonok aránya folyamatosan nőtt (5.3-15. ábra). Mindez a BTK különleges környezeti feltételeihez alkalmazkodni képes, mindeztidáig ismeretlen extremofil prokarióta közösségének meglepően nagy, de még mindig javarészt rejtőzködő taxonómiai sokféleségéről árulkodik.

Összefoglalva kijelenthetjük, hogy a BTK Rudas-Török forrásbarlangban egy éven át végzett kísérlet alkalmas volt arra, hogy természetes, de ellenőrzött és közel állandó fizikai-kémiai körülmények között tanulmányozzuk a hipogén barlangi biofilm képződés folyamatát. A morfológiai komplexitás és a taxonómiai diverzitás alapján megállapítottuk, hogy a mesterséges alzaton elsőként megtapadt mikrobacejtektől az érett biofilm kialakulásáig körülbelül kilenc hétre volt szükség. A biofilm minták taxonómiai összetétele már kezdetől fogva alapvetően különbözött a forrásbarlang planktonikus közösségének összetételétől. A biofilm mintákban a fonalas szerveződésű és anaerob fermentatív anyagcserére képes Chloroflexi mellett az aerob és az anaerob nitrifikációs folyamatokban részt vevő baktériumok domináns jelenlétét mutattuk ki (Anda és mtsai 2020).

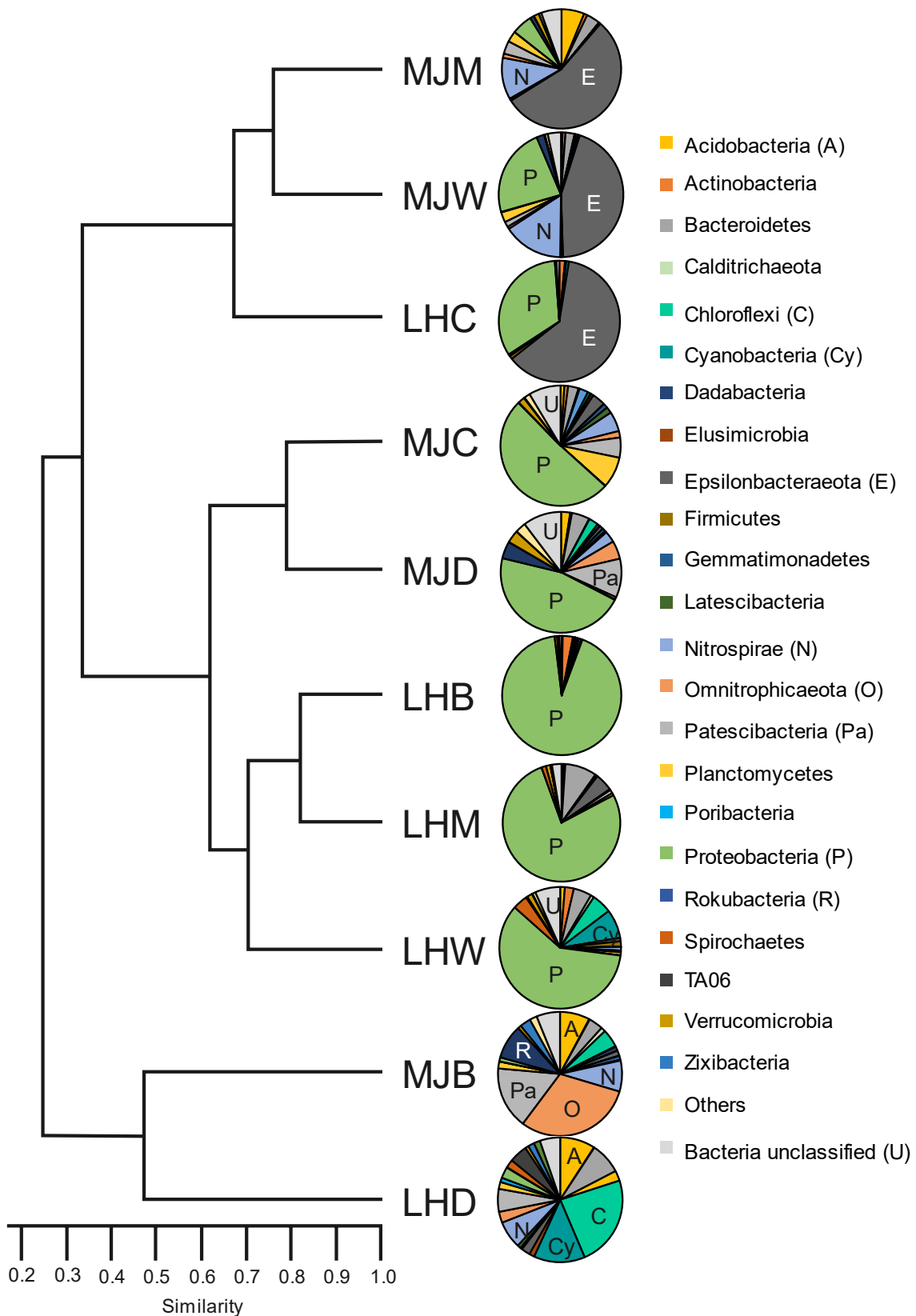
5.3.3. *Egy hazai regionális karsztrendszer forrásfeltörési végpontjain a különböző típusú hipogén barlangi mikrohabitatok baktériumközösségeinek összehasonlítása új generációs amplikon-szekvenálással*

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. Vizsgálatainkhoz a Dunántúli-középhegység két szélső forrásfeltörési pontján található, de ugyanahhoz a regionális áramlási rendszerhez tartozó hipogén barlangot (Mádl-Szőnyi & Tóth 2015), a BTK területén található freatikus hipogén Molnár János-barlangot (MJ) és a Hévízi-tó (LH) alatt található szublakusztis Amphora forrásbarlangot választottuk. 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 (W, C, M), a kőzetfelszíni biofilmek (B) és a karbonátkiválások (D) baktérium diverzitásába, és hogy összehasonlítsuk a barlangok egyedi sajátosságainak a különböző baktériumtaxonok előfordulására gyakorolt hatását (Borsodi és mtsai 2022a).

A mintavételkor mért fizikai és kémiai paraméterek alapján az átlagos vízhőmérséklet a Hévízi-tó forrásbarlangjában magasabb ($31,4 \pm 7,8$ °C) volt, mint a Molnár János-barlangban ($22,2 \pm 3,9$ °C). A barlangok vizének pH-értéke mindkét mintavételi helyen közel semleges volt (LH $7,4 \pm 0,2$ vs. MJ $6,8 \pm 0,2$). Az átlagos lúgosság (LH $6,2 \pm 0,0$ mval l^{-1} vs. MJ $6,3 \pm 0,4$ mval l^{-1}) és a keménységi értékek között (LH $21,4 \pm 1,9$ nK° vs. MJ $24,1 \pm 0,6$ nK°) sem volt jelentős különbség. Az átlagos fajlagos elektromos vezetőképesség értékek azonban kissé magasabbak voltak az MJ-ban ($820,3 \pm 79,4$ μS cm^{-1}), mint az LH-ban ($759,7 \pm 25,6$ μS cm^{-1}). Az ammónium-N és nitrit-N koncentrációja, valamint a foszfát- és vastartalom mindkét mintavételi helyen a kimutatási határ közelében vagy az alatt volt. Az átlagos nitrát-nitrogén koncentráció tízszer annyi ($3,1 \pm 2,1$ mg l^{-1} vs. $0,3 \pm 0,0$ mg l^{-1}), az átlagos klorid ($46,3 \pm 11,7$ mg l^{-1} vs. $20,3 \pm 4,0$ mg l^{-1}) és az átlagos szulfát ($147,3 \pm 9,5$ mg l^{-1} vs. $78,3 \pm 14,0$ mg l^{-1}) koncentráció kétszer annyi volt a Molnár János-barlangban, mint a Hévízi-tó forrásbarlangban.

A Good-féle értékek (>99,9%) alapján a nagy áteresztőképességű amplikon-szekvenálás a vizsgált baktériumközösségek csaknem teljes egészét lefedte (Függelék **11.1-4. táblázat**). Az egyes minták fajgazdagsági (Chao1 és ACE) értékei között nagyfokú eltérések mutatkoztak (pl. LHC: 198,0 és 198,6, illetve MJC: 1883,0 és 1886,5). A legkisebb (LHC: 2,1) és a legnagyobb (MJC: 40,8) inverz Simpson-diverzitás értékeket is a hideg vizes mintákban találtuk. A biofilm minták között mintegy tízszeres különbség volt az MJB (37,6) javára az LHB-hez (2,7) viszonyítva. A legnagyobb inverz Simpson-diverzitás értékek (LHD: 65,3 és MJD: 86,5) és a legkisebb különbségek a karbonátkiválás minták között voltak.

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 (**5.3-16. ábra**).



5.3-16. ábra A különböző hipogén karsztkarlagi élőhelyekről származó baktériumközösségek hasonlóságát az OTU-k Bray-Curtis hasonlósági indexen alapuló eloszlása alapján bemutató dendrogram és a 16S rRNS-gén amplicon-szekvenciák százalékos megoszlása az azonosított törzsek és a kandidátus divíziók között (Borsodi és mtsai 2022a)

(Rövidítések: LH – Hévízi-tó forrásbarlang; MJ – Molnár János-barlang; C – hideg víz; W – meleg víz; M – kevert víz; B – biofilm; D – karbonát kiválás.)

Szinte minden mintát (a feláramló meleg, hideg és kevert vizeket, a kőzetfelszíni biofilmeket és a barlangi karbonátkiválásokat) – a Molnár János-barlangból származó biofilm (MJB) és a Hévízi-tó forrásbarlangjából gyűjtött karbonátkiválás (LHD) minták kivételével – a Proteobacteria és az Epsilonbacteraeota törzsek (korábban a Proteobacteria törzs Epsilonproteobacteria osztályának) képviselői dominálták (5.3-16. ábra). A Proteobacteria törzsbe sorolt szekvenciák relatív abundanciája más törzsekhez viszonyítva kiemelkedően nagy volt az LHB (92%), az LHM (77%), az LHW (60%), az MJC (51%) és az MJD (46%) mintákban. Hasonlóképpen, az Epsilonbacteraeota törzs képviselőinek nagy gyakorisága jellemezte az LHC (62%), az MJM (55%) és az MJW (45%) mintákat. Ezek az eredményeink összhangban vannak más karsztos barlangi környezetekből NGS-sel kimutatott kutatási eredményekkel (D'Angeli és mtsai 2017; Krett és mtsai 2017; Zhu és mtsai 2019; Yanez-Montalvo és mtsai 2020; Anda és mtsai 2020; Adesso és mtsai 2021). Mindkét hazai forrásfeltörési ponton a nagyobb hozamú meleg és a kevert vízminták baktériumközösségeinek összetétele mutatta a legnagyobb hasonlóságot egymással (5.3-16. ábra). A Hévízi-tó esetében a biofilm minta közös klasztert képezett a magasabb hőmérsékletű vízmintákkal. Az alacsonyabb, de közel azonos hőmérsékletű MJ meleg és kevert, valamint az LH hideg vízminták az Epsilonbacteraeota szekvenciák viszonylag nagy gyakorisága alapján alkottak közös csoportot. Ez arra utal, hogy a termálbarlangokban mért vízhőmérsékleti különbségek döntő szerepet játszottak a baktériumközösségek taxon megoszlásában.

A törzsek vonatkozásában mintavételi hely és/vagy élőhely-specifikus nagy relatív gyakoriságot figyeltünk meg a Nitrospirae esetében az MJW (16%) és az MJM (11%), a Patescibacteria esetében az MJB (16%) és az MJD (10%), az unclassified Bacteria esetében az MJD (10%) és az MJC (9%), az Omnitrophicaeota és a Rokubacteria esetében az MJB (31% és 9%), továbbá a Cyanobacteria esetében az LHD (13%) és az LHW (8%), valamint a Chloroflexi esetében az LHD (24%) mintában. Az Acidobacteria törzs relatív gyakorisága minden mintában 10% alatt volt, a legmagasabb értékeket az LHD (9%) és az MJB (8%) mintákban mutattuk ki. Ezek a törzs szintű különbségek feltehetően a feláramló termálvizek hasonló, de nem teljesen azonos fizikai-kémiai tulajdonságaival és a regionális áramlási rendszer két végpontjának eltérő hidrogeológiai sajátosságaival (Mádl-Szőnyi & Tóth 2015) hozhatók összefüggésbe.

A karsztbarlangi mintákból összesen 19 már leírt nemzetség képviselőit tudtuk azonosítani a 16S rRNS gén szekvenciák alapján (5.3-17. ábra). A kénoxidáló nemzetségek közül a *Thiovirga* (Ito és mtsai 2005), a *Thiofaba* (Mori & Suzuki 2008), a *Thiobacillus* (Kelly & Wood 2000) (Proteobacteria) és az *Arcobacter* (Sievert és mtsai 2007) (Epsilonbacteraeota) domináltak az LH vízmintákban, míg a *Sulfurovum* (Inagaki és mtsai 2004) és a *Sulfuricurvum* (Kodama & Watanabe 2004) (Epsilonbacteraeota) az MJ vízmintákban. Ez alól kivételt képeztek az unclassified Hydrogenophilaceae (Hydrogenophialia korábban Betaproteobacteria) rokon szekvenciák, mivel mindkét forrásfeltörési ponton előfordultak, a meleg és a kevert vízmintákban egyaránt. Az *Arcobacter* nemzetséggel és a feltehetően a forrásbarlangból származó, unclassified Hydrogenophilaceae-vel rokon szekvenciákat korábban a Hévízi-tó vizében is kimutattuk (Krett és mtsai 2017), ami a kénalapú litotróf anyagcsere fontosságára utal (Jones és mtsai 2010). A *Sulfurifustis* (Proteobacteria) nemzetség képviselői (Kojima és mtsai 2015) a karbonátkiválás mintákban fordultak elő nagyobb arányban. A kénoxidáló baktériumok nagy taxonómiai változatossága valószínűleg a két élőhely fizikai-kémiai tulajdonságaiban (pl. a jelentősen eltérő szulfát koncentrációban) észlelt különbségekre vezethető vissza. A kénoxidáló baktériumok szulfid/oxigén koncentrációtól függő niche-elkülönülését már korábban is kimutatták mészkőben kialakult szulfidos barlangok vizében (Engel és mtsai 2004; Macalady és mtsai 2008). Az általunk is azonosított Gammaproteobacteria osztály tagjai, pl. a *Candidatus Thiobacillus barengensis*, a *Thiofaba tepidiphila* (Mori & Suzuki 2008) és a *Thiovirga sulfuroxydans* (Ito és mtsai 2005) baktériumok képezték a második legnagyobb csoportot a kénben gazdag, semleges pH-jú és magas (50 °C) vízhőmérsékletű Grotta Nuova di Rio Garrafo karsztbarlang biofilm közösségeiben is (Yang és mtsai 2011).

kerine.borsodi.andrea_3_22



5.3-17. **ábra** A különböző hipogén karsztbarlangi élőhelyekről származó (>1% relatív gyakoriságú) 16S rRNS gén amplikon-szekvenciák nemzetség szintű megoszlása (Borsodi és mtsai 2022a) (Rövidítések: LH – Hévízi-tó forrásbarlang; MJ – Molnár János-barlang; C – hideg víz; W – meleg víz; M – kevert víz; B – biofilm; D – karbonát kiválás.)

A Proteobacteria és az Epsilonbacteraota törzsekbe tartozó kemolitoautotróf kénoxidáló nemzetségekkel rokon szekvenciák gyakoriak voltak más szulfidos hidrotermális forrásvizekben is (Inskeep és mtsai 2015; D'Angeli és mtsai 2019a). A kénoxidáló baktériumok aktivitására elsősorban a vizsgált termálkarszt-rendszer forrásfeltörési pontjai közül a Molnár-János-barlang vizében mért viszonylag magas szulfát koncentráció utalt. Eredményeink arra utalnak, hogy a bakteriális kénoxidációs folyamatok a semleges körüli pH-jú forrásbarlangokban – így a Molnár János-barlangban és a Hévízi-tó forrásbarlangjában is – fontos szerepet játszhatnak karbonátos kőzetek oldódási folyamataiban, a kénsavas karsztbarlangok (pl. Grotta di Frasassi, Grotta Nuova in Acquasanta Terme, Grotta Fetida in Santa Cesarea Terme, Olaszország és Lower Kane Cave, WY, USA) esetében leírt mikrobiális karsztosodási folyamatokon túlmenően (Hose és mtsai 2000; Barton & Northup 2007; D'Angeli és mtsai 2019b).

A kénoxidáló baktériumok mellett kemolitotróf autotróf ammónia- és nitritoxidáló baktériumtaxonokkal, a Nitrosococcaceae osztály, illetve a *Nitrospira* nemzetség (Watson és mtsai 1986) képviselőivel rokon szekvenciákat is kimutattunk az összes Molnár János-barlangi mintából, legnagyobb relatív gyakorisággal a hideg vízből és a karbonátkiválásból (5.3-17. ábra). A Molnár János-barlangban a Hévízi-tóhoz képest mért nagyobb nitrát-ion koncentráció a nitrifikációs folyamatok (pl. a bakteriális nitrit-oxidáció) eredménye is lehetett. *Nitrospira* rokon szekvenciákat korábbi BTK kutatásaink során is rendre azonosítottunk a biofilm mintákból (Anda és mtsai 2017, 2020; Borsodi és mtsai 2018). *Nitrospira* fajok jelenlétét emellett pl. a Heshang dolomit karszt-barlang (Kína) üledékében (Yun és mtsai 2016) és egy szlovéniai karszt barlangfalán képződött mikrobiális bevonat közösségében (Pašić és mtsai 2010) is kimutatták.

A Hévízi-tó forrásbarlangjában a tóvízre és más édesvízi környezetekre jellemző fotoautotróf anyagcserét folytató Oxyphotobacteria (Cyanobacteria) taxonok is jelen voltak (5.3-17. ábra). A Hévízi-tóban a vízszlop nagyfokú átlátszósága miatt a szublakusztis forrásbarlangban is elegendő fény állhatott rendelkezésre a cianobaktériumok megtelepedéséhez és fotoszintéziséhez. A fénytől elzárt Molnár János-barlangból fototróf prokariótákkal rokon szekvenciák nem kerültek elő.

A fotoszintézis során termelt és feltehetően a Hévízi-tó üledékéből származó szerves anyagok lebontásában különböző rendszertani összetételű aerob és anaerob heterotróf baktériumok vehettek részt. Ezt támasztotta alá a *Dinghuibacter* (Lv és mtsai 2016), az *Acinetobacter*, a *Pseudomonas*, a *Rheinheimera* (Brettar és mtsai 2002) és az *Aeromonas* nemzetségekkel rokon szekvenciák jelenléte a Hévízi-tó forrásbarlangi víz és biofilm mintákban (5.3-17. ábra). Az *Acinetobacter* és a *Pseudomonas* nemzetségekbe tartozó baktériumoknak – a csapadék szezonális változásával, a barlangon belüli és kívüli hőmérséklet, a csepegési sebesség és a vezetőképesség változásával összefüggő – változatos előfordulásáról egy karsztbarlang csepegővizéből is beszámoltak (Yun és mtsai 2018). Laboratóriumi körülmények között végzett kísérletekkel igazolták, hogy ezek a baktériumok a különböző szerves anyagok lebontása mellett a mikrobiológiailag indukált karbonátkiválási folyamatokban is részt vesznek (Rusznay és mtsai 2012; Li és mtsai 2019). Korábbi vizsgálataink során mi is kimutattuk, hogy az MWH-UniP1 csoporttal (Burkholderiales) rokon baktériumok jelentős arányban fordultak elő a Hévízi-tó vizében (Krett és mtsai 2017). Úgy tűnik, hogy az MWH-UniP1 csoportba tartozó heterotróf baktériumok ubikvista planktonikus édesvízi baktériumoknak tekinthetők, mivel képviselőik gyakoriak voltak pl. különböző kémhatású és trofikus állapotú édesvízi tározókban (Llirós és mtsai 2014), egy öntözésre használt sekély tó (Shahu Lake, Kína) (Li és mtsai 2017) és egy brakkvizes parti lagúna (Bengáli-öböl, India) vízmintáiban is (Mohapatra és mtsai 2020).

Vizsgált mintáink közül a legegyszerűbb és legritkébb taxonokat tartalmazó közösségszerkezet az LHD és MJB mintákra volt jellemző. A hévízi-tavi karbonátkiválás mintában az egyik leggyakoribb OTU az Sva0485 kláddal (Deltaproteobacteria) állt szoros rokonságban (5.3-17. ábra). Ennek a kládnak a képviselőit gyakran mutatják ki savas bányavizes környezetekből (pl. vizekből, üledékekből és

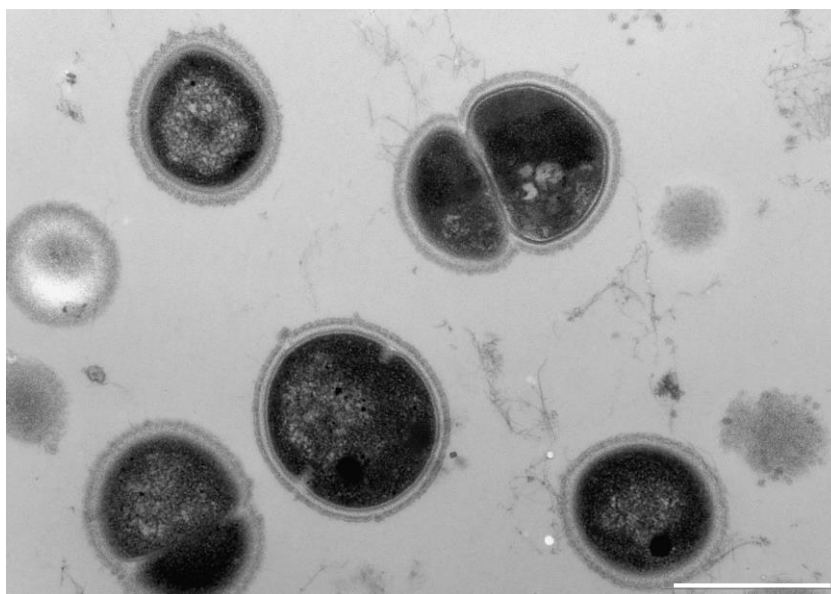
biofilmekből) (Yang és mtsai 2014), de egy mélytengeri inaktív hidrotermális szulfidban gazdag kéménnyről is azonosították már (Sylvan és mtsai 2012). Egy savas bányavíz-elvezető rendszer vizsgálata során a metagenom-összeszerelt genomok (MAG) elemzése alapján kimutatták, hogy a *Candidatus Acidulodesulfobacterales* (korábban Sva0485 kládként ismert) baktériumok anaerob fakultatív autotróf anyagcserét folytathatnak, és az oxigén koncentrációtól függően szulfid-oxidációra vagy disszimilatórikus szulfátredukcióra is képesek (Tan és mtsai 2019). A hévízi-tavi karbonátkiválás mintából származó másik gyakori OTU a legnagyobb szekvenciahasonlóságot egy unclassified Aminicenantales baktériummal mutatta (**5.3-17. ábra**). Egy nyugat-szibériai felszín alatti, mély termálvízadó rétegből származó Aminicenantales baktérium anaerob szacharolitikus fermentatív és nitrilégző anyagcserére való képességét a közelmúltban írták le metagenom-elemzéssel (Kadnikov és mtsai 2019). A *Candidatus Omnitrophus* (egy unclassified Omnitrophicaeota) és a GWA_2_50_13 (Brocadiales) tagjai a Molnár János-barlangi biofilm mintában fordultak elő nagy arányban (**5.3-17. ábra**). Ezeknek az OTU-knak a legközelebbi rokonait a Hanford Site-ban (USA) lévő felszín alatti geológiai képződményekről mutatták ki (Lin és mtsai 2012). Az Omnitrophica (OP3) törzs képviselőit először a Yellowstone Nemzeti Parkban (USA) található Obsidian Pool hévforrásából írták le (Hugenholz és mtsai 1998). Azóta előfordulásukról nagyon változatos környezetekből, pl. édesvízi tavakból, tavi üledékekből, tengeri torkolatokból, talajokból és földalatti élőhelyekről (Kolinko és mtsai 2016; Momper és mtsai 2017; Rinke és mtsai 2013), sőt egy alpesi barlangból származó vermikulációs lerakódásból (Jurado és mtsai 2020) is beszámoltak. Metagenomikai adatok elemzése alapján a *Candidatus Omnitrophus* egy reverzibilis disszulfoviridin típusú disszimilatórikus szulfitreduktáz enzim segítségével kénoxidáló anyagcserét is folytathat (Kolinko és mtsai 2016).

A Molnár János-barlangi biofilm mintából származó Brocadiales rokon GWA_2_50_13 OTU egy texasi karsztvíztározóból (USA) származó baktériumklónnal mutatta a legnagyobb szekvenciahasonlóságot (Gray & Engel 2013). A BTK-ban végzett *in situ* biofilmképződést vizsgáló kutatásunk során is megfigyeltük a *Candidatus Brocadia* nemzetség arányának jelentős térnyerését a közösségben a biofilm érése során (Anda és mtsai 2020). Ez az anaerob ammóniaoxidáló (ún. anammox) baktérium jelentős szerepet játszhat a Molnár János-barlangban anoxikus körülmények között zajló szerves nitrogén-anyagcserében, amit a barlangban mért viszonylag magas nitrát-koncentráció is jelez. A Molnár János-barlangi biofilm minta ismeretlen baktériumközösségeinek részét képezték még a Gracilibacteria és a Parcubacteria törzsekbe tartozó OTU-k is. E törzsek képviselőinek a karsztos környezetekben való dominanciájáról egy alpesi karsztvíz vizsgálata során számoltak be (Savio és mtsai 2019), de jelenlétük a BTK biofilmekben is állandó lehet, ahogy azt korábbi kutatásaink eredményei is igazolták (Enyedi és mtsai 2019; Anda és mtsai 2020).

A vizsgálatok összegzésekképpen elmondhatjuk, hogy a hazánkban első alkalommal végzett regionális léptékű, összehasonlító termálkarszt geomikrobiológiai vizsgálatok során szinte minden mintatípusban a Proteobacteria és/vagy az Epsilonbacteraeota törzsek dominanciáját mutattuk ki. 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 szublakusztris 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 szublakusztris forrásbarlangi mintákból azonosítottuk (Borsodi és mtsai 2022a).

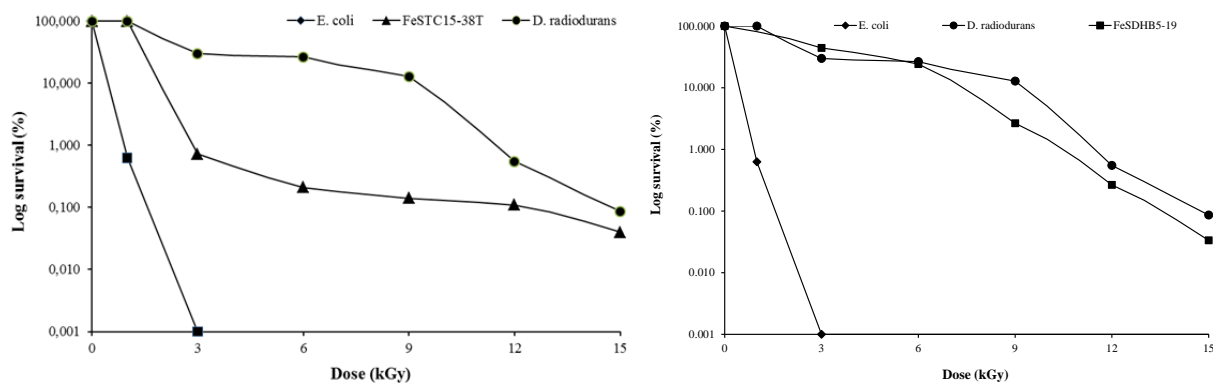
5.3.4. Hazai hipogén termálkarsztból izolált a tudományra nézve új sugárrezisztens baktériumfajok polifázikus taxonómiai jellemzése

Anderson és mtsai 1956-ban izoláltak egy életképes baktériumot, egy 4 kGy dózisú gamma-sugárzással kezelt darálthús konzervből. Az új baktériumot *Micrococcus radiodurans*-nak nevezték el a nemzetségre jellemző morfológiai hasonlóságok alapján (Cox & Battista 2005). A faj a 30 évvel későbbi taxonómiai revízió során az új leszármazási vonalat képviselő *Deinococcus-Thermus* törzsbe került, *Deinococcus radiodurans* néven (Brooks & Murray 1981). A *D. radiodurans* és más *Deinococcus* fajok legismertebb tulajdonsága, hogy életképesek maradnak akár 5 kGy dózisú gamma-sugárzásnak való kitettség után is. Összehasonlításképpen, néhány 100 Gy sugárdózis elpusztítja a legtöbb baktériumot, pl. az *E. coli*-t és a *Thermus thermophilus*-t, míg a legtöbb gerincesre, beleértve az embert is, már az 5-10 Gy sugárdózis is halálos (Daly 2012). A *Deinococcus* fajok nem csak az extrém erős gamma-sugárzással szemben toleránsak, hanem más DNS károsító és oxidatív stresszt előidéző tényezővel (pl. UV-sugárzással és kiszáradással) szemben is (Battista 1997). A *D. radiodurans* tanulmányozására a közelmúltban alkalmazott különböző *in vivo* és *in vitro* módszerek azt mutatták, hogy a sugárzással, a kiszáradással és az oxidatív stresszel szembeni tolerancia különböző fiziológiai tényezők és több mint száz gén jól szabályozott molekuláris mechanizmusának a kombinációjából ered (Cox & Battista 2005; Daly 2012; Agapov & Kulbachinskiy 2015; Timmins & Moe 2016). Ezek a DNS-javító mechanizmusban, az oxidatív stressz elleni védekezésben, a szabályozásban vesznek részt, és a még ismeretlen funkciójú vagy extracitoplazmatikus elhelyezkedésű fehérjéket kódolják. A kutatások azt is feltárták, hogy más *Deinococcus* fajokból hiányzik a homológja több tucatnyi ilyen fehérjének (pl. a sugárzás/kiszáradás válasz regulon), ugyanakkor rendelkeznek olyan fehérjékkel (pl. új doménkombinációkat tartalmazó DNS-javító fehérjékkel, transzléziós polimerázokkal, metallo-regulátorokkal, mangán-tartalmú katalázzal), amelyek a *D. radiodurans*-ból hiányoznak (Lim és mtsai 2019). Az értekezés írásakor a *Deinococcus* nemzetségben 99 fajt tartottak számon [7]. Közülük már eddig is több *Deinococcus* fajt termálforrásból vagy radioaktív forrásból írtak le, pl. a *D. geothermalis* fajt a Nápoly melletti Agnano hévforrásból (Ferreira és mtsai 1997), a *D. murrayi* fajt a közép portugáliai Alcafache hévforrásból (Ferreira és mtsai 1997), a *D. misasensis*, a *D. roseus*, a *D. aquiradiocola* és a *D. depolymerans* fajokat a Japánban található, magas radioaktivitású, természetes Misasa forrásból (Asker és mtsai 2008, 2009, 2011).



5.3-18. ábra A *Deinococcus budaensis* sp. nov. FeSTC15-38^T típus-törzs ultravékony metszetes transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) felvétele (Makk és mtsai 2016)
(Méretvonal: 1 μ m.)

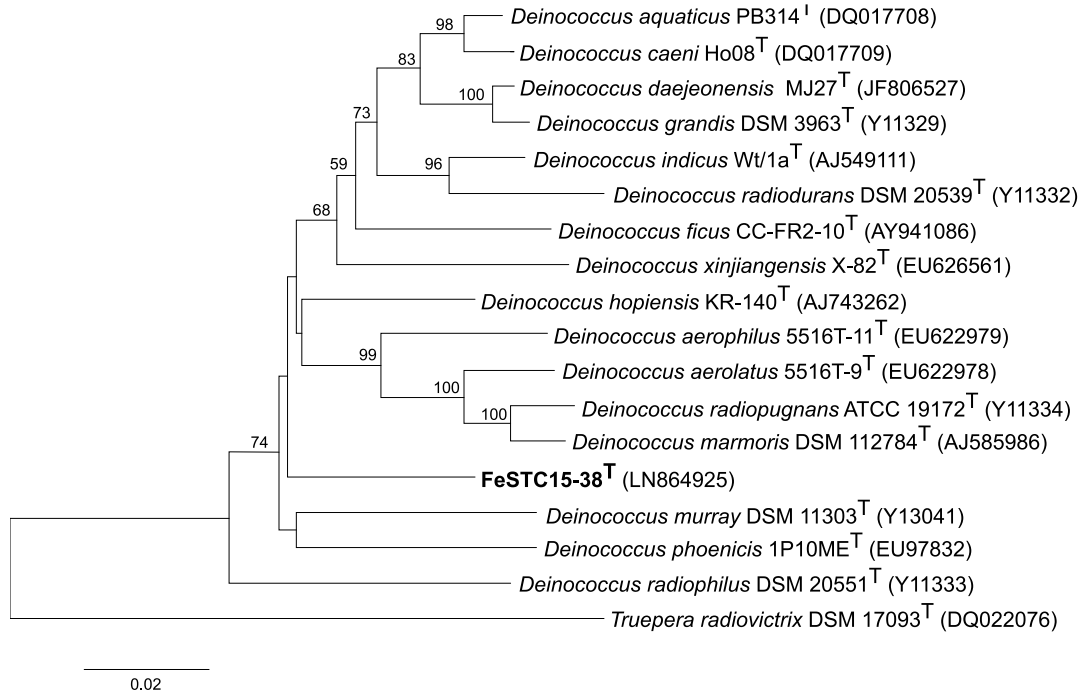
Az FeSTC15-38^T jelzésű baktériumtörzset a Budai-termálkarsztról származó és 15 kGy gamma-sugárával kezelt biofilm mintából izoláltuk *Sphaerotilus-Leptothrix* tápagarról (DSMZ 803), és a polifázikus taxonómiai eljárás szerint jellemeztük (Makk és mtsai 2016). A *Deinococcus budaensis* néven leírt faj neve (bu.da.en'sis, N.L. masc. adj. *budaensis*) a törzs származási helyére a Budai-termálkarsztra utal. Az egyesével vagy párosával elrendeződő szférikus sejtek Gram-negatív festődésűek, csillóval nem rendelkeznek, endospórát nem képeznek (5.3-18. ábra). A típus törzs anyagcseréje aerob. Kataláz-pozitív, oxidáz-negatív. Részletes fenotípusos és enzimátikus tulajdonságait a Függelék 11.1-1. táblázata tartalmazza. A típus törzs pH 6,0-9,0 tartományban, 20 °C és 37 °C közötti hőmérsékleten szaporodik, optimálisan pH 7,0 értéken és 28 °C-on. Nem szaporodik $\geq 1\%$ (m/V) NaCl koncentrációnál. A típus törzs – az életképesség 3 logos csökkenése mellett – túlélte a 15 kGy dózisu gamma-sugárával való kitétséget (5.3-19. ábra). A D₁₀ értékekből egyértelműen kiderült, hogy az FeSTC15-38^T jelzésű típus törzs jelentősen érzékenyebb volt erre a stresszre (D₁₀<3,0 kGy), mint a *D. radiodurans* DSM 20539^T (D₁₀>9,0 kGy). Zsírsav profiljának jellemző komponensei az izo-C_{16:0} és a C_{16:1} ω7c zsírsavak. A domináns légzési kinon az MK-8. A sejtfal peptidoglikánja L-ornitint tartalmaz diagnosztikus diaminsavként, ami az A3β típusú L-Orn-Gly₂₋₃ típusnak felel meg. A típus törzs DNS-ének G+C tartalma 68,2 mol%.



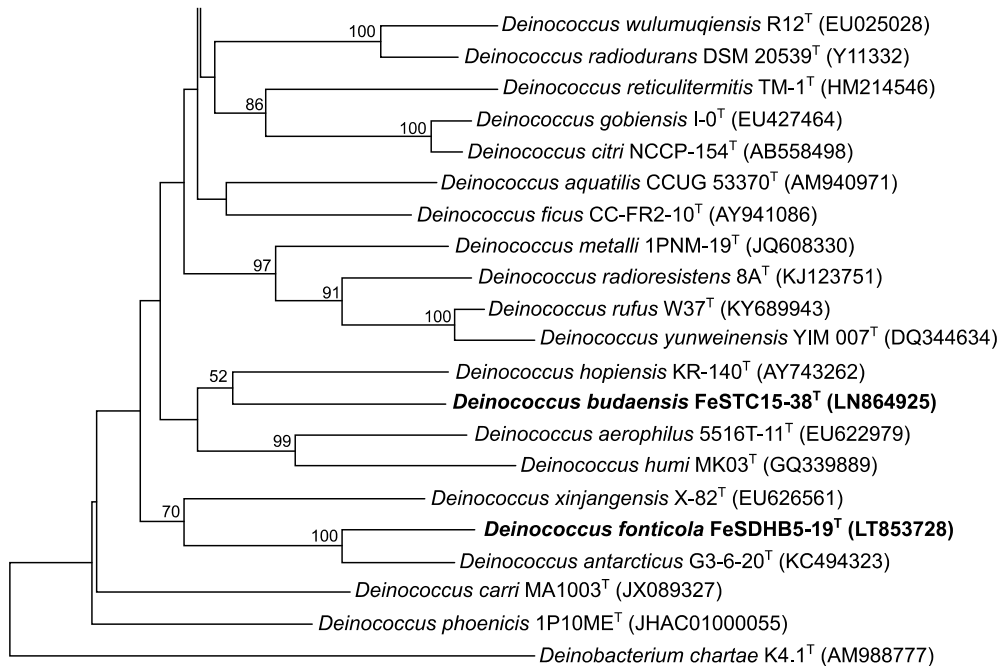
5.3-19. ábra A *Deinococcus budaensis* sp. nov. FeSTC15-38^T (▲), a *D. radiodurans* DSMZ 20539^T (●) és az *E. coli* ATCC 8739 (◆) törzsek (balra), valamint a *Deinococcus fonticola* sp. nov. FeSDHB5-19^T (■), a *D. radiodurans* DSMZ 20539^T (●) és az *E. coli* ATCC 8739 (◆) törzsek (jobbra) gamma-sugárával szembeni túlélési görbéje (Makk és mtsai 2016, 2019)

Az FeSDHB5-19^T jelzésű baktériumtörzset szintén a Budai-termálkarsztról származó, de 5 kGy gamma-sugárával kezelt biofilm mintából izoláltuk *Sphaerotilus-Leptothrix* tápagarról (DSMZ 803). A polifázikus taxonómia elvei szerint karakterizált típus törzset *Deinococcus fonticola* néven írtuk le (Makk és mtsai 2019). A fajnév (fon. ti'co. la. L. masc. n. *fons, fontis*; L. suff. -*cola*, L. masc. or fem. n. *incola*; N.L. masc. n. *fonticola*) a termálforrásra, a típus törzs természetes élőhelyére utal. A Gram-negatív festődésű szférikus sejtek egyesével, párosával vagy tetradokban rendeződnek el, csillóval nem rendelkeznek, endospórát nem képeznek. A típus törzs anyagcseréje aerob. Kataláz- és oxidáz-pozitív. Részletes fenotípusos és enzimátikus tulajdonságait a Függelék 11.1-1. táblázata tartalmazza. A típus törzs pH 5,0-10,0 tartományban, 10 °C és 32 °C közötti hőmérsékleten szaporodik, optimálisan pH 6,5-7,5 értéken és 28 °C-on. Sótoleranciát 1,5% (m/V) NaCl koncentrációig, optimális növekedést 0-0,5% (m/V) NaCl koncentrációnál mutat. A sejtek erős gamma- és UV-sugárával szembeni ellenálló képességet mutatnak (D₁₀<8 kGy és D₁₀~800 Jm⁻²) (5.3-19. ábra). Zsírsav profiljának jellemző komponensei a C_{16:0} és a C_{16:1} ω7c zsírsavak. A domináns légzési kinon az MK-8. A sejtfal peptidoglikánja, mint diagnosztikus diaminsavat, L-ornitint tartalmaz, ami az A3β típusú L-Orn-Gly₁₋₂ típusnak felel meg. A típus törzs DNS-ének G+C tartalma 60,9 mol%.

A neighbor-joining módszerrel szerkesztett filogenetikai fákon az általunk kitenyészett FeSTC15-38^T típusörzssel legnagyobb szekvencia egyezést mutató faj a *D. hopiensis* KR-140^T (94,1%) típusörzse (5.3-20. ábra), míg az FeSDHB5-19^T típusörzssel legnagyobb szekvencia egyezést mutató faj a *D. antarcticus* G3-6-20^T (96,5%) típusörzse volt (5.3-21. ábra).



5.3-20. ábra A *Deinococcus budaensis* sp. nov. FeSTC15-38^T típusörzs és a legközelebbi rokon fajok típusörzseinek 16S rRNS gén alapú neighbor-joining algoritmussal készült törzsfája (Makk és mtsai 2016) (Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 2 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)



5.3-21. ábra A *Deinococcus fonticola* sp. nov. FeSDHB5-19^T típusörzs és a legközelebbi rokon fajok típusörzseinek 16S rRNS gén alapú neighbor-joining algoritmussal készült törzsfája (Makk és mtsai 2019) (Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 1 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

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

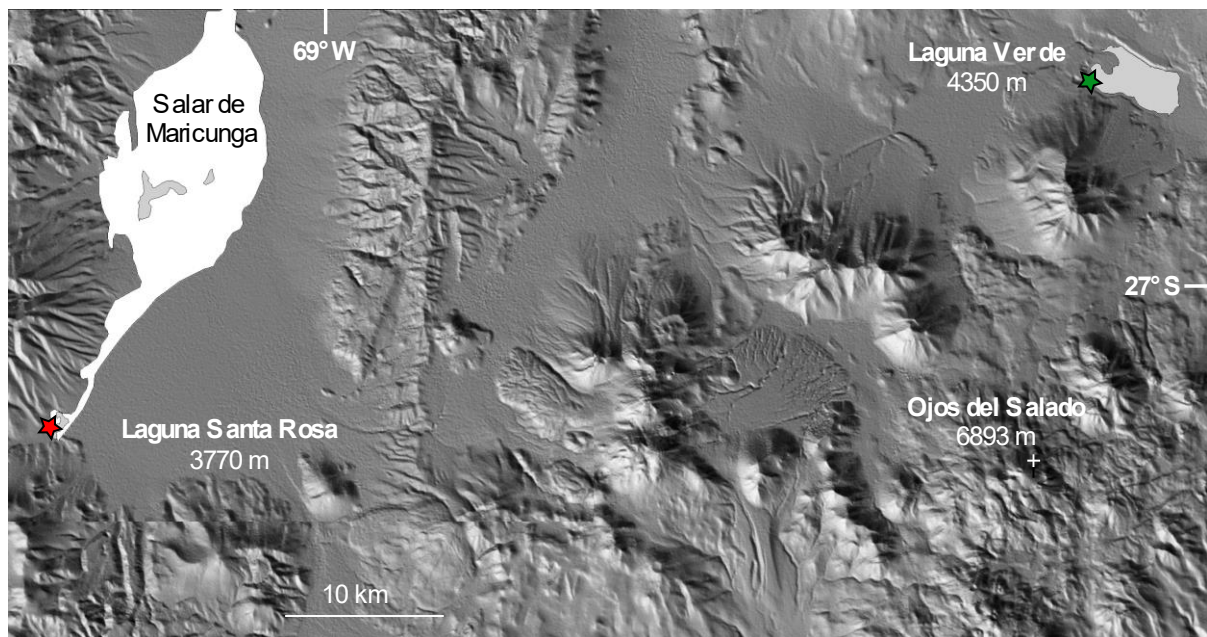
A Magyar Száráz-Andok Kutatási Program – Dr. Nagy Balázs szakmai irányításával – 2010-ben szervezett először expedíciót a Száráz-Andok különálló hegycsoportjait reprezentáló Ojos del Salado-vidék környezeti változásainak feltárása céljából. Azóta a kihelyezett műszerek segítségével – 4200 m-től 6893 m-ig – 6 magassági szintben folyamatosan monitorozzák az örökfagy jelenlétét, területi elterjedését, degradációját és változásait. 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 legextrémebb – de nagy kiterjedésű – földi környezetben végmenő leghényesebb átalakulásokba engednek betekintést [8].

5.4.1. Negatív vízháztartású magashegyi sekély sós tavak halofil és sugárrezisztens baktériumközösségei

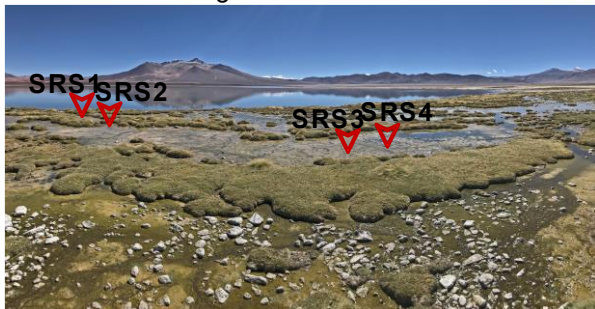
A középső Andok térségében (Altiplano: Bolívia, Chile, Argentína; Atacama-sivatag: Chile északi része és Puna: Chile, Argentína) számos magashegyi (>3000 m tengerszint feletti magasságú) sós tó és vizes élőhely található (Albarracín és mtsai 2015, 2020; Bull és mtsai 2016; Orellana és mtsai 2018). Ezek 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, melyekben a szulfátok és a kloridok, ritkábban a nátrium-, a kalcium- és a magnézium-karbonátok dominálnak, meglehetősen ingadozó (Risacher és mtsai 2003). Az aktív vulkánok közelsége miatt kémiai összetételüket befolyásolja a szokatlan ásványi anyagokat (pl. lítiumot, bórt vagy arzént) tartalmazó termásvizek beszivárgása is (Vignale és mtsai 2021). A magashegyi atacama-sivatagi 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).

A Puna de Atacama fennsíkon végzett hőmérséklet elemzési eredmények azt mutatják, hogy 4550 m tengerszint feletti magasságban a havi átlag alapján számított hőmérséklet-emelkedés az elmúlt 6 évben meghaladta a +2 °C-ot (Nagy és mtsai 2019). Emiatt a területen előforduló kisszámú, különleges sós tó tanulmányozása nemcsak szélsőségségük, hanem gyors változásuk és sebezhetőségük miatt is nagy jelentőséggel bír. Kutatásunk célja ezért az volt, hogy tenyésztési és piroszekvenálási módszerek alkalmazásával bővítsük ismereteinket a Puna de Atacama (Chile) két távoli, magasan fekvő, sekély sós tavában élő (poli)extremofil baktériumközösségek taxonómiai diverzitásáról (Borsodi és mtsai 2022b).

A 3700 m tengerszint feletti magasságon fekvő Laguna Santa Rosa egy kb. 2 km² kiterjedésű sekély tó (mélysége <1,2 m). A tó partján néhol tözezes agyag, máshol sivatagi közettörmelék vagy sókéreg figyelhető meg (5.4-1. ábra). A tó közvetlen közelében sűrű növényzet található, melyet Juncaceae fajok urálnak. Ez a biodiverzitási "forró pont" a Ramsari Egyezmény oltalma alatt áll, és mintegy 49 állatfajnak ad otthont (Rundel & Kleier). A Laguna Santa Rosa kis medencéi védettek az erős szelek által keltett hullámok eróziós hatásától, itt a tó üledéke a part menti zónában halmozódott fel.



Laguna Santa Rosa



Laguna Verde



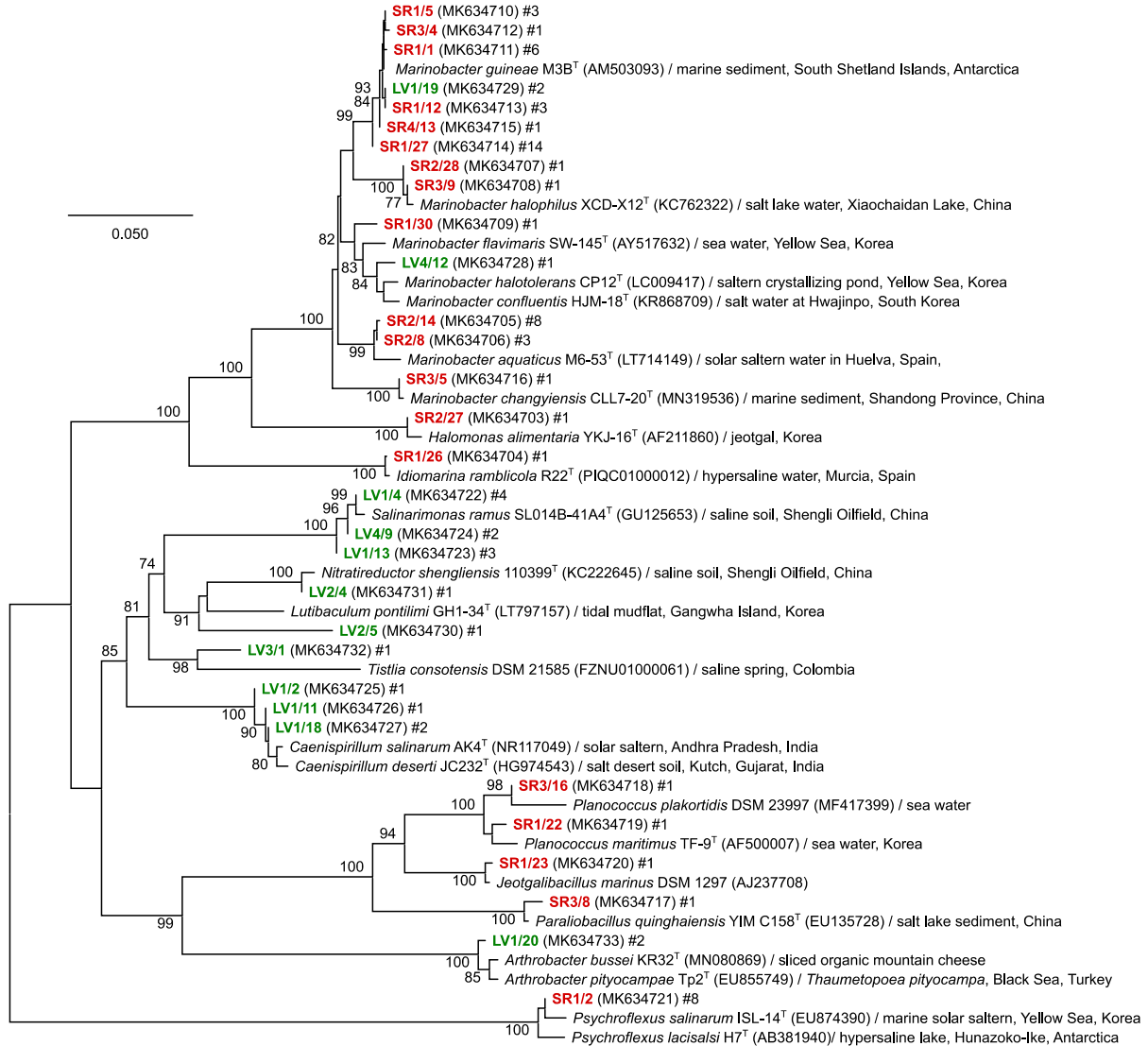
5.4-1. ábra Az Ojos del Salado vulkán földrajzi elhelyezkedése Chile északi részén (műholdkép felül), valamint a Laguna Santa Rosa 3770 m tengerszint feletti magasságon (SR) és a Laguna Verde 4350 m tengerszint feletti magasságon (LV) helyzete a Puna de Atacama fennsíkon (Borsodi és mtsai 2022b) (Nagy Balázs fotói a Laguna Santa Rosa és a Laguna Verde mintavételi helyeit mutatják.)

A Laguna Verde a chilei-argentín határ közelében, a Laguna Santa Rosától keletre, 4350 m tszf. magasságban található. A sekély tó vízfelülete körülbelül 15 km², maximális mélysége 4 m. Ebben a magasságban a tó partján már nincs növényzet (5.4-1. ábra). A Laguna Verde környékén azonban számos hévforrás fakad, melyek vize sekély medencéken keresztül táplálja a tavat. Ezeknek a kis medencéknek az alján üledékfelhalmozódás egyáltalán nem jellemző. A part menti litorális zóna alapkőzetét – szabad szemmel is látható – vöröses-barna színű mikrobiális bevonat borítja, mely e sós környezet szélsőségeihez alkalmazkodva fejlődött ki és maradt fenn.

A mintavételre 2016 januárjában és februárjában (a déli félteke nyarán) került sor a Földgömb Atacama Klíma-monitorozó Expedíció keretében. A mintavétel idején mindkét általunk vizsgált sós tó, a Laguna Santa Rosa (SR) és a Laguna Verde (LV) vizében nagy fajlagos elektromos vezetőképesség értékeket (SR: 5,0 mS cm⁻¹, LV: 6,3 mS cm⁻¹) mérték. Az anionok közül mindkét tóban a klorid (SR: 1350 mg l⁻¹, LV: 1490 mg l⁻¹) volt a domináns. A Laguna Santa Rosa vize enyhén alkalikus (pH 8,1), a Laguna Verde vize neutrális közeli (pH 6,8) volt. A 4350 m tszf. magasságon fekvő Laguna Verdébe érkező hévforrások miatt a tóvíz hőmérséklete a mintavételi helyen 10 °C-kal magasabb volt, mint a 3770 m tszf. magasságon fekvő Laguna Santa Rosáé. Az ammónium- és nitrit-koncentráció mindkét tóban nagyon kicsi volt (SR: 0,4 mg l⁻¹ és 0,02 mg l⁻¹, LV: 0,1 mg l⁻¹ és 0,03 mg l⁻¹); a nitrát koncentrációja azonban hatszor nagyobb volt a Laguna Santa Rosa vizében, mint a Laguna Verdében (SR: 27,0 mg l⁻¹, LV: 4,3 mg l⁻¹).

kerine.borsodi.andrea_3_22

A két sós tóból összesen 79 baktériumtörzset (SR: 53, LV: 26) tenyésztettünk ki 7% (m/V) NaCl-dal kiegészített R2A (DSMZ 830) táptalajon (pH 7,5), melyeket ARDRA módszerrel csoportosítottunk. A 31 reprezentatív törzset a Proteobacteria, a Firmicutes, az Actinobacteria és a Bacteroidetes törzsek különböző aerob és fakultatív anaerob, halofil fajaként azonosítottuk (5.4-2. ábra).



5.4-2. ábra Az Ojos del Salado előterében fekvő Laguna Santa Rosa és Laguna Verde magashegyi sós tavakból származó (piros és zöld színű félkövérrel jelölt) baktériumtörzsek 16S rRNS gén szekvencia alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon baktériumfajok feltüntetésével

(Borsodi és mtsai 2022b)

(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 5 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

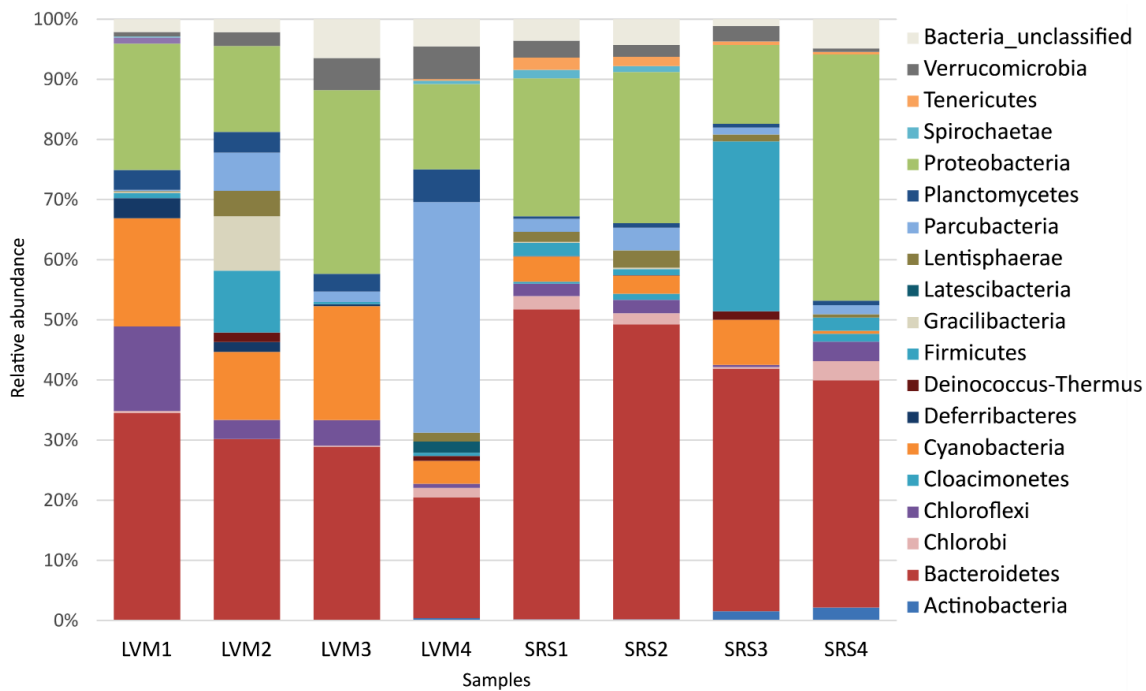
A széles körben elterjedt *Marinomonas* (Gammaproteobacteria) nemzetség képviselőit tenyésztettük ki mindegyik mintavételi helyről a legnagyobb számban. A halofil (pl. *M. halophilus*) és a mérsékelten halofil (pl. *M. guineae*, *M. flavimaris*, *M. halotolerans*, *M. aquaticus*) fajokat korábban tengervízből (Yoon és mtsai 2004), tengeri üledékből (Montes és mtsai 2008; Li és mtsai 2020), sós tóból (Zhong és mtsai 2015), sólepárló tóból (Kim és mtsai 2017; León és mtsai 2017) írták le. A Laguna Tebenquiche mikrobiális bevonatában szintén a *Marinobacter* nemzetséget azonosították az aerob heterotrófok funkcionális csoportjának tagjaként (Fernandez és mtsai 2016). A *Marinobacter* fajok fontos szerepet játszhatnak a különböző elemek biogeokémiai ciklusában, nemcsak szénhidrát- és

aminosav-anyagcseréjük révén, hanem nitrátléghő, továbbá nitrátfüggő Fe (II)- és Mn (II)-oxidációs, valamint arzenát- és fumarát-redukciós képességük révén is (Handley & Lloyd 2013). A kizárólag a Laguna Santa Rosa mintákból azonosított további halofil fajok közé tartozott a *Halomonas alimentaria* (Yoon és mtsai 2002), az *Idiomarina ramblicola* (Martínez-Cánovas és mtsai 2004), a *Planococcus plakortidis* (Kaur és mtsai 2012), a *Planococcus maritimus* (Yoon és mtsai 2003), a *Jeotgalibacillus marinus* (Yoon és mtsai 2010) és a *Psychroflexus salinarum* (Yoon és mtsai 2009), amelyek mindegyike 15%-os (m/V) vagy annál nagyobb NaCl-koncentráción is képes növekedni. A Laguna Verde mintákra jellemző halofil fajok közé tartoztak a sós talaj- és üledékmintákból leírt *Salinarimonas ramus* (Cai és mtsai 2011), *Nitratireductor shengliensis* (Pan és mtsai 2014) és *Caenispirillum salinarum* (Ritika és mtsai 2012) fajok képviselői. Az általunk kitenyészett halofil izolátumok közül csak a *Halomonas* és a *Planococcus* nemzetségek tagjai mutattak taxonómiai átfedést a chilei Altiplano sós Lejía tavának bevonatmintájából talajkivonatós táptalajról izolált baktériumokkal (Mandakovic és mtsai 2018). A szerves anyagok aerob lebontása mellett számos azonosított halofil faj (pl. *Halomonas alimentaria*, *Jeotgalibacillus marinus*, *Salinarimonas ramus*) nitrátredukciós képessége révén az anaerob biodegradációs folyamatokban is részt vehet (Yoon és mtsai 2002, 2010; Cai és mtsai 2011).

Fontos megjegyeznünk, hogy a Puna de Atacama magashegyi sós tavaiból nyert izolátumainkkal legközelebbi rokonságban álló típusfajok mindegyikét az új évezredben írták le, ami azt jelzi, hogy ezek a szélsőséges környezetek számos eddig még ismeretlen extremofil baktériumtaxon számára kínálnak élőhelyet. Ezt támasztja alá az az eredményünk is, hogy két Laguna Verde törzsünk 95% alatti szekvencia hasonlóságot mutatott a már ismert fajokkal, így ezekre potenciálisan új halofil baktérium nemzetségek/fajok képviselőiként tekinthetünk. Az LV2/5 jelzésű törzsünk legközelebbi rokona a *Lutibaculum pontilimi* faj (5.4-2. ábra) típus törzse volt, amit a Gangwha-sziget (Korea) tengerpartján lévő árapályos iszaptól izoláltak (Lee 2019). Az LV3/1 jelzésű törzsünk a *Tistlia consotensis* faj (Rhodospirillaceae) típus törzsével mutatta a legnagyobb szekvencia hasonlóságot (5.4-2. ábra), amit egy kolumbiai sós forrásból izoláltak (Díaz-Cárdenas és mtsai 2010).

Tenyésztéses vizsgálataink jelentőségéhez az új taxonómiai eredmények mellett az is hozzájárulhat, hogy napjainkban egyre nagyobb az érdeklődés a halofil baktériumok iránt sós környezetben is stabil enzimeik és/vagy anyagcseretermékeik miatt (Wang és mtsai 2019). Példaként említhetjük a *Marinomonas* sp. BSi20414 törzsből származó β -1,3-galaktozidáz enzimet (Ding és mtsai 2017), vagy a *Halomonas* fajokból kinyert polihidroxi-alkanoátokat és fehérjéket (Chen és mtsai 2018). Az utóbbi években a Salar de Atacama halitokból származó, *Halomonas* és *Idiomarina* nemzetségekhez tartozó halofil izolátumokat is vizsgálták hidrolitikus enzimeik, különösen a lipáz és a pektináz termelés biotechnológiai célú hasznosítása szempontjából (Ruginescu és mtsai 2019).

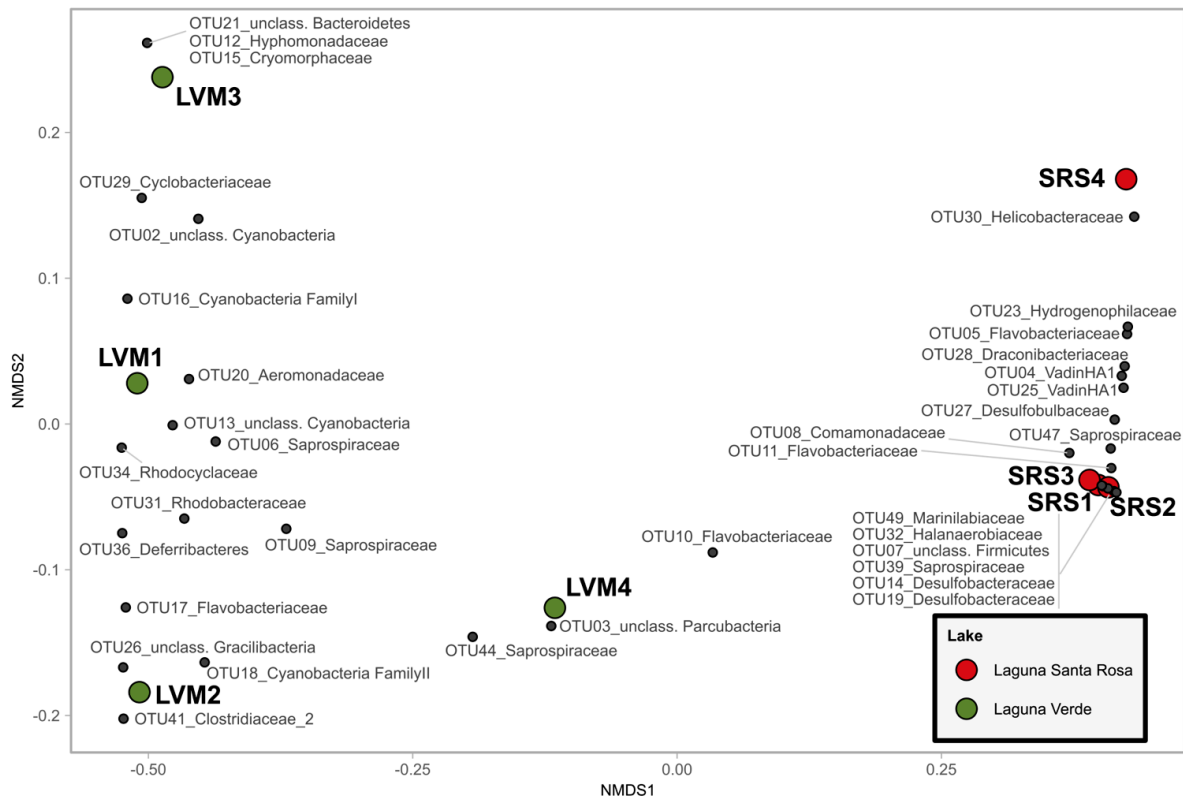
A Száraz-Andok magashegységi sós tavaiból származó bentikus baktériumközösségek taxonómiai összetételének a 16S rRNS gén piroszekvenálásán alapuló elemzése összesen 8463 jó minőségű szekvenciát eredményezett a nyolc mintából (Függelék 11.1-4. táblázat). Az OTU-k száma (Sobs), a becsült fajgazdagsági (ACE, Chao1) és diverzitási (Inverse Simpson) indexek értékei a szélsőségesebb Laguna Verde minták esetében általában kisebbek voltak, mint a Laguna Santa Rosa mintákban. A bentikus mintákban összesen 18 törzs képviselői voltak jelen legalább 1%-os relatív gyakorisággal (5.4-3. ábra). Mindkét élőhelyen a Bacteroidetes és a Proteobacteria törzsekbe sorolt filotípusok voltak a leggyakoribbak, összhangban a Salar de Atacama más hipersós tavaiban végzett korábbi vizsgálatok eredményeivel (Demergasso és mtsai 2010; Dorador és mtsai 2013; Fariás és mtsai 2014; Mandakovic és mtsai 2018; Molina és mtsai 2021). A Bacteroidetes törzsbe tartozó szekvenciák aránya azonban majdnem kétszer olyan nagy volt a Laguna Santa Rosa üledékmintákban, mint a Laguna Verde mikrobiális bevonat mintákban. Habár a Proteobacteria átlagos abundanciája hasonló volt a két tóban, a mintavételi helyek között figyelemre méltó különbségeket lehetett megfigyelni.



5.4-3. ábra A Puna de Atacama (Chile) Laguna Santa Rosa (SR) és Laguna Verde (LV) magashegyi sós tavainak benthikus mintáiból származó 16S rRNS gén amplicon-szekvenciák százalékos megoszlása az azonosított baktérium törzsek között (Borsodi és mtsai 2022b)

(Minta jelölések: Laguna Verde mikrobiális bevonat minták: LVM – LVM4;
Laguna Santa Rosa üledék minták: SRS1 – SRS4)

Ezek a különbségek az OTU-k szintjén is megmutatkoztak a két tó között (5.4-4. ábra). Eltérő Saprospiraceae-rokon filotípusok jellemezték a két benthikus közösséget, ami arra utal, hogy ökológiai differenciálódás alakult ki a két tóban előforduló egyébként ubikvista előfordulású Saprospiraceae taxonok között, melyekről ismert, hogy széles környezeti (pl. pH és só) toleranciával jellemezhetők (Schauer és mtsai 2005). A Laguna Santa Rosa üledékben a Flavobacteriaceae családba tartozó OTU-k nagyobb arányban voltak jelen, mint a Laguna Verde mikrobiális bevonatmintákban. Ezeket az általában aerob kemoorganotróf anyagcserét folytató Flavobacteriaceae baktériumokat gyakran izolálják az átlagostól egészen a szélsőséges környezeti paraméterekkel jellemezhető szárazföldi és tengeri ökoszisztémákból (pl. az Antarktisz tengeri üledékéből is), ahol fontos szerepet játszanak a szerves anyagok lebontásában (Humphry és mtsai 2001). Két eddig még tenyésztett törzssel nem rendelkező család-szintű Bacteroidetes leszármazási vonal, nevezetesen a BD2-2 és a vadinHA17 képviselői szintén elsősorban a Laguna Santa Rosa üledékmintákra voltak jellemzők. A vadinHA17 (*Candidatus Aminobacteroidaidaceae*) baktériumokat nemrégiben, mint aktív fehérje hidrolizáló és aminosavbontó baktériumokat írták le anaerob emésztőkből, metagenomikai és metatranszkriptomikai elemzések alapján (Mei és mtsai 2020). A mérsékelten halofil, obligát fermentatív Halanaerobiaceae (Firmicutes) és a szulfátredukáló Desulfobulbaceae és Desulfobacteraceae (Deltaproteobacteria) fajok képviselőinek a jelenléte a Laguna Santa Rosa üledékben a tavat szegélyező növényzetből származó szerves anyagok anaerob lebontására utal. A Halanaerobiaceae családba tartozó szekvenciákat kimutatták a Lejía-tó hipersós mintáiból (Mandakovic és mtsai 2018) és a Laguna Tebenquiche üledékéből (Fernandez és mtsai 2016) is, míg a Desulfobacterales család képviselőit a Socompa vulkán közelében található magashegyi sztromatolitokból (Fariás és mtsai 2013) és a Salar de Huasco vizes élőhelyéről is (Molina és mtsai 2021). A Laguna Santa Rosa üledéke 1%-nál nagyobb arányban tartalmazott redukált kénvegyületek oxidációjában részt vevő, szigorúan anaerob anoxikus fotoautotróf Chlorobi fajokkal rokon szekvenciákat is. Ezek a baktériumok a szulfátredukálókkal együtt aktív szerepet játszhatnak a Laguna Santa Rosa üledékében zajló lokális kén körforgalomban.



5.4-4. ábra A Puna de Atacama (Chile) Laguna Santa Rosa (SR) és Laguna Verde (LV) magashegyi sós tavainak bentikus mintáiból származó baktérium OTU-k alapján Bray-Curtis hasonlósági indexszel készített NMDS ordináció (Borsodi és mtsai 2022b)
(A minták közötti 40%-os eltérésért felelős OTU-k láthatók. Stressz érték 0,015.)

Úgy tűnik, hogy az extrémebb Laguna Verde bentikus közösségeiben a cianobaktériumok oxigéntermelő fotoszintézise lehetett a szervesanyag-termelés elsődleges forrása, mivel a Cyanobacteria törzsbe sorolt OTU-k – hasonlóan a korábbi eredményeinkhez (Aszalós és mtsai 2016) – viszonylag nagy gyakorisággal és diverzitással fordultak elő minden LV mintában (5.4-4. ábra). Taxonómiailag változatos, ugyanakkor egyedi cianobaktérium közösségeket tártak fel korábban a Száraz-Andok más vizes élőhelyeiből is, pl. a hipersós Salar de Huasco (Dorador és mtsai 2008, 2013), a Tebenquiche és a La Brava kőzetfelszíni struktúráiból (Fariás és mtsai 2014) és a Socompa vulkán sztratomolitjaiból (Fariás és mtsai 2013). A cianobaktériumokon kívül, mindkét vizsgált tó szervesanyag-termeléséhez hozzájárulhattak a metabolikusan sokoldalú bíbor nemkén baktériumok (pl. Rhodobacteraceae, Rhodospirillaceae és Rhodocyclaceae) és a zöld nemkén baktériumok (pl. Anaerolinaceae) is anoxikus fototróf anyagcseréjük révén. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a magashegyi vizes élőhelyek bevonat- és üledékrétegeiben a Cyanobacteria és a Rhodobacterales baktériumok térbeli lokalizációja és fotoszintetikus aktivitása az UV-sugárzás napi ciklusa által szigorúan szabályozott (Fariás és mtsai 2013; Molina és mtsai 2016, 2021). Kutatásunkat megelőzően a Rhodobacteraceae képviselőinek nagy relatív abundanciáját mutatták ki a chilei Altiplano vizes élőhelyeinek víz- és üledékmintáiból (Dorador és mtsai 2013), a Socompa vulkán vizes élőhelyein kialakult magashegyi sztratomolitokból (Fariás és mtsai 2013; Albarracín és mtsai 2015) és az Atacama-sivatagban, a Lejía-tó partján lévő sós talajból is (Mandakovic és mtsai 2018). A Laguna Verde mikrobiális bevonat közösségeinek átlagosan több mint 10%-át tették ki a Parcubacteria (korábban *Candidatus* OD1) törzsbe tartozó szekvenciák, de arányuk a mintavételi helyek szerint nagymértékben különbözött. E nagyon kis genomméretű, fermentatív anyagcseréjű baktériumok képviselőit korábban különböző anoxikus környezetekből (Harris és mtsai 2004; Nelson & Stegen 2015), többek között az Atacama-sivatagban, a Lejía-tó partján lévő sós talajból is kimutatták (Mandakovic és mtsai 2018). A Laguna Verde mikrobiális bevonatában (főként az LVM2

mintában) egy másik anaerob fermentálóval, a Clostridiaceae-val (Firmicutes) rokon OTU-k előfordulása is jellemző volt, hasonlóan Farías és mtsai (2017) eredményéhez a Salar de Atacama egyik hipersós tavában, a La Brava lágy bevonatában találtakhoz. A Verrucomicrobia törzsbe tartozó szekvenciák szintén nagyobb számban fordultak elő a Laguna Verde bentikus mintákban, mint a Laguna Santa Rosa üledékében. A Verrucomicrobia törzs aerob vagy fakultatív anaerob, szénhidrát fermentációra képes baktériumai széles körben elterjedtek a természetben, előfordultak a chilei Altiplano magashegyi vizes élőhelyein (Dorador és mtsai 2013) és a Salar de Atacama hipersós tavának, a La Brava mikrobiotájainak a baktériumközösségeiben is (Farías és mtsai 2017). Szintén a Laguna Verde bentikus mintákat jellemezte a Phycisphaerae (Planctomycetes) rokon szekvenciák előfordulása. A törzs aerob kemoorgano-heterotróf anyagcserére képes képviselőit sokféle környezetből, pl. a hipersós Laguna Tebenquiche-ből (Salar de Atacama) is kimutatták már (Fernandez és mtsai 2016).

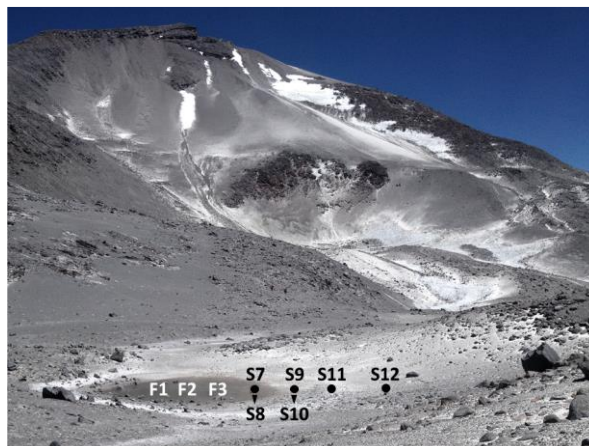
Kutatásai eredményeink konklúziója, hogy a Puna de Atacama magashegyi sós tavaiból az egyidejűleg alkalmazott tenyésztési és piroszekvenálási módszerekkel a többszörösen szélsőséges környezeti körülmények dacára nagyfokú bakteriális taxonómiai diverzitást tártunk fel. A bentikus baktériumközösségeket mindkét tóban a Proteobacteria és a Bacteroidetes törzsekbe tartozó szekvenciák dominálták. Alacsonyabb taxonómiai szinteken mind az élőhely típusa (tavi üledék vs. mikrobiális bevonat), mind a mintavételi helyek szerint nagyfokú változatosságot tapasztaltunk. Ez arra utal, hogy a földrajzi és éghajlati hasonlóságok ellenére a helyi környezeti hatások nagymértékben befolyásolhatják a mikrobiális diverzitást. Így az élőhely típusától függően különböző baktériumok vehetnek részt a helyi szén-, nitrogén- és kén körforgalomban, beleértve a fototrófián alapuló elsődleges termelést és a szerves anyagok főként anaerob biodegradációját (Borsodi és mtsai 2022b).

5.4.2. *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. Habár a permafroszt (vagyis az örökfagy birodalma) meglehetősen ősi és stabil környezetnek tekinthető, napjaink globális klímaváltozásának hatására szembetűnő változásokon megy keresztül (Cheng & Wu 2007; Schuur és mtsai 2015). A permafroszt 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 tszf. magasság felett található olvadéktavak ugyanakkor sokkal ritkábbak, mint a periglaciális tavak (pl. moréna-tavak és sarkvidéki tavak). A klímaváltozásnak kitett, permafroszttal jellemezhető magashegységi területek általában mentesek a közvetlen humán behatásoktól, hiszen rendkívül nehezen megközelíthetőek. A magashegyi permafroszt olvadéktavak ezért az asztrobiológiai kutatások természetes laboratóriumainak is tekinthetők, mivel egyszerre vizsgálható bennük a nagy tengerszint feletti magasságból eredő extremitás 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 extremofil mikrobiális közösségeiről igen kevés információval rendelkezünk. Jelen kutatásunk célja az volt, hogy az Ojos del Salado vulkán 5900 m tengerszint feletti magasságában fekvő – valószínűleg a világ legmagasabban található – permafroszt olvadéktavában és környezetében feltárjuk az extremofil baktériumközösségek taxonómiai összetételét tenyésztéses és Illumina MiSeq amplikon-szekvenálási módszerek egyidejű alkalmazásával (Aszalós és mtsai 2020b).

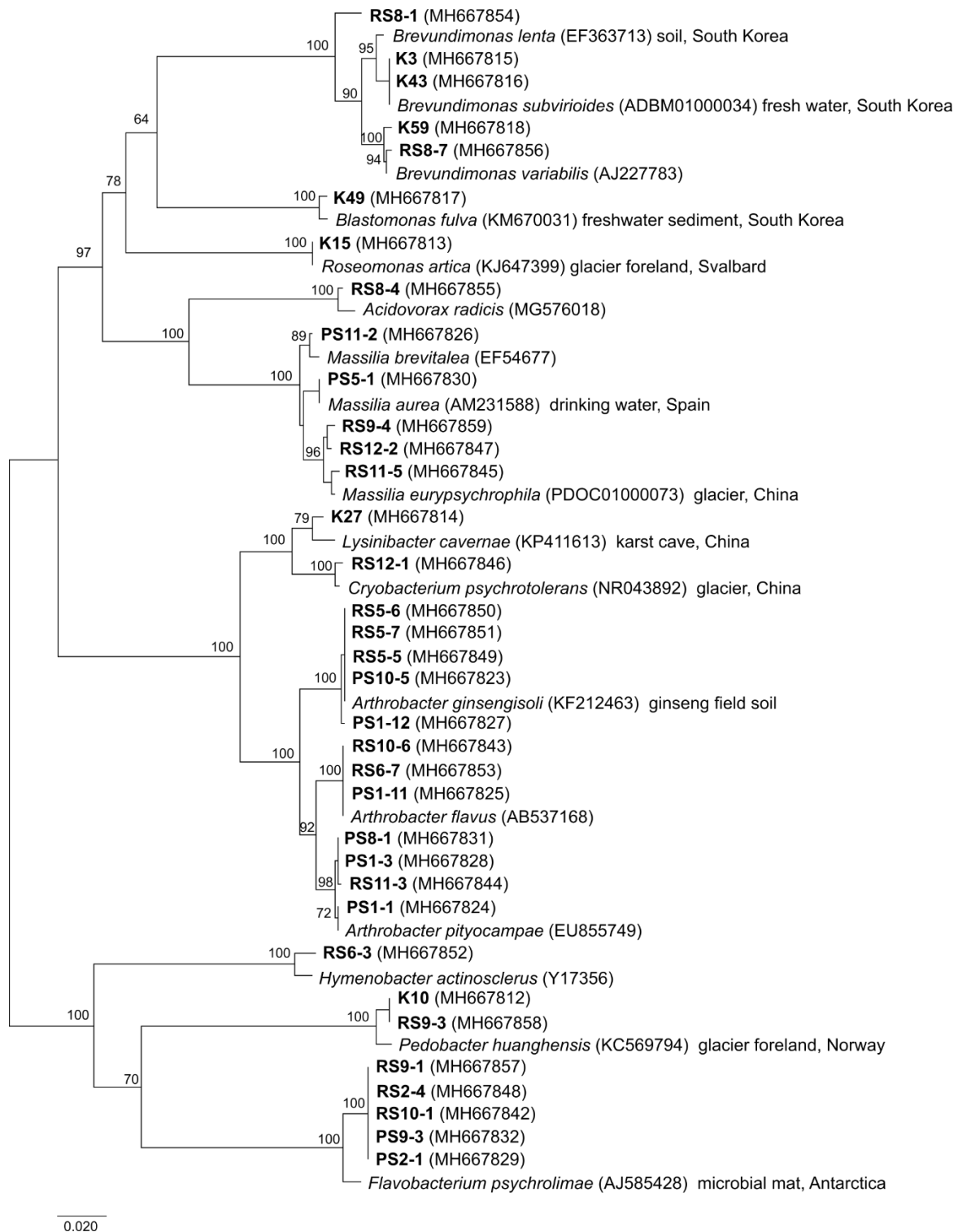
A mintavételre a 2016. évi februári Földgömb Atacama Klíma-monitorozó Expedíció során került sor a tóvízből (F1-F3) és a tavi üledékből, valamint a tó körüli permafroszt aktív rétegéből (S7-S12) a tótól különböző távolságokból és a felszín alól különböző mélységekből (5.4-5. ábra). A mintavételkor a tó vizének hőmérséklete 9,2 °C, a pH-ja 8,7, a fajlagos elektromos vezetőképessége 1081 $\mu\text{S cm}^{-1}$ volt.



5.4-5. ábra A mintavételi helyek elhelyezkedése a permafroszt olvadéktó környezetében (5900 m tengerszint feletti magasságon), háttérben az Ojos del Salado (6893 m) (Aszalós és mtsai 2020b) (A fekete színű mintajelzések (S7-S12) az aktív réteg felső 5 cm-es rétegéből (fekete pontok) és az aktív réteg alsó 10 cm-es rétegéből (fekete háromszög) vett mintavételi pontokat mutatják. A fehér színű mintajelzések (F1, F2, F3) a vízmintákra utalnak. A tó átmérője ~30 m.)

kerine.borsodi.andrea_3_22

A tápanyagokban szegény R2A (DSMZ 830) és gazdag PYG (DSMZ 1140) pH 7,0 táptalajok felhasználásával, 8 °C-on történő tenyésztéssel, összesen 125 baktériumtörzsből álló törzsgyűjteményt hoztunk létre. Izolatumaink a permafroszt környezetekből leggyakrabban kimutatott Proteobacteria, Bacteroidetes és Actinobacteria törzsek képviselőinek bizonyultak (5.4-6. ábra).

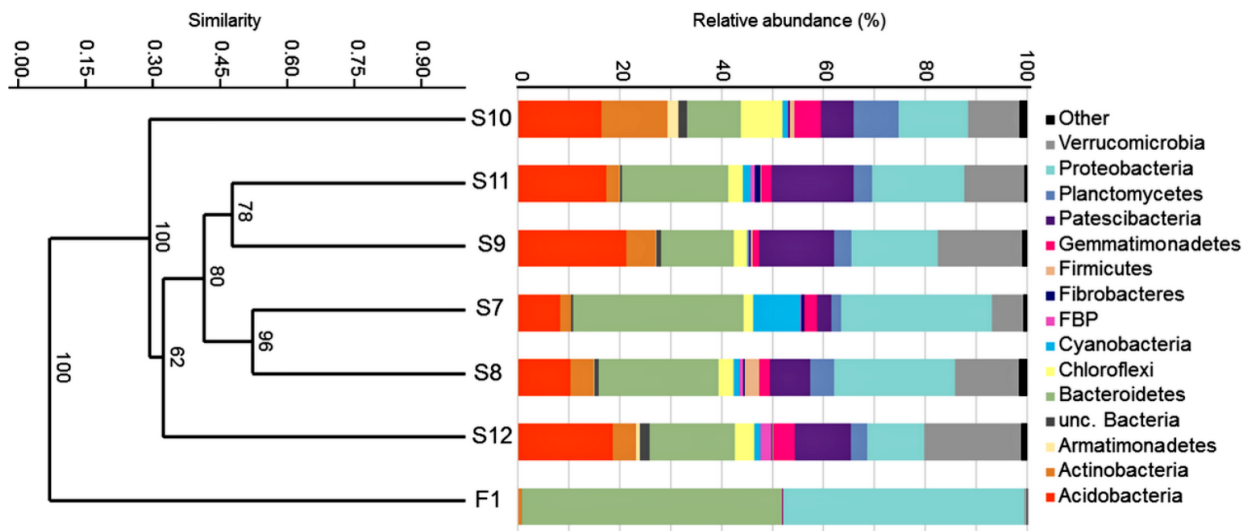


5.4-6. ábra Az Ojos del Salado permafroszt olvadéktavából és környezetéből származó (félkövérrel jelölt) baktériumtörzsek 16S rRNS gén szekvencia alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon baktériumfajok feltüntetésével (Aszalós és mtsai 2020b) (Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 2 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

A Firmicutes törzs tagjai az Ojos del Salado mintákból nem kerültek elő, annak ellenére, hogy korábban gyakoriak voltak a permafroszt izolátumok között (Jansson & Taş 2014). A legtöbb általunk tenyésztésbe vont baktériumtörzsek olyan pszichrofil (hidegkedvelő) baktériumfajok (pl. *Flavobacterium psychrolimnae*, *Cryobacterium psychrotolerans*, *Massilia eurypsychrophila*, és *Roseomonas arctica*) képviselőivel mutatta a legnagyobb szekvencia-egyeztést, melyeket magashegységi vagy poláris glaciális környezetekből írtak le (Van Trappen és mtsai 2005; Zhang és mtsai 2007; Shen és mtsai 2015; Qiu és mtsai 2016). A Gram-negatív *Flavobacterium psychrolimnae* faj típus törzsét az Antarktisz száraz völgyeinek egyik édesvízű tavában található mikrobiális bevonatból izolálták; növekedésének hőmérsékleti tartománya 5 °C és 25 °C között, optimuma 20 °C-on van (Van Trappen és mtsai 2005). A fakultatív pszichrofil *Massilia eurypsychrophila* faj típus törzsét egy kínai gleccser jégmagjából izolálták (Shen és mtsai 2015). Több általunk kitenyésztett baktériumtörzs is gleccser környezetekből leírt baktériumfajokkal állt legközelebbi rokonságban, pl. a *Cryobacterium psychrotolerans* fajt a Tian Shan-hegységben lévő No. 1 gleccser előteréből (Zhang és mtsai 2007), míg a *Pedobacter huanghensis* és a *Roseomonas arctica* fajokat a norvégiai Svalbard-szigetsorozat gleccserének előteréből írták le (Qiu és mtsai 2014, 2016). Feltehetően az általunk alkalmazott táptalajok összetétele miatt tártunk fel nagyobb taxonómiai diverzitást az Ojos del Salado permafroszt környezetéből tenyésztéssel, mint korábban a kanadai sarkvidéki permafroszt aktív réteg mintákból, ahonnan csak *Arthrobacter* spp. kerültek elő (Wilhelm és mtsai 2011). Az általunk tenyésztésbe vont törzsek nagy része is az *Arthrobacter* nemzetségbe nyert besorolást (**5.4-6. ábra**). Ennek a nemzetségnek a képviselőit más permafroszt környezetből, pl. a Tian Shan-hegységből (Bai és mtsai 2006) és Szibériából (Bakermans és mtsai 2003; Vishnivetskaya és mtsai 2006) is gyakran kimutatták.

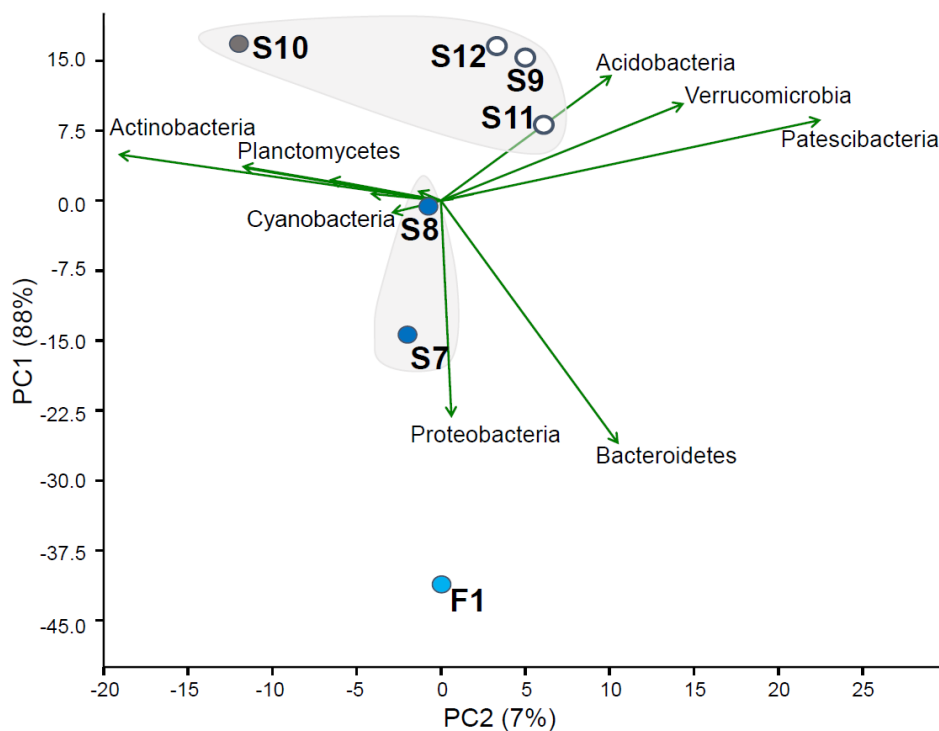
A baktériumközösségek összetételének alaposabb elemzéséhez elvégeztük az Ojos del Salado permafroszt minták nagy áteresztőképességű Illumina MiSeq 16S rRNS gén alapú ampikon-szekvenálását is. Ennek során összesen 447 253 szekvenciát nyertünk, ami a Good-féle lefedettségi érték alapján elegendő volt a vizsgált környezet baktérium diverzitásának leírásához (Függelék **11.1-4. táblázat**). Az OTU számok és a Shannon indexek alapján is a tavi üledékminták és a permafroszt aktív rétegének a mélyebb részéről származó minták taxonómiai sokfélesége nagyobb volt, mint a vízmintáé. Ez összefüggésben lehet a rendkívül sekély vízréteget és az üledékfelszín érő erős UV-B sugárzás baktericid hatásával, valamint a szerves anyagok felhalmozódásának hiányával. A permafroszt aktív rétegében lefelé haladva, ahol a mikroorganizmusok már védve vannak az UV sugárzástól, és a vízakktivitás növekedése is kedvezően hathat a szaporodásukra, a diverzitás növekedését figyeltük meg. Bár a Száraz-Andokban nincsenek gleccserek, melyek más magashegységekre (pl. a Himalájára) jellemzők, az Ojos del Salado 5900 m magasan fekvő olvadéktavának és környezetének baktériumközösségei diverzebbek voltak, mint a Mount Everest periglaciális tavainak a baktériumközösségei (Liu és mtsai 2006).

A filogenetikai elemzések alapján a tóvíz (F1) és az üledékminták (S7-S12) baktériumközösségeinek összetétele azonban élesen elkülönült egymástól (**5.4-7. ábra**); a legnagyobb hasonlóságot az üledékminták (S7 és S8) és a permafroszt aktív rétegének felszíni mintái (S9 és S11) között lehetett megfigyelni. A faji azonosításhoz elfogadott 97%-os 16S rRNS gén szekvencia-egyeztést (Stackebrandt & Goebel 1994) alapul véve, a vízmintákból származó szekvenciák 12%-a, míg az üledék- és permafroszt-minták 46-79%-a nem meghatározható (unidentified), nem osztályozható (unclassified) vagy *Candidatus* taxonokba nyert besorolást. Ezek a filotípusok számos esetben abundánsak voltak a közösségekben, és a Patescibacteria, az Acidobacteria, az Actinobacteria, a Bacteroidetes, a Chloroflexi, a Gemmatimonadetes, a Planctomycetes, a Proteobacteria és a Verrucomicrobia törzsekbe tartoztak. Eredményeink alátámasztják a 16S rRNS gén klónkönyvtárak elemzésével kapott korábbi vizsgálatunk eredményeit, melynek során a legtöbb molekuláris klón addig tenyésztésbe még nem vont taxonokkal mutatta a legnagyobb szekvencia-egyeztést (Aszalós és mtsai 2016).



5.4-7. ábra Az Ojos del Salado olvadéktavának környezetéből származó 16S rRNS gén amplikon-szekvenciák százalékos megoszlása az azonosított törzsek között, valamint az OTU-k eloszlása alapján szerkesztett Bray-Curtis hasonlósági index alapú klaszteranalízis eredménye (*Aszalós és mtsai 2020b*) (Minta jelölések: F1, vízminta; S7-S12, a tavi üledékből és a permafroszt aktív rétegéből származó minták)

A baktériumközösségekben legnagyobb gyakorisággal előforduló törzsek megoszlása alapján elvégzett főkomponens analízis biplotján a minták három csoportba rendeződtek (**5.4-8. ábra**). A PC1 mentén a vízminta (F1) különült el a többitől a Proteobacteria és a Bacteroidetes törzsek nagy relatív abundanciája miatt. A PC2 mentén a felszíni permafroszt minták (S9, S11, S12) képeztek közös csoportot, pozitív korrelációval az Acidobacteria, a Verrucomicrobia és a Patescibacteria törzsekkel, míg a mélyebb permafroszt minta (S10) elkülönülésében elsősorban az Actinobacteria és a Planctomycetes törzs játszott szerepet.



5.4-8. ábra Az Ojos del Salado előterében 5900 m tengerszint feletti magasságon fekvő permafroszt olvadéktavának víz (F1), üledék és permafroszt aktív réteg (S7-S12) mintáiból kimutatott baktériumközösségek PCA ordinációja az azonosított törzsek relatív abundancia értékei alapján (*Aszalós és mtsai 2020b*)

Eredményeinkkel megegyezően, a Száraz-Andok más 5000 m tszf. élőhelyeiről származó minták elemzésével is többnyire leegyszerűsödött baktériumközösség szerkezetet tártak fel (Costello és mtsai 2009; Lynch és mtsai 2012; Solon és mtsai 2018), amit az alacsony szervesanyag-tartalommal hoztak összefüggésbe (Abrevaya és mtsai 2016). Eddig csak néhány átfogó elemzés született a Száraz-Andokban hasonló magasságban található Llullaillaco és Socompa vulkánok környezetére vonatkozóan. A tanulmányok a rendkívül hideg és száraz üledékekben a fotoautotróf anyagcserét folytató cianobaktériumok hiányáról számoltak be (Costello és mtsai 2009; Lynch és mtsai 2012), míg jelenlétüket a melegebb környezetben, pl. a fumarolás üledékekben gyakran kimutatták (Solon és mtsai 2018). Vizsgálatunk során a cianobaktériumok igaz kis mennyiségben, de minden mintában jelen voltak, legnagyobb arányban a tavi üledékben (S7, 9%). Szekvenciáinkat a N-fixációra képes *Nodosilinea nodulosa* képviselőjeként azonosítottuk (Perkerson III és mtsai 2011). A kemolito-autotrófok között a *Hydrogenophaga* nemzetség tagjait is megtaláltuk, melyek a H₂ oxidációjával és a CO₂ egyedüli szénforrásként való hasznosítására képesek (Kämpfer és mtsai 2005).

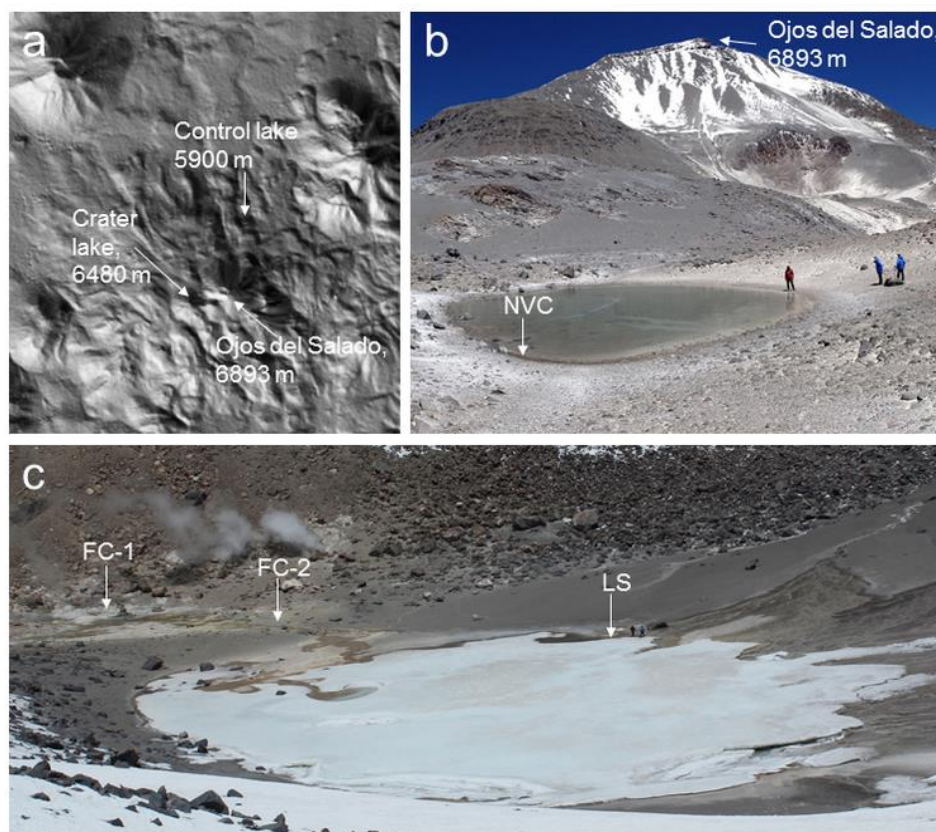
Az aerob kemoorganotróf heterotróf baktériumok számos képviselőjét kimutattuk. Legnagyobb relatív abundanciával a *Blastocatella*, a *Segetibacter*, az *Algoriphagus*, a *Fluviicola*, a *Flavobacterium*, a *Brevundimonas*, a *Sphingomonas*, a *Sphingorhabdus*, a *Massilia*, a *Chthoniobacter* és a *Luteolibacter* nemzetségekbe tartozó filotípusok kerültek elő. Közülük a *Massilia* (25,5%) és a *Flavobacterium* (36,0%) nemzetségek tagjai a vízmintában voltak a leggyakoribbak. Az üledék és a permafroszt mintákban egyedül a *Blastocatella* és a *Sphingomonas* nemzetségekbe sorolt filotípusok aránya haladta meg minden esetben az 1%-os relatív gyakoriságot. Az Ojos del Salado mintákból is azonosított baktériumtaxonok közül több tekinthető extremofilnak; egyesek (pl. a *Sphingorhabdus*, az *Abditibacterium*) oligokarbofilok, vagyis főként szerves anyagokban szegény környezetekben fordulnak elő (Jogler és mtsai 2013; Tahon és mtsai 2018), míg mások (pl. a *Blastocatella*) xerotrófok, ellenállnak a kiszáradásnak (Foesel és mtsai 2013). A tenyésztéssel is kimutatott *Massilia* nemzetség számos pszichrofil fajjal rendelkezik (pl. *M. rubra*, *M. aquatica*, *M. mucilaginoso*, *M. frigida*, *M. psychrophila*, *M. violaceinigra*), melyeket antarktiszi folyókból, tavakból és regolit mintákból (Holochová és mtsai 2020), valamint a kínai Ulugh Muztagh és a Tienshan gleccser jegéből (Guo és mtsai 2016; Wang és mtsai 2018) izoláltak és írtak le. Több olyan baktériumtaxon (pl. a *Hymenobacter*, a *Segetibacter*, a *Sphingomonas*, a *Blastocatella* nemzetségek, valamint a Chitinophagaceae vagy a Gemmatimonadaceae család) képviselőjét is igazoltuk az Ojos del Salado permafroszt olvadéktavának környezetéből, amit a szintén a Száraz-Andokban található Socompa és a Llullaillaco vulkánok környezetéből is kimutattak (Solon és mtsai 2018).

Kutatásunk összegzésként elmondhatjuk, hogy 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 baktériumközösségeket rejt magában. Ennek magyarázata lehet, hogy a különböző extremofil baktériumközösségek összetételére az erős UV sugárzás mellett jelentős szelekciós hatást gyakorolhatnak a permafroszt felső, aktív rétegre jellemző sorozatos fagyás-felolvadás és nedvesedés-kiszáradás ciklusok. A permafroszt olvadéktó vizéből és üledékéből kimutatott oligokarbofil, xerotoleráns és pszichrofil fajok dominanciája azt jelzi, hogy ezek az extremofil baktériumok alkalmazkodtak a Száraz-Andok szélsőséges környezeti körülményeihez. Emellett az NGS által feltárt, eddig tenyésztésbe még nem vont, „rejtőzködő” baktériumok jelentős részaránya arra utal, hogy a jövőbeni potenciális biotechnológiai alkalmazás szempontjából az extremofilek tenyésztésen alapuló elemzése is nélkülözhetetlen (Aszalós és mtsai 2020b).

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

A glacio-vulkanizmus a Földön napjainkban is zajló geológiai folyamat, mely a 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 (poli)extremofil mikrobiális kolonizáció számára rendelkezésre álló nichek széles fizikai-kémiai skálán változnak (Cousins & Crawford 2011). A jég és a vulkanizmus kölcsönhatása tehát 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 (5.4-9. ábra).

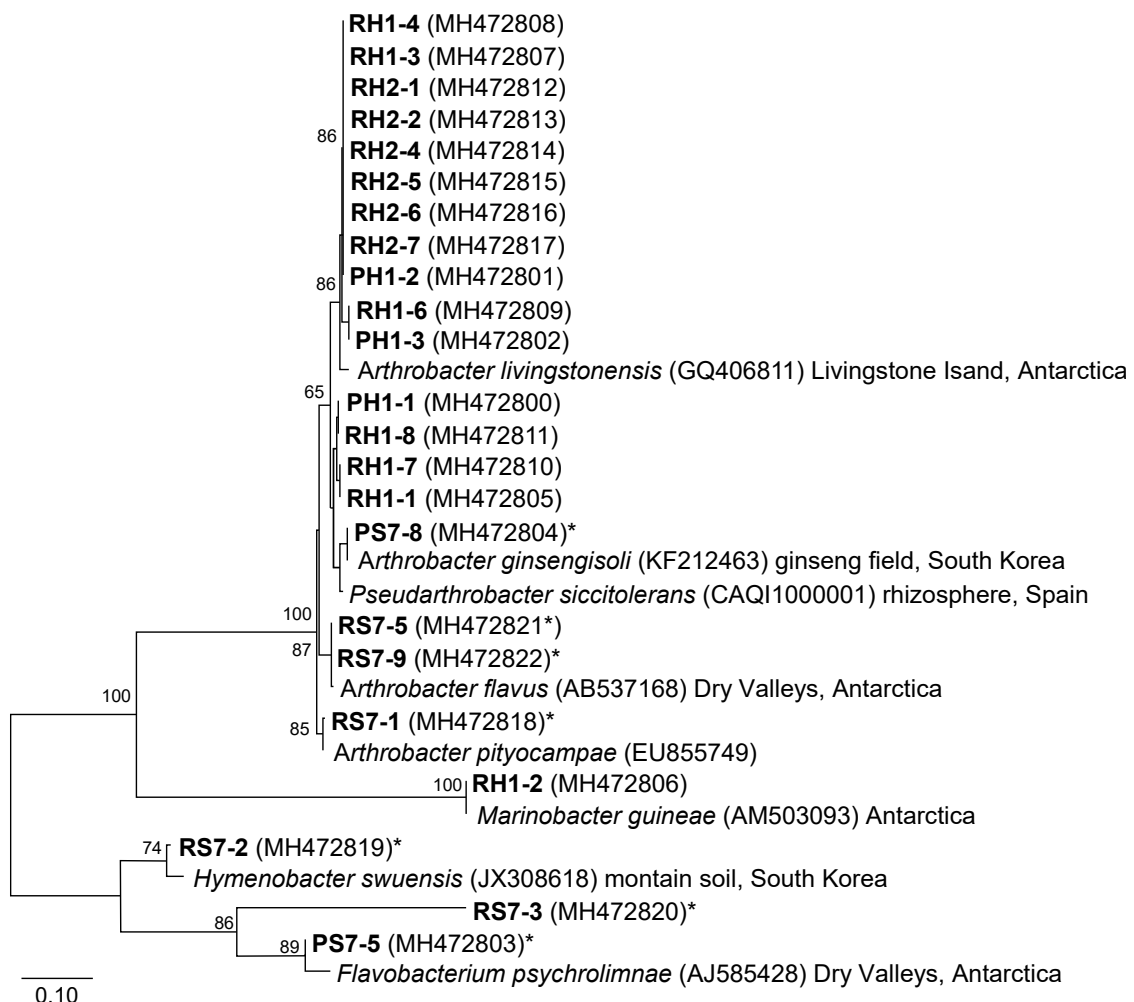


5.4-9. ábra A mintavételi helyek elhelyezkedése az Ojos del Salado (6893 m) vulkán környezetében (a); a kontroll nem vulkanikus terület (NVC), az 5900 m magasan fekvő permafroszt olvadéktó (b); a 6480 m tengerszint feletti magasságon fekvő krátertó (LS) és a vizét tápláló fumarolás patak (FC-1, FC-2) (Aszalós és mtsai 2020a)

Kutatásunk során ebben az Ojos del Salado (Szárak Andok) aktív vulkanizmusa által befolyásolt magashegységi krátertóban és a környezetében előforduló (poli)extremofil baktériumközösségek összetételének a megismerésére törekedtünk tenyésztés és Illumina MiSeq szekvenálási módszerek együttes alkalmazásával. A feltárt baktériumok taxonómiai diverzitásának ismeretében létrehozott modell segítségével a közösségalkotók lehetséges geomikrobiológiai szerepére következtettünk (Aszalós és mtsai 2020a).

A krátertóból és a fumarolából eredő patakból származó víz- (F-W, L-W) és üledékmintákat (FC-1, FC-2, LS) szintén a 2016-os Földgömb Atacama Klíma-monitorozó Expedíció során gyűjtötték (5.4-9. ábra). A fumarola minták (FC-1 és FC-2) hőmérséklete 40,8 °C és 34,7 °C, pH értéke 2,1, fajlagos elektromos vezetőképessége 1360 $\mu\text{S cm}^{-1}$ volt. A krátertóban (LS) 3,8 °C-os hőmérsékletet és pH 4,9 értéket mértek.

A tenyésztéses vizsgálatokhoz a permafroszt olvadéktó vizsgálatánál is alkalmazott tápanyagokban szegény R2A (DSMZ 830) és gazdag PYG (DSMZ 1140) médiumokat használtuk, az inkubáció 10 °C-on történt. A krátertóból és környezetéből származó mintákból összesen 16 izolátumot sikerült tiszta tenyészetben fenntartanunk és azonosítanunk (5.4-10. ábra).

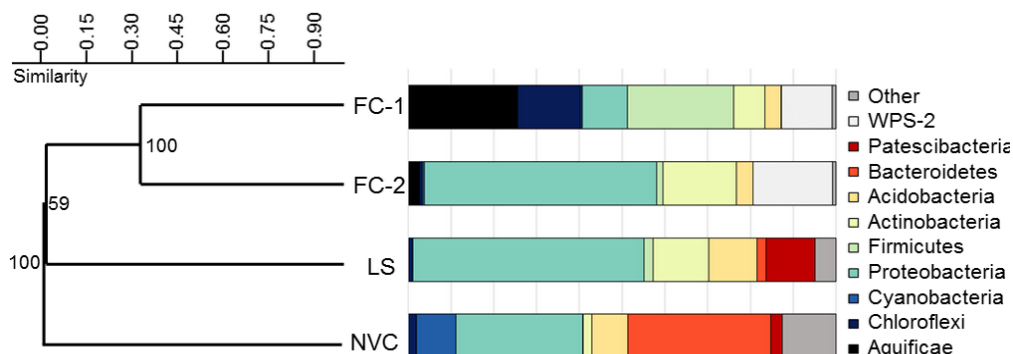


5.4-10. ábra Az Ojos del Salado krátertavából és a környezetéből származó (félkövérrel jelölt) baktériumtörzsek 16S rRNS gén szekvencia alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon baktériumfajok feltüntetésével (Aszalós és mtsai 2020a) (Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 10 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

A törzsek többsége az *Arthrobacter* (Actinobacteria) nemzetségbe tartozott, emellett a *Marinobacter* (Gammaproteobacteria) nemzetség egy képviselőjét azonosítottuk. Az *Arthrobacter* nemzetség számos faja hideg körülményekhez alkalmazkodott, pszichrofil baktérium. A fakultatív anaerob *A. livingstonensis* (Actinobacteria) típus törzsét az antarktisi Livingstone-sziget mohával borított talajából izolálták, és $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ között képes növekedni (Ganzert és mtsai 2011). Az *A. flavus* egy aerob pszichrofil baktérium, amelyet az antarktisi McMurdo Dry Valleys egyik tavának cianobaktérium bevonatából írtak le (Reddy és mtsai 2000). Az *A. ginsengisoli* (Siddiqi és mtsai 2014) típus törzséhez hasonlóan az *A. flavus* is $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti növekedésre képes. Az *A. pityocampae* egy mezofil baktérium, amelynek optimális életfolyamatai $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on zajlanak (Ínce és mtsai 2014). Habár vizsgálataink alapján egyik *Arthrobacter* izolátumunk sem volt obligát acidofil, de az *A. ginsengisoli* és az *A. livingstonensis* típus törzseihez hasonlóan izolátumaink is jól nőttek pH 4,0 értéken. A xerotoleráns *Pseudarthrobacter siccitolerans* típus törzse $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ és pH 5,0-9,0 között képes növekedni (SantaCruz-Calvo és mtsai 2013). A hideghez adaptálódott, mérsékelten halofil *Marinobacter guineae* típus törzsét az Antarktison található Déli-Shetland-szigetéről izolálták (Montes és mtsai 2008). Ennek a fajnak csak egy képviselőjét izoláltuk az Ojos del Salado legmagasabban fekvő krátertavából, de a Laguna Santa Rosa és Laguna Verde sós tavakban igen gyakori volt (Borsodi és mtsai 2022b).

A krátertóból és környezetéből származó üledékmintákból (LS, FC-1, FC-2), valamint a nem vulkanikus permafroszt olvadéktavi kontroll üledékmintából (NVC) nagy áteresztőképességű Illumina MiSeq 16S rRNS gén ampikon-szekvenálással nyert összesen 242 674 jó minőségű szekvencia a Good-féle lefedettségi érték alapján megfelelően reprezentálta a baktériumközösségeket (Függelék **II.1-4. táblázat**). A feltárt OTU számok és az inverz Simpson diverzitás indexek között a glacio-vulkanikus mintákban nem volt jelentős különbség, de ezek az értékek többszörösen alulmaradtak a permafroszt mintához képest, ami leegyszerűsödött közösség szerkezetre utal (Aszalós és mtsai 2020a).

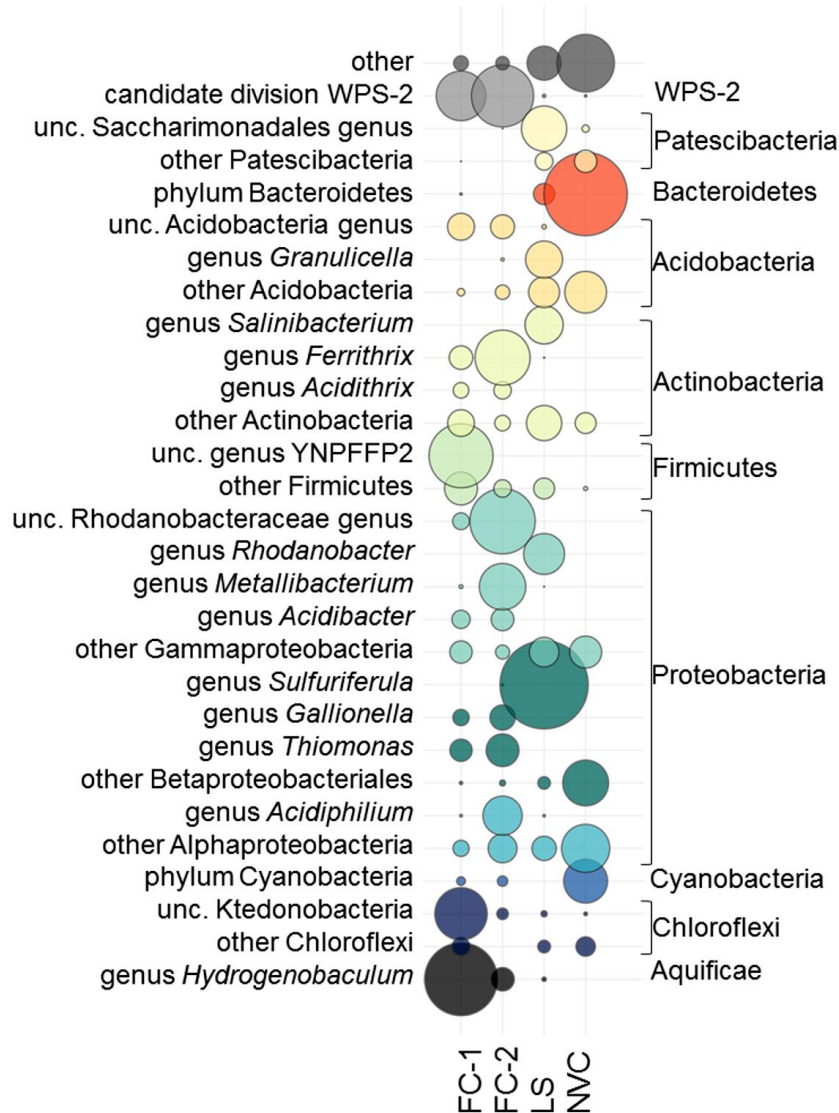
Az üledékmintákból 22 törzs és 6 kandidátus törzs képviselőit mutattuk ki, melyek közül a Proteobacteria (35%), a Bacteroidetes (12%), az Actinobacteria (8,7%), az Acidobacteria (6,7%), az Aquificae (6,1%), a Firmicutes (6,0%), és a Chloroflexi (4,1%), valamint a WPS-2 (7,1%) kandidátus leszármazási vonal képviselői voltak a leggyakoribbak, de arányuk az egyes mintákban jelentősen különbözött (**5.4-11. ábra**). A 2014-es expedícióhoz köthető, előzetes klónkönyvtár elemzéssel végzett vizsgálatunk során is törzs szinten eltérő közösségi összetételt tártunk fel a meleg és a hideg vizes üledékekből (Aszalós és mtsai 2016). Akkor a Proteobacteria, az Acidobacteria és az Actinobacteria törzsekbe tartozó klónok mellett a fumarolás patak üledékéből a Cyanobacteria és az Aquificae, míg a hidegvízi üledékből a Bacteroidetes és a TM7 kandidátus osztály képviselőit mutattuk ki.



5.4-11. ábra Az Ojos del Salado krátertavának és környezetének üledékéből származó 16S rRNS gén ampikon-szekvenciák százalékos megoszlása az azonosított törzsek között, valamint az OTU-k eloszlása alapján szerkesztett Bray–Curtis hasonlósági index alapú klaszteranalízis eredménye (Aszalós és mtsai 2020a)

(Üledékminta jelölések: FC-1, FC-2, fumarolás patak; LS, tavi üledék; NVC, permafroszt olvadéktó.)

Alacsonyabb rendszertani szinteken is élesen elkülönültek egymástól a vulkanikus eredetű meleg (FC-1, FC-2) és a tavi hideg vizes (LS) üledékmintákból azonosított taxonok: az *Acidithrix* és a *Ferrithrix* (Actinobacteria), az *Acidibacter* és a *Metallibacterium* (Gammaproteobacteria), a *Gallionella* és a *Thiomonas* (Betaproteobacteria), valamint az *Acidiphilium* (Alphaproteobacteria) nemzetségek csak a meleg vizes üledékmintákban voltak jelen. Érdekes megjegyezni, hogy azok a nemzetségek (*Acidithrix*, *Ferrithrix*, *Hydrogenobaculum*, *Thiomonas*, *Gallionella*, *Acidibacter*, uncultured WPS nemzetség), amelyek egynél több mintában legalább 1%-kal voltak jelen a közösségben, mindig előfordultak az FC-1 és az FC-2 mintában is (5.4-12. ábra).

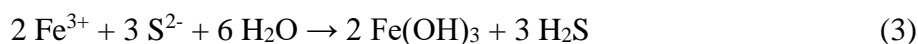
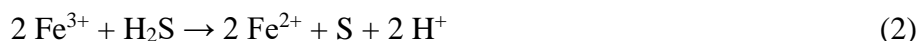
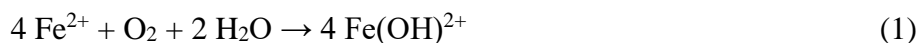


5.4-12. ábra Az Ojos del Salado krátertavának és környezetének üledékéből származó 16S rRNS gén amplikon-szekvenciák megoszlása a mintákban >4%gyakoriságú taxonok között (Aszalós és mtsai 2020a) (Üledékminta jelölések: FC-1, FC-2, fumarolás patak; LS, tavi üledék; NVC, permafroszt olvadéktó.)

A *Hydrogenobaculum* (Aquificae) nemzetség tagjai minden glacio-vulkanikus üledékmintában jelen voltak, de a szekvenciák száma a hőmérsékleti értékek növekedésével párhuzamosan csökkent (5.4-12. ábra). Ezzel ellentétben egyes Betaproteobacteriales és egyes Acidobacteria filotípusok aránya a fumaroláktól távolodva mutatott határozott növekedést. A Ktedonobacteriaceae család tagjait, melyek legnagyobb arányban a fumarolához legközelebbi (FC-1) mintából kerültek elő, az Antarktiszon található magashegyi vulkanikus jégbarlangokból (Tebo és mtsai 2015) és az Atacama-sivatagi Llullaillaco és Socompa vulkánok környezetéből is kimutatták (Schmidt és mtsai 2018). A jelen vizsgálatban azonosított leggyakoribb nemzetségek – a törzsszintű hasonlóságok ellenére – eltértek a

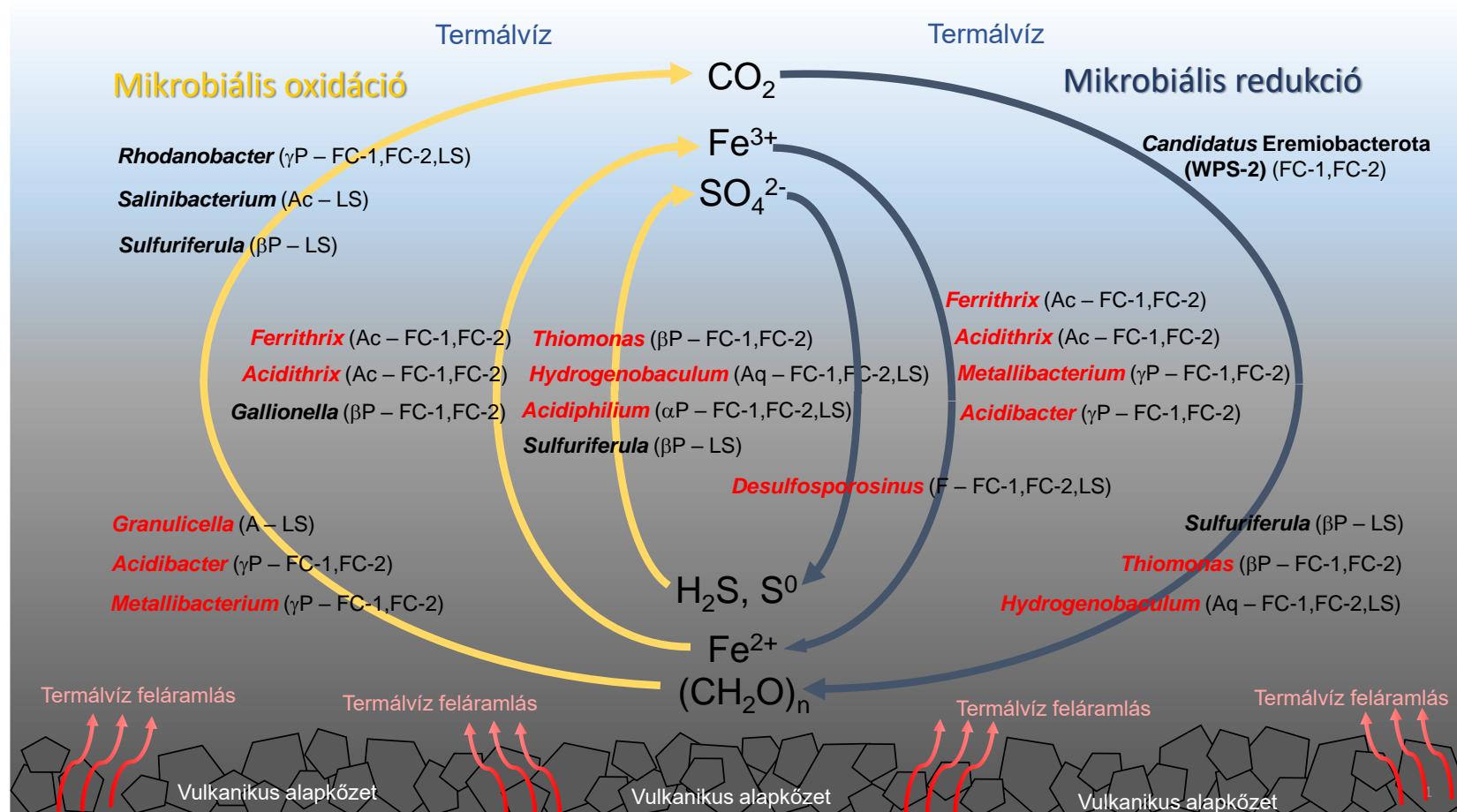
Száraz-Andok más vulkáni környezetéből (pl. Socompa, Lullailaco) kimutatottaktól (Costello és mtsai 2009; Solon és mtsai 2018). A Socompa vulkán fumarolás üledékében Costello és mtsai (2009) pl. a Verrucomicrobia törzs képviselőit találták a leggyakoribb közösségalkotónak. Ez a taxonómiai csoport azonban szinte teljesen hiányzott az Ojos del Salado fumarolás mintákból (FC-1 és FC-2), ugyanakkor az 5900 m tszf. magasságban lévő NVC-tó üledékében számottevő arányban fordult elő. A jelenség okaként a két vulkáni környezet eltérő fizikai-kémiai tulajdonságait jelölhetjük meg. Az Ojos del Salado legmagasabban fekvő kráterének fumaroláinál ugyanis alacsonyabb pH és magasabb hőmérsékleti értékeket mértünk, mint amiről korábban a Socompa vulkán esetében beszámoltak (Costello és mtsai 2009).

Az Ojos del Salado kráterkörnyezetéből feltárt glacio-vulkanikus extrémofil baktériumközösségek taxonómiai összetételére alapozva létrehoztunk egy geomikrobiológiai modellt, melyben a vas és a kén egymással szorosan összefüggő biogeokémiai ciklusainak működését feltételezzük (5.4-13. ábra). Ennek kémiai alapját az képezheti, hogy a redukált vas(II)-ionok oxidálószerrek hatására könnyen oxidálhatók (1). A keletkező vas(III)-ion savas közegben kénkiválás közben oxidálja a kénhidrogént (2). Egy bizonyos idő után a szulfidion bázisos reagensként vas(III)-hidroxidot választ le (3).



Ily módon a fumarolák környezetében a redox-viszonyoktól, a hőmérséklettől és a pH értékektől függő kémiai reakciók során kedvező feltételek alakulhatnak ki az aerob kemolitotróf autotróf és a kemoorganotróf heterotróf anyagcserét folytató baktériumok megtelepedéséhez.

A glacio-vulkanikus üledékmintákban domináns nemzetségek elsősorban a vas-ciklusban vehetnek részt (5.4-13. ábra). Az FC-1 és az FC-2 mintákból azonosított nemzetségekhez tartozó szekvenciák 7,9%-a és 38,5%-a a vas(III)-ion redukációjában, míg 8,0%-a és 20,7%-a a vas (II) oxidációjában játszhat szerepet. Számos nemzetség kizárólag az FC-1 és az FC-2 mintákban fordult elő, ami azt jelzi, hogy a fumarolák aktivitása nagy hatással volt a baktériumközösségek összetételére és metabolikus potenciáljára. Összehasonlításként, a hideg vizes tavi üledék és a kontroll permafroszt minta egyike sem tartalmazott olyan szekvenciát, amely a vasciklusban részt vevő baktériumokhoz tartozott volna.



5.4-13. 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; NVC, permafroszt olvadéktó üledékminta; A, Acidobacteria; Aq, Aquificae; Ac, Actinobacteria; F, Firmicutes; αP, Betaproteobacteria; βP, Betaproteobacteria; γP, Gammaproteobacteria.)

Az Ojos del Salado kráterkörnyezetéből kimutatott és azonosított szekvenciák többsége acidofil (opt. pH $\leq 4,0$) taxonokba, pl. az *Acidithrix* (Jones & Johnson 2015), a *Ferrithrix* (Johnson és mtsai 2009), a *Metallibacterium* (Ziegler és mtsai 2013), az *Acidibacter* (Falagán & Johnson 2014), az *Acidiphilium* (Hiraishi és mtsai 1998), a *Thiomonas* (Moreira & Amils 1997), a *Hydrogenobaculum* (Stohr és mtsai 2001) baktérium nemzetségekre nyert besorolást (5.4-13. ábra). Az *Acidiphilium* nemzetség tagjait az ultrasavas Laguna Calientéből (Poás Volcano, Costa Rica), egy geokémiai tulajdonságai alapján másik Mars analógnak tekintett környezetből, mint az egyetlen élő extremofil baktériumot mutatták ki (Hynek és mtsai 2018). Az acidofil baktériumok közül az *Acidithrix* és a *Ferrithrix* nemzetség képviselői képesek a vas(II) oxidálására és a vas(III) redukálására is. A *Metallibacterium* és az *Acidibacter* nemzetség képviselői ugyanakkor kizárólag a vas(III) redukációs folyamatokban vesznek részt. A kén-körforgalmi folyamatokban résztvevő baktériumok közül elsősorban a redukált kénvegyületek oxidációjára képes *Thiomonas*, *Hydrogenobaculum*, *Acidiphilium* és *Sulfuriferula* nemzetségek jelenlétét tudtuk igazolni a glacio-vulkanikus mintáinkból (5.4-13. ábra). Emellett néhány kevésbé gyakori kénoxidáló nemzetséget (pl. *Acidithiobacillus*, *Acidiferrobacter*, *Acidibacillus* és *Alicyclobacillus*) is kimutattunk. A szulfát és hidrogénion képződésével járó aerob kénoxidáló anyagcsere, a baktériumok mikrokörnyezetében a pH csökkenését eredményezi, ami szelektív előnyt jelenthet számukra ebben az extrém környezetben. Bár csekély relatív gyakorisággal, de azonosítottuk még a szulfátredukáló *Desulfosporosinus* nemzetség képviselőit (Sánchez-Andrea és mtsai 2015). Korábbi savas környezetben végzett vizsgálatok arra mutattak rá, hogy az SRB mennyiségét az oldott vas(III) koncentrációján keresztül leginkább a pH befolyásolhatja (Sánchez-Andrea és mtsai 2012). Az SRB jelenléte gyakoribb volt a kisebb oldott vas-koncentrációval és magasabb pH értékkel jellemezhető üledékmintákban, csakúgy, mint az Ojos del Salado mintákban, ahol az SRB aránya a krátertő üledékében volt a legnagyobb. Érdekes megjegyezni, hogy a lokális vas-ciklusban és a kénoxidációban résztvevő baktériumok többsége aerob heterotróf vagy mixotróf anyagcserét folytathat. Obligát autotróf anyagcserére csak néhány nemzetség, pl. a *Sulfuriferula*, a *Thiomonas* és a *Hydrogenobaculum* képviselője képes (5.4-13. ábra). A fumarolás üledékmintákban (FC-1 és FC-2) nagy relatív abundanciával jelenlévő WPS-2 leszármazási vonal (*Candidatus Eremiobacterota*) esetében metagenomi módszerekkel nemrégén egy új típusú bakterioklorofill alapú anoxikus fotoszintézis képességét igazolták (Ward és mtsai 2019). Ez alapján feltételezhetjük, hogy ezek a baktériumok is részt vehetnek a rendkívül zord körülmények között végbemenő autotróf produkcióban.

Kutatási eredményeink összegzésképpen kijelenthetjük, hogy az Ojos del Salado kráterkörnyezetének vizes élőhelyein a baktériumközösségek összetételét a magashegyi szélsőségek (pl. erős UV sugárzás, nagy szárazság, alacsony hőmérséklet) mellett az aktív vulkanizmus erősen savas kémhatású gőzkitörései (pl. a fumarolák) is nagymértékben befolyásolják. A savas és meleg vizű fumarolás patak üledékéből elsősorban oligotróf, széles hőmérsékleti tartományban növekedni képes, acidofil, a vas-ciklusában és a redukált kénvegyületek oxidációjában résztvevő baktériumokat mutattunk ki. Az Ojos del Salado aktív vulkanizmusának következményeként a kráterkörnyezetben kialakult savasság által fenntartott többszörösen extrém vizes élőhelyek olyan természetes Mars-analóg környezeteknek tekinthetők, melyek poliextremofil baktériumok megtelepedését teszik lehetővé (Aszalós és mtsai 2020a).

6. A LEGFONTOSABB ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK MEGÁLLAPÍTÁSAI

A szélsőséges környezeti paraméterekhez alkalmazkodott extremofil prokarióta közösségek taxonómiai és anyagcsere sokféleségét feltáró kutatásaink eredményeit négy témakörben tárgyaltam.

Az alföldi természetes szikes vizek és mesterséges alkalikus-sós vizes élőhelyek, valamint a kiskunsági szikes rizoszféra talajok alkalofil és halofil mikrobaközösségeinek feltárására irányuló kutatások hazánkban először tették lehetővé az extremofil mikrobaközösségek összetételében és aktivitásában a szélsőséges időjárási körülmények hatására bekövetkező változások elemzését. Sikeresen alkalmaztuk egymással párhuzamosan az eltérő szelektivitással és korlátokkal rendelkező tenyésztésen alapuló és molekuláris klónozásos technikákat, ami nagymértékben hozzájárult az addig ismeretlen mikrobiális diverzitás széleskörű megismeréséhez. A Böddi-szék vizében 2008-ban egy nyáreleji hosszabb napos, száraz, meleg és szélcsendes időszakot követően, a rendkívül sekély víztestben kettős rétegzettségű vízvirágzást figyeltünk meg: az *Oocystis submarina* zöldalga tömegprodukciónak visszavezethető, felső zöld színű és az anoxikus bíbor kén- és nemkén baktériumok tömeges elszaporodásával összefüggő, alsó bíborvörös színű rétegekkel. Taxonómiai eredményeink alapján a jelenség hátterében a szén- és a kénvegyületek nagy energetikai hatékonysággal működő mikrobiális átalakításán alapuló, egymással szorosan összefonódó, lokális biogeokémiai ciklusát vázoltuk fel. A nagy fényintenzitás és a magas hőmérséklet aerob körülmények között a zöldalgák mellett a cianobaktériumok, anoxikus körülmények között a fototróf bíbor kén- és nemkén baktériumok általi szervesanyag-termelést (széndioxid-fixációt) segíthette. A szerves szénvegyületek oxidálása változatos összetételű, interspecifikus kölcsönhatásokkal jellemezhető aerob, valamint anaerob fermentáló és szulfátredukáló extremofil baktériumközösségek közreműködésével valósulhatott meg. Utóbbiak jelentős szerepet játszhattak a redukált kénvegyületek előállításában is, melyeket az anoxikus fototrófok hasznosíthattak kénoxidációs folyamataikban. Ezáltal a tóvíz-üledék határretegben szulfurétum típusú anyagkörforgalom jelenlétét valószínűsítettük.

A kiskunsági szikes vizekben észlelthez hasonló, rózsaszínből bíbor színbe váltó vízvirágzást a nyári időszakokban évről évre meg lehetett figyelni egy, a délföldi régióban található és energetikai célra hasznosított, termásvíz időszakos befogadására szolgáló hűtő-tározótóban is. Bár az alkalikus és nagy sótartalmú tározótó vizére jellemző általános fizikai és kémiai tulajdonságok összemérhetőek voltak a kiskunsági szikes tavakéval, az előbbiben 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 vizében kialakult vízvirágzásért a fotoszintetizáló, planktonikus cianobaktériumok mellett az anoxikus fototróf bíbor kén- és nemkén baktériumok (többnyire nitrogén-fixációra is képes) fajai lehettek felelősek. 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 anyagcserejükkal számottevő mértékben hozzájárulhattak a tóvíz szerves szennyezőanyag tartalmának a tározási idő alatt bekövetkezett jelentős csökkenéséhez. Vizsgálati eredményeink megerősítették, hogy bár 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.

A különböző halofiton növénytársulásokkal jellemezhető kiskunsági szikes talajok extremofil mikrobaközösségeinek metabolikus potenciálját és taxonómiai sokféleségét a természetes kiszáradás-nedvesedés ciklusokkal összefüggésben vizsgáltuk. 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 törzsbe 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 szikes talajok mikrodomborzati léptékben nagymértékben különböző fajlagos elektromos vezetőképesség értékei és az emiatt kialakult eltérő vegetációtípusok nagyobb hatással voltak az extremofil baktériumközösségek összetételére és aktivitására, mint a rendszeresen ismétlődő kiszáradás-nedvesedési ciklusok.

A hazai szikes környezeteken végzett kutatásaink eredményeképpen több, a tudományra nézve új alkalofil és mérsékelt halofil baktériumfajt (*Pannonibacter phragmitetus* gen. nov., sp. nov., *Bacillus aurantiacus* sp. nov., *Bacillus alkalisediminis* sp. nov., *Bacillus kiskunsagensis* sp. nov., *Anaerobacillus alkaliphilus* sp. nov., *Cellulomonas phragmiteti* sp. nov., *Nesterenkonia pannonica* sp. nov., a *Nitrincola alkalilacustris* sp. nov.) is leírtunk a polifázikus taxonómiai elveknek megfelelően.

Második témakörben a hazai termálfürdőket ellátó, illetve energetikai célra hasznosított mélyfúrású kutakból kitermelt hévizekben és a csővezetékek falán kialakult biofilmben előforduló termofil/hipertermofil prokarióta közösségekkel kapcsolatos kutatási eredményeinket ismertettem. Elsőként mutattuk ki, hogy az egymástól távoli termálfürdők vízellátását biztosító, de hasonló (60-70 °C-os) hőmérsékletű és közel semleges kémhatású, kis szervesanyag-tartalmú, karsztos alapkőzetből kinyert hévizek baktériumközösségeit kemolitotróf autotróf, kénoxidáló anyagcsere folytató, Betaproteobacteria baktérium nemzetségekkel rokon filotípusok uralják. A biofilmet alkotó közösségekben a kemolitotróf kén- és hidrogénoxidálók mellett fakultatív vagy obligát anaerob heterotrófok sőt a vas(III) disszimilatőrikus redukciójára képes fajok képviselőit is azonosítottuk. Utóbbiak jelenlétét SEM felvételeken a kalcium-karbonát kristályok felületéhez kötődő, fonalas felszínükön vas-oxi-hidroxid ásványokkal jellemezhető, bakteriális eredetű üreges képződményekkel is igazoltuk. A víz és biofilm minták ősbaktérium közösségeiben ugyanakkor a Thaumarchaeota törzsbe sorolt, termofil, kemolito-autotróf ammóniaoxidáló fajokkal és kandidátus taxonokkal rokon filotípusok dominanciájára mutattunk rá. Kutatási eredményeink rávilágítottak arra is, hogy a délföldi mélyfúrású kutak hévizeinek korábban még sosem vizsgált hipertermofil prokarióta közössége nagymértékben különbözik a termálfürdőkétől, mindenekelőtt az előbbieken mért jóval magasabb (>90 °C-os) vízhőmérséklet, a nagy fajlagos elektromos vezetőképesség és a szerves anyag (fenol) tartalom miatt. A detektált filotípusokkal legközelebbi rokon fajok anyagcsere tulajdonságai alapján az energetikai célra hasznosított mélyfúrású kutak termálvizében az aromás szénhidrogének biotranszformációjához kapcsolódó fakultatív anaerob nitrátlégzők és obligát anaerob szulfát- és kénlégzők mellett metanotrófok, valamint acetotróf és hidrogenotróf metanogének jelenlétét bizonyítottuk, ezáltal egy lokális biológiai metán-ciklus működésére következtettünk.

A Budai-termálkarszt (BTK) jelenleg is aktív hipogén karsztosodási folyamatait meghatározó (poli)extremofil mikrobaközösségek összetételével, tolerancia viszonyaival és szerveződésével kapcsolatos kutatási eredményeinket hazai és nemzetközi szempontból is egyedülálló, összehangolt és átfogó (hidrogeológiai, geofizikai, geokémiai és mikrobiológiai) interdiszciplináris kutatási projekt keretében nyertük.

Elsőként derítettünk fényt a BTK központi és déli megcsapolódási területén rejtőzködő kőzetfelszíni mikrobaközösségek morfológiai változatosságára és a biofilmalkotó prokarióta taxonösszetétel mintavételi helyek szerinti különbségeire. Észleléseinket a feltörő forrásvizek különböző hidrogeológiai sajátágaival (főként a karsztos kőzetek repedéseiben áramló fluidumok eredetével) összefüggő, eltérő fizikai és kémiai tulajdonságokkal magyaráztuk.

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 piroszekvenálással egyaránt. A termálkarszt vizében ezzel szemben nagymértékben leegyszerűsödött, csaknem kizárólagosan Betaproteobacteria filotípusok által uralt közösségi összetételt mutattunk ki. Különböző erősségű gammasugárzással kombinált tenyésztéses 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 tenyészthető baktériumai között a Gram-pozitív, spóraképző vagy pigmenttermelő törzsek domináltak, amelyek ily módon is alkalmazkodtak a hipogén barlangok szélsőséges környezeti feltételeihez.

A forrásfeltérési pontokhoz kapcsolódó biofilm képződés folyamatának megismeréséhez a déli megcsapolódási terület egyik forrásbarlangjában egy *in situ* modellrendszert hoztunk létre, ahol több mint egy éven keresztül természetes körülmények között követtük nyomon a közösségszerveződés változásait. A megfigyelt 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 harmadik hetében elérte a maximumot, a kísérlet teljes időtartama alatt egyes taxonómiai csoportok relatív abundanciájában jelentős változásokat mutattunk ki, ami a közösségen belüli kapcsolatrendszerek folyamatos átszuktúrálódására utalt. Egy év elteltével a mesterséges alzaton kifejlődött biofilm közösségszerkezete nagyfokú hasonlóságot mutatott a barlangok kőzetfelszínén természetes körülmények között képződött biofilmekével és szintén jelentősen eltért a környező barlangvíz planktonikus baktériumközösségeinek összetételétől.

Hazánkban első alkalommal végeztünk regionális léptékű összehasonlító mikrobiológiai diverzitás vizsgálatokat a Dunántúli-középhegység karsztforrás feltérési végpontjain található hipogén barlangok mikrobaközösségeinek tanulmányozásával. A Hévízi-tó forrásbarlangjából és a Molnár János-barlangból származó különböző hőmérsékletű forrásvizek, kőzetfelszíni biofilmek és karbonátkiválások 16S rRNS gén alapú ampliton-szekvenáláson alapuló diverzitás vizsgálatával összesen 57 baktérium törzset vagy kandidátus divíziót azonosítottunk. Szinte valamennyi mintát a Proteobacteria és az Epsilonbacteraeota törzsek (korábban Epsilonproteobacteria osztály) különböző kénoxidáló baktériumfajaival rokon filotípusok dominálták. A kénoxidálók taxonómiai változatosságát a két élőhely (szublakusztis forrásbarlang vs. freatikus hipogén karsztbarlang) fizikai-kémiai tulajdonságaiban észlelt különbségekkel hoztuk összefüggésbe. A Hévízi-tó forrásbarlangjából emellett még oxigéntermelő fotoautotróf és aerob kemoheterotróf baktériumok, míg a Molnár János-barlangból ammónia- és nitritoxidáló baktériumok jelenlétét is kimutattuk.

Annak ellenére, hogy a BTK biofilmjeinek felépítésében résztvevő prokarióta OTU-k jelentős részét leírt fajok hiányában nem tudtuk identifikálni, az általunk kimutatott filotípusokkal legközelebbi rokonságban lévő termofil, anaerob szulfát-, nitrát-, vas(III)-redukáló kemoorganotróf fajok, valamint a kén-, ammónia-, és nitritoxidáló kemolitotróf fajok ismert anyagcsere tulajdonságai alapján sikerült körvonaloznunk egy a nitrogén-, a kén- és a vas biogeokémiai ciklusát átfogó, interspecifikus kooperációkon alapuló anyagcsere-hálózatot.

A BTK területén végzett kutatásaink eredményeképpen két, a tudományra nézve új sugárrezisztens baktériumfajt írtunk le *Deinococcus budaensis* sp. nov. és *Deinococcus fonticola* sp. nov. néven, a polifázikus taxonómiai elvek szerint.

A dél-amerikai Száraz-Andokban található Ojos del Salado vulkán környezetének vizes élőhelyein előforduló és a többszörösen szélsőséges környezeti feltételekhez alkalmazkodott (poli)extremofil prokarióta közösségeket a Magyar Száraz-Andok Kutatási Programhoz csatlakozva elemeztük.

Felfedtük, hogy a Puna de Atacama régióban található magashegységi sekély sós tavak bentikus élőhelyeit változatos taxonómiai összetételű baktériumközösségek jellemzik, melyek a nagy sókoncentráció mellett képesek voltak alkalmazkodni a térségre jellemző erős UV sugárzáshoz és nagy napi hőingadozáshoz is. Tenyésztéssel és 16S rRNS gén alapú piroszekvenálással egyaránt az elsősorban a Proteobacteria és a Bacteroidetes törzsekbe tartozó halofil és pszichrotoleráns fajok képviselőinek domináns jelenlétét igazoltuk. Az alacsonyabb taxonómiai szintekre jellemző, mintavételi helyek és mintatípusok szerinti nagyfokú változatosság hátterében az extrém környezeti tényezők szelekciós hatásának mikrokörnyezeti szintig érvényesülő eltéréseit tapasztaltuk.

Lehetőségünk nyílt a világ feltehetően legmagasabban (5900 m tszf.) fekvő permafroszt olvadéktavából származó víz és üledékminták poliextremofil baktériumközösségeinek a vizsgálatára is. 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 magashegységi vagy poláris glaciális környezetekből írtak le. A 16S rRNS gén alapú Illumina MiSeq ampliton-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.

Kutatásaink legextrémebb területét kétségkívül a glacio-vulkanikus hatásokat egyesítő, az Ojos del Salado vulkán csaknem 6500 m tszf. magasságban fekvő kráter tava és fumarolák által befolyásolt környezete jelentette. A különböző vizes környezetből gyűjtött üledékmintákból szinte kizárólag csak az *Arthrobacter* és a *Pseudarthrobacter* (Actinobacteria) nemzetség pszichrofil és xerotoleráns fajainak a képviselőit sikerült tenyésztésbe vonni. A baktériumközösségek 16S rRNS gén alapú ampliton-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 szekvenancia-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. 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.

Az extremofil mikroorganizmusok taxonómiai és anyagcsere diverzitásával kapcsolatban végzett eddigi kutatásaink eredményei alapján általános következtetésként 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 ugyanakkor még 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 szempontjából is.

7. KUTATÁSAINK JELENTŐSÉGE, KITEKINTÉS

Az utóbbi évtizedek extremofilekkel kapcsolatos kutatási eredményei alapján megváltoztatták az élővilág sokféleségével kapcsolatos korábbi ismereteinket. Ez az élet mindhárom doménjére igaz, de különösen az archaeákra, melyek esetében az extrém környezetek biodiverzitásának vizsgálata számos új filogenetikai leszármazási útvonal képviselőjének a felfedezését eredményezte. Az extremofilek és poliextremofilek szélsőséges környezeti feltételekhez történő alkalmazkodásának tanulmányozása az élet keletkezésével összefüggő evolúciós folyamatokat is új megvilágításba helyezte, amint arra az élet fájának tövében csoportosuló hipertermofilek példája is rávilágít. Az extremofilekkel összefüggő kutatások eredményei azonban nemcsak az „élet fájának” szerkezetét változtatták/változtatják meg, hanem folyamatosan kiterjesztik a földi élet ismert határait is. Az extremofilek és poliextremofilek vizsgálata ezért az asztrobiológiai kutatások szempontjából is kulcsfontosságú, hiszen éppen ezeknek a különleges sejtszerkezeti és anyagcsere-képességekkel rendelkező „modell szervezeteknek” a megismerése vezethet el bennünket a világegyetem más részein, pl. Naprendszerünk más bolygóin vagy azok holdjain előforduló lehetséges életformák felderítéséhez.

Az extremofilekkel foglalkozó eddigi tanulmányok – beleértve az értekezésben bemutatott saját kutatásaink eredményeit is, – azt valószínűsítik, hogy az extrém környezetekben élő mikroorganizmusok közösségeinek összetételét a kérdéses élőhelyre leginkább jellemző környezeti tényező(k) extremitása határozza meg. Általánosságban elmondható, hogy a környezeti feltételek szélsőségességének fokozódásával a mikrobiális diverzitás csökken, és a legzordabb körülmények között általában néhány, tenyésztett képviselő(k) hiányában többségében még ismeretlen taxon jelenléte meghatározó. Fontos ugyanakkor szem előtt tartanunk azt is, hogy a dominánsként megjelölt taxonok mellett kis abundanciával előforduló, ritka taxonok is lényeges funkciót tölthetnek be az extremofil közösségekben, sőt bizonyos környezeti feltételek hatására az utóbbiak jelentős ökológiai előnyökre tehetnek szert. Ezek a környezeti extremitás(ok) miatt nagyrészt leegyszerűsödött mikrobiális konzorciumok, mint „természetes modell rendszerek” alkalmasak lehetnek a nem extrém ökoszisztémák jellemzőinek a megismerésére is. Ily módon az extrém közösségekben zajló mikrobiális folyamatokról és kölcsönhatásokról szerzett ismereteink olyan általános érvényű felismerésekhez vezethetnek, melyek alapot szolgáltathatnak a komplex mikrobiális rendszerek szerveződésének és működésének megértéséhez is.

Meg kell azonban jegyeznünk, hogy az utóbbi évek egyre intenzívebbé váló kutatásai ellenére az extrém élőhelyek mikrobiális diverzitását meghatározó ökológiai és evolúciós folyamatok nagyrészt még ma is ismeretlenek. Ennek hátterében több okot is felsorakoztathatunk. Egyik ilyen tényező pl. a különleges környezetek (pl. vulkanikus hévforrások, mélytengerek, barlangok, magas hegységek) rendkívül nehéz megközelíthetősége, az aszeptikus mintavételek, a megfelelő mintatárolás és mintaelőkészítés biztosításának nehézségei. A szélsőséges környezetek mikrobiális ökológiai kutatásainak többsége emiatt gyakran egyfajta „pillanatfelvételnél” tekinthető, mely nélkülözi a mintavételi helyek térbeli heterogenitásából és időbeni változékonyságából fakadó közösségszerkezeti változások dinamikájának vizsgálatát. Másik okként említhető, hogy a kutatási eredmények átfogó értelmezését pl. a specifikus mikrobiális biogeográfiai mintázatokat meghatározó tényezők felismerését – még párhuzamos kutatások esetén is – nagymértékben megnehezíti a kutatások során alkalmazott vizsgálati módszerek sokfélesége és eltérő szelektivitása. Harmadrészt, nem elhanyagolható szempont az sem, hogy a szélsőséges környezetekben előforduló mikroorganizmusok metabolikus potenciáljára és a közösségi anyagcsere-folyamatokban betöltött szerepére ma még többnyire a már leírt, de még mindig elenyészően csekély számú extremofil faj ismert tulajdonságai alapján következtetünk. Ez azonban az extremofilek viszonylag nagyfokú filogenetikai (és anyagcsere) változatossága miatt nem

mindig teszi lehetővé a valós környezeti állapotot leképező modellek kidolgozását. Míg néhány prokarióta rend vagy nemzetség csak extremofileket tartalmaz, addig mások extremofileket és nem extremofileket egyaránt, sőt az azonos szélsőséges körülményekhez alkalmazkodott extremofilek is széles körben szétszóródhatnak az élet filogenetikai fáján. Vannak olyan, ugyanabba a családba tartozó mikroorganizmusok, amelyek nagyon különböző szélsőséges vagy mérsékelt szélsőséges körülményekhez alkalmazkodtak. Az amplikon-szekvenáláson alapuló módszerek önmagukban nem adhatnak pontos információt a közösségeket alkotó szervezetek anyagcsere útvonalairól és ökológiai tolerancia képességéről, mivel az egymással filogenetikailag közeli rokonságban álló szervezetek fiziológiai működése nagyon különböző lehet.

A napjainkban egyre szélesebb körben elterjedő, modern „omikai” vizsgáló módszerek – vagyis a vizsgálatba vont extrém környezeti mintában jelenlévő valamennyi sejt teljes genetikai állományának (meta-genomika), az egész közösségre kiterjedő génexpressziós szinteknek (meta-transzkriptomika), a fehérjék sokféleségének (meta-proteomika) és a metabolitok típusainak, mennyiségének (meta-metabolomika) meghatározása – révén keletkező nagy mennyiségű adat matematikai-statisztikai elemzésével azonban már átfogó elemzések elvégzésére kerülhet sor. Ezeknek a tenyésztéstől független, nagy áteresztőképességű módszertani megközelítéseknek az alkalmazásával képesek lehetünk olyan közösségi hálózati struktúrák megismerésére, amelyek magukba foglalják a trofikus kölcsönhatások, a közösségi dinamika és az anyagcsere-képességek elemeit. Mindazonáltal a genomikai és/vagy transzkriptomikai vizsgálatok kiegészítéseképpen elengedhetetlen a laboratóriumi körülmények között tenyésztésbe vont élő szervezetek fiziológiájának alapos ismerete, amit semmilyen más módszer nem helyettesít. Az új izolálási és tenyésztési eljárások („culturomics”) révén nyílik lehetőségünk az extremofilek és poliextremofilek sokoldalú anyagcsere-képességének a kiaknázására, pl. az általuk termelt bioaktív vegyületek vagy extremozimek tulajdonságainak vizsgálatára és gyakorlati (pl. ipari, biotechnológiai, gyógyászati célú) felhasználására is.

Ahhoz, hogy a jövőben nagy részletességgel feltárjuk a legváltozatosabb extrém élőhelyek mikrobiális diverzitását, megismerjük az extremofilek és poliextremofilek biogeokémiai ciklusokban betöltött szerepét, következtetni tudjunk az együtt élő populációk kölcsönhatásaira és meghatározzuk azokat a molekuláris mechanizmusokat, amelyek révén a mikroorganizmusok képesek alkalmazkodni a szélsőséges környezeti feltételekhez, rendszerbiológiai megközelítéssel kell élnünk, amelyben az új izolációs és tenyésztési módszereket a legmodernebb meta-omikai technikákkal és matematikai modellezéssel kombináljuk.

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Értekezésem elkészítésével szakmai pályafutásom eddigi legnagyobb mérföldkövéhez érkeztem, amiért nagyon sok embernek tartozom köszönettel.

A mikroorganizmusok különleges és egyedülálló világa iránti érdeklődésem felkeltéséért és a lehetőségért, hogy egyetemi tanulmányaim befejezése után az ELTE Mikrobiológiai Tanszékén kezdhettem el dolgozni, Dr. Szabó István Mihály professzor úrnak tartozom hálával. Köszönetet szeretnék mondani Dr. Márialigeti Károly professzor úrnak, korábbi tanszékvezetőmnek, hogy példát mutatott tudomány iránti elkötelezettségével, komplex látásmódjával és hihetetlen munkabíráásával. Köszönöm az elmúlt évek közös kutatásai során nyújtott útmutatásait, a terepi munkákban való részvételtől kezdve egészen az értekezés kritikus átolvasásáig. Jelenlegi tanszékvezetőmnek, Dr. Tóth Erikának elsősorban a taxonómiai munkákban való közreműködéséért vagyok hálás.

Köszönettel tartozom az ELTE Mikrobiológiai Tanszék jelenlegi és korábbi munkatársainak, mindenekelőtt Dr. Makk Juditnak a karsztosodási folyamatokban résztvevő mikrobaközösségek tanulmányozásában végzett közös munkáért, Dr. Felföldi Tamásnak, Dr. Szabó Attilának és Dr. Vajna Baláznak, az újgenerációs szekvenálásban és a bioinformatikai adatelemzésben nyújtott segítségéért, Dr. Jurecska Laurának a vízkémiai mérésekért.

Értekezésem nem jöhetett volna létre egykori és jelenlegi, egyetemi és PhD hallgatóim, Dr. Anda Dóra, Dr. Aszalós Júlia, Enyedi Nóra, Dr. Krett Gergely, Megyes Melinda, Dr. Micsinai Adrienn, Dr. Miseta Roland, Mucsi Márton, Reskóné Dr. Nagy Mária, Dr. Ruzsnyák Anna, Dr. Szabó Gitta, Dr. Szirányi Barbara és Dr. Vladár Péter témavezetésemmel végzett kutatómunkája nélkül. Fialatos lendületük és újdonságok iránti fogékonyságuk nagyban hozzájárult a közös munkák eredményességéhez, gondolatébresztő szakmai megbeszéléseink számomra is ösztönzőleg hatottak a kutatások során felmerülő újabb és újabb kérdések megválaszolásához.

A kiskunsági szikes vizek kutatása során a mintavételezésben és az algológiai vizsgálatokban való részvételért Dr. Somogyi Boglárkának és Dr. Vörös Lajosnak (ELKH Balatoni Limnológiai Kutatóintézet) tartozom köszönettel. Dr. Szili-Kovács Tibornak (ELKH ATK Talajtani Intézet) a kiskunsági szikes talajok extrémofil mikrobaközösségeinek vizsgálatában végzett munkáját köszönöm. A karsztosodási folyamatokban résztvevő poliextremofil mikrobaközösségek elektronmikroszkópos vizsgálatában nyújtott segítségért Dr. Ács Évának (ELKH ÖK Vízi Ökológiai Intézet), a vízkémiai mérésekért Dr. Dobosy Péternek (ELKH ÖK Vízi Ökológiai Intézet) vagyok hálás. Az új extrémofil taxonok polifázikus vizsgálatában végzett elektronmikroszkópos vizsgálatokért Dr. Bóka Károlynak (ELTE Növény szerzettani Tanszék) és Dr. Kovács Attilának (ELTE Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék), a kemotaxonómiai vizsgálatokért Dr. Peter Schumann-nak (Leibniz Institute DSMZ) szeretnék köszönetet mondani.

Kutatásaim körének szélesítését tette lehetővé, hogy interdiszciplináris projektek keretében gyümölcsöző együttműködést alakíthattam ki az ELTE Földrajz- és Földtudományi Intézet több kutatócsoportjával is.

A hipogén karsztosodási folyamatok megismerésére irányuló, összehangolt geomikrobiológiai vizsgálatok ötletének felvetéséért, majd az ezt követő több éves izgalmas és sikeres kutatási együttműködésért, valamint a jó hangulatú és érdekes szakmai beszélgetésekért, Mádlné Dr. Szőnyi Juditnak (ELTE Általános és Alkalmazott Földtani Tanszék) és munkatársainak, Dr. Eröss Anitának és Dr. Kovács-Bodor Petrának tartozom köszönettel.

kerine.borsodi.andrea_3_22

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Nagy Baláznak (ELTE Természetföldrajzi Tanszék), a Magyar Száraz-Andok Kutatási Program vezetőjének és munkatársainak azért, hogy több éve aktívan részt vehetünk egy távoli többszörösen extrém élőhely, a chilei Ojos del Salado vulkán környezetében bekövetkező változások feltárására irányuló hosszú távú monitoring vizsgálatokban.

Az elmúlt két évtized kutatásaiban résztvevő és név szerint nem említett valamennyi hazai és külföldi kollégámnak és hallgatómnak ezúton is szeretném megköszönni áldozatos munkáját.

Végül, de nem utolsósorban családomnak szeretnék köszönetet mondani azért a biztatásért és támogatásért, ami erőt adott munkámhoz. Nagyon hálás vagyok férjemnek, Andrásnak és gyermekeimnek, Dr. Kéri Annamáriának és Dr. Kéri Adrienn-nek a dolgoztatás kihívásain is átsegítő lelkesítésükért és önzetlen szeretetükért.

Kutatásainkat az NKFI OTKA T 038021, NK 101356 és K 108572 projektek támogatták.

9. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

9.1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények jegyzéke

9.1.1. 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.

9.1.2. Hazai termálfürdők és energetikai célú kutak hévízének 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.

9.1.3. 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-Szőnyi, 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-Szőnyi, 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-Szőnyi 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-Szőnyi 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-Szőnyi 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.

9.1.4. 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.

9.2. Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények jegyzéke

- Borsodi A.K.**, Farkas I., Kurdi P. 1998. Numerical analysis of planktonic and reed biofilm bacterial communities of Lake Fertő (Neusiedlersee, Hungary/Austria). *Water Research* 32: 1831-1840.
- Ács É., **Borsodi A.K.**, Makk J., Molnár P., Ruzsnyák A., Reskóné N.M., Kiss K.T. 2003. Algological and bacteriological investigations on reed periphyton in Lake Velencei, Hungary. *Hydrobiologia* 506-509: 549-557.
- Borsodi A.K.**, Vladár P., Cech G., Gedeon G., Beszteri B., Micsinai A., Reskóné N.M., Márialigeti K. 2003. Bacterial activities in the sediment of Lake Velencei, Hungary. *Hydrobiologia* 506-509: 721-728.
- Micsinai A., **Borsodi A.K.**, Csengeri V., Horváth A., Oravec O., Nikolausz M., Reskóné N.M., Márialigeti K. 2003. Rhizome-associated bacterial communities of healthy and declining reed stands in Lake Velencei, Hungary. *Hydrobiologia* 506-509: 707-713.
- Reskóné N.M., **Borsodi A.K.** 2003. Long-term investigations on the changes of the MPN values of bacterial communities participating in the sulphur cycle in Lake Velencei, Hungary. *Hydrobiologia* 506-509: 715-720.

- Borsodi A.K.**, Micsinai A., Ruszyák A., Vladár P., Kovács G., Tóth E.M., Márialigeti K. 2005. Diversity of alkaliphilic and alkalitolerant bacteria cultivated from decomposing reed rhizomes in a Hungarian soda lake. *Microbial Ecology* 50 (1): 9-18.
- Borsodi A.K.**, Makk J., Rusznyák A., Vajna B., Taba Gy., Márialigeti K. 2007. Phenotypic characterization and molecular taxonomic studies on *Bacillus* and related isolates from *Phragmites australis* periphyton. *Aquatic Botany* 86: 243-252.
- Borsodi A.K.**, Rusznyák A., Molnár P., Vladár P., Reskóné N.M., Tóth E.M., Sipos R., Márialigeti K. 2007. Metabolic activity and phylogenetic diversity of reed (*Phragmites australis*) periphyton bacterial communities in a Hungarian shallow soda lake. *Microbial Ecology* 53: 612-620.
- Rusznyák A., Vladár P., Molnár P., Reskóné N.M., Kiss G., Márialigeti K., **Borsodi A.K.** 2008. Cultivable bacterial composition and BIOLOG catabolic diversity of biofilm communities developed on *Phragmites australis*. *Aquatic Botany* 88: 211-218.
- Vladár P., Rusznyák A., Márialigeti K., **Borsodi A.K.** 2008. Diversity of sulfate-reducing bacteria inhabiting the rhizosphere of *Phragmites australis* in Lake Velencei (Hungary) revealed by a combined cultivation-based and molecular approach. *Microbial Ecology* 56: 64-75.
- Ács É., **Borsodi A.K.**, Kiss É., Kiss K.T., Szabó K.É., Vladár P., Várbíró G., Záray Gy. 2008. Comparative algological and bacteriological examinations on biofilms developed on different substrata in a shallow soda lake. *Aquatic Ecology* 42 (4): 521-531.
- Rusznyák A., Vladár P., Szabó G., Márialigeti K., **Borsodi A.K.** 2008. Phylogenetic and metabolic bacterial diversity of *Phragmites australis* periphyton communities in two Hungarian shallow soda lakes. *Extremophiles* 12: 763-773.
- Borsodi A.K.**, Kiss R.I., Cech G., Vajna B., Tóth E.M., Márialigeti K. 2010. Diversity and activity of cultivable aerobic planktonic bacteria of a saline lake located in Sovata, Romania. *Folia Microbiologica* 55 (5): 461-466.
- Borsodi A.K.**, Felföldi T., Máthé I., Bognár V., Knáb M., Krett G., Jurecska L., Tóth E.M., Márialigeti K. 2013. Phylogenetic diversity of bacterial and archaeal communities inhabiting the saline Lake Red located in Sovata, Romania. *Extremophiles* 17 (1): 87-98.
- Máthé I., **Borsodi A.K.**, Tóth E.M., Felföldi T., Jurecska L., Krett G., Kelemen Zs., Elekes E., Barkács K., Márialigeti K. 2014. Vertical physico-chemical gradients with distinct microbial communities in the hypersaline and heliothermal Lake Ursu (Sovata, Romania). *Extremophiles* 18: 501-514.
- Szirányi B., Krett G., Kosáros T., Janurik E., Pekár F., Márialigeti K., **Borsodi A.K.** 2017. Efficiency of temporary storage of geothermal waters in a lake system: Monitoring the changes of water quality and bacterial community structures. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 64 (4): 395-413.
- Korponai K., Szabó A., Somogyi B., Boros E., **Borsodi A.K.**, Jurecska L., Vörös L., Felföldi T. 2019. Dual bloom of green algae and purple bacteria in an extremely shallow soda pan. *Extremophiles* 23(4): 467-477.
- Megyes M., Móga J., Strat D., **Borsodi A.K.** 2021. Bacterial and archaeal taxonomic diversity of mud volcanoes (Beciú, Romania) via metagenomic approach. *Geomicrobiology Journal* 38(6): 532-539.

10. IRODALOMJEGYZÉK

- Abed RMM, Zein B, Al-Thukair A, de Beer D (2007) Phylogenetic diversity and activity of aerobic heterotrophic bacteria from a hypersaline oil-polluted microbial mat. *Syst Appl Microbiol* 30:319–330. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2006.09.001>
- Abrevaya XC, Anderson R, Arney G, et al (2016) The Astrobiology Primer v2.0. *Astrobiology* 16:561–653. <https://doi.org/10.1089/ast.2015.1460>
- Achal V, Pan X, Zhang D (2012) Bioremediation of strontium (Sr) contaminated aquifer quartz sand based on carbonate precipitation induced by Sr resistant *Halomonas* sp. *Chemosphere* 89:764–768. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.06.064>
- Ács É, Buczkó K, Lakatos G (1994) Changes in the mosaic-like water surfaces of the Lake Velence as reflected by reed periphyton studies. *Stud Bot Hungarica* 25:5–19
- Addesso R, Gonzalez-Pimentel JL, D'Angeli IM, et al (2021) Microbial community characterizing vermiculations from karst caves and its role in their formation. *Microb Ecol* 81:884–896. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01623-5>
- Agapov AA, Kulbachinskiy A V. (2015) Mechanisms of stress resistance and gene regulation in the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans*. *Biochem* 80:1201–1216. <https://doi.org/10.1134/S0006297915100016>
- Aguiar P, Beveridge TJ, Reysenbach A-L (2004) *Sulfurihydrogenibium azorense*, sp. nov., a thermophilic hydrogen-oxidizing microaerophile from terrestrial hot springs in the Azores. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:33–39. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.02790-0>
- Albarracín VH, Galván FS, Farías 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, Béteky L, Böcker T, et al (eds) (1968) Budapest hévizei (Thermal waters of Budapest). VITUKI, Budapest
- Allievi MC (2011) Metal biosorption by surface-layer proteins from *Bacillus* species. *J Microbiol Biotechnol* 21:147–153. <https://doi.org/10.4014/jmb.1009.09046>
- Altshuler I, Goordial J, Whyte LG (2017) Microbial Life in Permafrost. In: Margesin R (ed) *Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology*. Springer International Publishing, Cham, pp 153–179
- Amend JP, Shock EL (2001) Energetics of overall metabolic reactions of thermophilic and hyperthermophilic Archaea and Bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 25:175–243. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2001.tb00576.x>
- Anda D, Büki G, Krett G, et al (2014) Diversity and morphological structure of bacterial communities inhabiting the Diana-Hygieia Thermal Spring (Budapest, Hungary). *Acta Microbiol Immunol Hung* 61:329–346. <https://doi.org/10.1556/amicro.61.2014.3.7>
- 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>

- Anitori RP, Trott C, Saul DJ, et al (2002) A culture-independent survey of the bacterial community in a radon hot spring. *Astrobiology* 2:255–270. <https://doi.org/10.1089/153110702762027844>
- Asgaran E, Soudi MR, Borzooee F, Dabbagh R (2012) Radio-resistance in psychrotrophic *Kocuria* sp. ASB 107 isolated from Ab-e-Siah radioactive spring. *J Environ Radioact* 113:171–176. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2012.04.009>
- Asker D, Awad TS, Beppu T, Ueda K (2009) *Deinococcus aquiradiocola* sp. nov., isolated from a radioactive site in Japan. *Int J Syst Evol Microbiol* 59:144–149. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65762-0>
- Asker D, Awad TS, Beppu T, Ueda K (2008) *Deinococcus misasensis* and *Deinococcus roseus*, novel members of the genus *Deinococcus*, isolated from a radioactive site in Japan. *Syst Appl Microbiol* 31:43–49. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2007.10.002>
- Asker D, Awad TS, McLandsborough L, et al (2011) *Deinococcus depolymerans* sp. nov., a gamma- and UV-radiation-resistant bacterium, isolated from a naturally radioactive site. *Int J Syst Evol Microbiol* 61:1448–1453. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.013482-0>
- Asker D, Beppu T, Ueda K (2007) Unique diversity of carotenoid-producing bacteria isolated from Misasa, a radioactive site in Japan. *Appl Microbiol Biotechnol* 77:383–392. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1157-8>
- Aszalós JM, Krett G, Anda D, et al (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* 20:603–620. <https://doi.org/10.1007/s00792-016-0849-3>
- 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>
- Bai Y, Yang D, Wang J, et al (2006) Phylogenetic diversity of culturable bacteria from alpine permafrost in the Tianshan Mountains, northwestern China. *Res Microbiol* 157:741–751. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2006.03.006>
- Baker-Austin C, Dopson M (2007) Life in acid: pH homeostasis in acidophiles. *Trends Microbiol* 15:165–171. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.02.005>
- Baker W, van den Broek A, Camon E, et al (2000) The EMBL Nucleotide Sequence Database. *Nucleic Acids Res* 28:19–23. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.19>
- Bakermans C, Tsapin AI, Souza-Egipsy V, et al (2003) Reproduction and metabolism at -10°C of bacteria isolated from Siberian permafrost. *Environ Microbiol* 5:321–326. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00419.x>
- Balkwill DL, Kieft TL, Tsukuda T, et al (2004) Identification of iron-reducing *Thermus* strains as *Thermus scotoeductus*. *Extremophiles* 8:37–44. <https://doi.org/10.1007/s00792-003-0357-0>
- Bandyopadhyay S, Schumann P, Das SK (2013) *Pannonibacter indica* sp. nov., a highly arsenate-tolerant bacterium isolated from a hot spring in India. *Arch Microbiol* 195:1–8. <https://doi.org/10.1007/s00203-012-0840-z>
- Bárány Á, Szili-Kovács T, Krett G, et al (2014) Metabolic activity and genetic diversity of microbial communities inhabiting the rhizosphere of halophyton plants. *Acta Microbiol Immunol Hung* 61:347–361. <https://doi.org/10.1556/AMicr.61.2014.3.8>
- Barnard RL, Osborne CA, Firestone MK (2013) Responses of soil bacterial and fungal communities to extreme desiccation and rewetting. *ISME J* 7:2229–2241. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.104>
- Barton A, Spear JR, R. N, et al (2001) Microbial life in the underworld: Biogenicity in secondary mineral formations. *Geomicrobiol J* 18:359–368. <https://doi.org/10.1080/01490450152467840>

- Barton HA (2015) Starving artists: Bacterial oligotrophic heterotrophy in caves. In: Engel AS (ed) *Microbial Life of Cave Systems*. De Gruyter, Berlin, pp 79–104
- Barton HA, Northup DE (2007) Geomicrobiology in cave environments: past, current and future perspectives. *J Cave Karst Stud* 69:
- Bassil NM, Lloyd JR (2019) *Anaerobacillus isosaccharinicus* sp. nov., an alkaliphilic bacterium which degrades isosaccharinic acid. *Int J Syst Evol Microbiol* 69:3666–3671. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002721>
- Battista JR (1997) Against all odds: The survival strategies of *Deinococcus radiodurans*. *Annu Rev Microbiol* 51:203–224. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.51.1.203>
- Bérard A, Bouchet T, Sévenier G, et al (2011) Resilience of soil microbial communities impacted by severe drought and high temperature in the context of mediterranean heat waves. *Eur J Soil Biol* 47:333–342. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2011.08.004>
- Blank CE, Cady SL, Pace NR (2002) Microbial composition of near-boiling silica-depositing thermal springs throughout Yellowstone National Park. *Appl Environ Microbiol* 68:5123–5135. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.10.5123>
- Boden R, Hutt LP, Rae AW (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. w. *Int J Syst Evol Microbiol* 67:1191–1205. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001927>
- Bohus V, Tóth EM, Székely AJ, et al (2010) Microbiological investigation of an industrial ultra pure supply water plant using cultivation-based and cultivation-independent methods. *Water Res* 44:6124–6132. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.006>
- Boldareva EN, Akimov VN, Boychenko VA, et al (2008) *Rhodobaca barguzinensis* sp. nov., a new alkaliphilic purple nonsulfur bacterium isolated from a soda lake of the Barguzin Valley (Buryat Republic, Eastern Siberia). *Microbiology* 77:206–218. <https://doi.org/10.1134/S0026261708020148>
- Boldareva EN, Moskalenko AA, Makhneva ZK, et al (2009) *Rubribacterium polymorphum* gen. nov., sp. nov., a novel alkaliphilic nonsulfur purple bacterium from an Eastern Siberian soda lake. *Microbiology* 78:732–740. <https://doi.org/10.1134/S0026261709060101>
- Borhidi A (2007) Magyarország növénytársulásai (Plant communities of Hungary). Akadémiai Kiadó, Budapest
- Borics G, Ács É, Boda P, et al (2016) Water bodies in Hungary – an overview of their management and present state. *Hungarian J Hydrol* 96:57–67
- Boros E (1999) A magyarországi szikes tavak és vizek ökológiai értékelése. *Acta Biol Debrecina Suppl Oecologica Hungarica* 9:13–80
- Boros E (2013) Definitions, types and survey methods of 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 34–54
- Boros E, Vörös L (2010) A magyarországi szikes tavak sótartalma és ionösszetétele. *Acta Biol Debrecina Suppl Oecologica Hungarica* 22:37–52
- Borsodi A, Szabó G, Rusznyák A, et al (2010) A kiskunsági székek baktériumközösségeinek filogenetikai diverzitása. *Acta Biol Debrecina Supplementum Oecologica Hungarica* 22:87–98
- Borsodi A, Vladár P, Rusznyák A, et al (2005a) Tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független molekuláris biológiai vizsgálatok a Kiskunsági NP szikes tavainak baktériumközösségein. *Hidrológiai Közlöny* 85:23–25
- 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, Bárány Á, Krett G, et al (2015) Diversity and ecological tolerance of bacteria isolated from the rhizosphere of halophyton plants living nearby Kiskunság soda ponds, Hungary. *Acta Microbiol Immunol Hung* 62:183–197. <https://doi.org/10.1556/030.62.2015.2.8>
- 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/ijse.0.65325-0>
- Borsodi AK, Micsinai A, Kovács G, et al (2003a) *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/ijse.0.02356-0>
- Borsodi AK, Micsinai A, Rusznyák A, et al (2005b) Diversity of alkaliphilic and alkalitolerant bacteria cultivated from decomposing reed rhizomes in a Hungarian soda lake. *Microb Ecol* 50:9–18. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0063-1>
- 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/ijse.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>
- Borsodi AK, Vladár P, Cech G, et al (2003b) Bacterial activities in the sediment of Lake Velencei, Hungary. *Hydrobiologia* 506–509:721–728. <https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000008586.30395.f2>

- Brettar I, Christen R, Höfle MG (2004a) *Belliella baltica* gen. nov., sp. nov., a novel marine bacterium of the Cytophaga–Flavobacterium–Bacteroides group isolated from surface water of the central Baltic Sea. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:65–70. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02752-0>
- Brettar I, Christen R, Höfle MG (2004b) *Aquiflexum balticum* gen. nov., sp. nov., a novel marine bacterium of the Cytophaga–Flavobacterium–Bacteroides group isolated from surface water of the central Baltic Sea. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:2335–2341. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63255-0>
- Brettar I, Christen R, Höfle MG (2002) *Rheinheimera baltica* gen. nov., sp. nov., a blue-coloured bacterium isolated from the central Baltic Sea. *Int J Syst Evol Microbiol* 52:1851–1857. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-5-1851>
- Brock TD, Freeze H (1969) *Thermus aquaticus* gen. n. and sp. n., a nonsporulating extreme thermophile. *J Bacteriol* 98:289–297. <https://doi.org/10.1128/jb.98.1.289-297.1969>
- Brooks BW, Murray RGE (1981) Nomenclature for “*Micrococcus radiodurans*” and other radiation-resistant cocci: Deinococcaceae fam. nov. and *Deinococcus* gen. nov., Including Five Species. *Int J Syst Bacteriol* 31:353–360. <https://doi.org/10.1099/00207713-31-3-353>
- Bryantseva I, Gorlenko VM, Kompantseva EI, et al (1999a) *Thiorhodospira sibirica* gen. nov., sp. nov., a new alkaliphilic purple sulfur bacterium from a Siberian soda lake. *Int J Syst Bacteriol* 49:697–703. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-697>
- Bryantseva IA, Gorlenko VM, Kompantseva EI, et al (1999b) *Heliorestis daurensis*, gen. nov. sp. nov., an alkaliphilic rod-to-coiled-shaped phototrophic heliobacterium from a Siberian soda lake. *Science* (80-) 167–174
- 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>
- Bull AT, Idris H, Sanderson R, et al (2018) High altitude, hyper-arid soils of the Central-Andes harbor mega-diverse communities of actinobacteria. *Extremophiles* 22:47–57. <https://doi.org/10.1007/s00792-017-0976-5>
- 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
- Cai M, Wang L, Cai H, et al (2011) *Salinarimonas ramus* sp. nov. and *Tessaracoccus oleiagri* sp. nov., isolated from a crude oil-contaminated saline soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 61:1767–1775. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.025932-0>
- Campbell CD, Chapman SJ, Cameron CM, et al (2003) A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Appl Environ Microbiol* 69:3593–3599. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3593-3599.2003>
- Candiroglu B, Gungor ND (2017) Cave ecosystems: Microbiological view. *Eur J Biol* 76:36–42. <https://doi.org/10.5152/EurJBiol.2017.1707>
- Canfora L, Bacci G, Pinzari F, et al (2014) Salinity and bacterial diversity : To what extent does the concentration of salt affect the bacterial community in a saline soil? 9:e106662. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106662>
- Cañveras JC, Sanchez-Moral S, Soler V, Saiz-Jimenez C (2001) Microorganisms and microbially induced fabrics in cave walls. *Geomicrobiol J* 18:223–240. <https://doi.org/10.1080/01490450152467769>
- Cao C, Jiang J, Sun H, et al (2016) Carbonate mineral formation under the influence of limestone-colonizing Actinobacteria: Morphology and polymorphism. *Front Microbiol* 7:.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00366>

- Carrasco IJ, Márquez MC, Xue Y, et al (2007) *Bacillus chagannorensis* sp. nov., a moderate halophile from a soda lake in Inner Mongolia, China. *Int J Syst Evol Microbiol* 57:2084–2088. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65162-0>
- Cary SC, McDonald IR, Barrett JE, Cowan DA (2010) On the rocks: The microbiology of Antarctic Dry Valley soils. *Nat Rev Microbiol* 8:129–138. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2281>
- Casanova J, Bodéan F, Négrel P, Azaroual M (1999) Microbial control on the precipitation of modern ferrihydrite and carbonate deposits from the Cezallier hydrothermal springs (Massif Central, France). *Sediment Geol* 126:125–145. [https://doi.org/10.1016/S0037-0738\(99\)00036-6](https://doi.org/10.1016/S0037-0738(99)00036-6)
- 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
- Cerqueira VS, Hollenbach EB, Maboni F, et al (2011) Biodegradation potential of oily sludge by pure and mixed bacterial cultures. *Bioresour Technol* 102:11003–11010. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.074>
- Chai LY, Huang SH, Yang ZH, et al (2009) Hexavalent chromium reduction by *Pannonibacter phragmitetus* BB isolated from soil under chromium-containing slag heap. *J Environ Sci Heal Part A* 44:615–622. <https://doi.org/10.1080/10934520902784690>
- Chalia S, Baskar S, Minakshi P, et al (2017) Biomineralization abilities of *Cupriavidus* strain and *Bacillus subtilis* strains in vitro isolated from speleothems, Rani Cave, Chhattisgarh, India. *Geomicrobiol J* 34:737–752. <https://doi.org/10.1080/01490451.2016.1257663>
- Chan Y, Van Nostrand JD, Zhou J, et al (2013) Functional ecology of an Antarctic Dry Valley. *Proc Natl Acad Sci* 110:8990–8995. <https://doi.org/10.1073/pnas.1300643110>
- Chen S, Liu X, Dong X (2005) *Syntrophobacter sulfatireducens* sp. nov., a novel syntrophic, propionate-oxidizing bacterium isolated from UASB reactors. *Int J Syst Evol Microbiol* 55:1319–1324. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63565-0>
- Chen X, Yu L, Qiao G, Chen G-Q (2018) Reprogramming *Halomonas* for industrial production of chemicals. *J Ind Microbiol Biotechnol* 45:545–554. <https://doi.org/10.1007/s10295-018-2055-z>
- Chen Y-L, Deng Y, Ding J-Z, et al (2017) Distinct microbial communities in the active and permafrost layers on the Tibetan Plateau. *Mol Ecol* 26:6608–6620. <https://doi.org/10.1111/mec.14396>
- Chen Y, Wu L, Boden R, et al (2009) Life without light: Microbial diversity and evidence of sulfur- and ammonium-based chemolithotrophy in Movile Cave. *ISME J* 3:1093–1104. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.57>
- 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>
- Cheng L, Dai L, Li X, et al (2011) Isolation and characterization of *Methanothermobacter crinale* sp. nov., a novel hydrogenotrophic methanogen from the Shengli Oil Field. *Appl Environ Microbiol* 77:5212–5219. <https://doi.org/10.1128/AEM.00210-11>
- 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>
- Collins MD, Lawson PA, Labrenz M, et al (2002) *Nesterenkonia lacusekhoensis* sp. nov., isolated from hypersaline Ekho Lake, East Antarctica, and emended description of the genus *Nesterenkonia*. *Int J Syst Evol Microbiol* 52:1145–1150. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-4-1145>

- Confalonieri F, Sommer S (2011) Bacterial and archaeal resistance to ionizing radiation. *J Phys Conf Ser* 261:012005. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/261/1/012005>
- Connon SA, Lester ED, Shafaat HS, et al (2007) Bacterial diversity in hyperarid Atacama Desert soils. *J Geophys Res Biogeosciences* 112:n/a-n/a. <https://doi.org/10.1029/2006JG000311>
- Cooney M, Johnston W, Pohl S, Bidigare R (2006) Influence of photoperiod on pigmentation and metabolic efficiency of the marine aerobic anoxygenic photosynthetic bacterium *Erythrobacter longus* strain NJ3Y. *Aquat Microb Ecol* 43:303–309. <https://doi.org/10.3354/ame043303>
- Costa KC, Navarro JB, Shock EL, et al (2009) Microbiology and geochemistry of great boiling and mud hot springs in the United States Great Basin. *Extremophiles* 13:447–459. <https://doi.org/10.1007/s00792-009-0230-x>
- Costello EK, Halloy SRP, Reed SC, et al (2009) Fumarole-supported islands of biodiversity within a hyperarid, high-elevation landscape on Socompa Volcano, Puna de Atacama, Andes. *Appl Environ Microbiol* 75:735–747. <https://doi.org/10.1128/AEM.01469-08>
- 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>
- Cox MM, Battista JR (2005) *Deinococcus radiodurans* — the consummate survivor. *Nat Rev Microbiol* 3:882–892. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1264>
- Csondor K, Eröss A, Horváth Á, Szieberth D (2017) Radon as a natural tracer for underwater cave exploration. *J Environ Radioact* 173:51–57. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2016.10.020>
- Csotonyi JT, Swiderski J, Stackebrandt E, Yurkov V V. (2008) Novel halophilic aerobic anoxygenic phototrophs from a Canadian hypersaline spring system. *Extremophiles* 12:529–539. <https://doi.org/10.1007/s00792-008-0156-8>
- Cuezva S, Fernandez-Cortes A, Porca E, et al (2012) The biogeochemical role of Actinobacteria in Altamira Cave, Spain. *FEMS Microbiol Ecol* 81:281–290. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01391.x>
- D’Angeli IM., Waele J de., Ieva MG, et al (2017) Next-generation sequencing for microbial characterization of biovermiculations from a sulfuric acid cave in Apulia (Italy). *Proc 17th Int Congr Speleol* 377–380
- D’Angeli IM, Ghezzi D, Leuko S, et al (2019a) Geomicrobiology of a seawater-influenced active sulfuric acid cave
- D’Angeli IM, Parise M, Vattano M, et al (2019b) Sulfuric acid caves of Italy: A review. *Geomorphology* 333:105–122. <https://doi.org/10.1016/j.geomorph.2019.02.025>
- Daims H, Lebedeva E V., Pjevac P, et al (2015) Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature* 528:504–509. <https://doi.org/10.1038/nature16461>
- Daims H, Wagner M (2018) *Nitrospira*. *Trends Microbiol* 26:462–463. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.02.001>
- Daly MJ (2012) Death by protein damage in irradiated cells. *DNA Repair (Amst)* 11:12–21. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2011.10.024>
- Das R, Kazy SK (2014) Microbial diversity, community composition and metabolic potential in hydrocarbon contaminated oily sludge: Prospects for in situ bioremediation. *Environ Sci Pollut Res* 21:7369–7389. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2640-2>
- 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>
- de la Torre JR, Walker CB, Ingalls AE, et al (2008) Cultivation of a thermophilic ammonia oxidizing archaeon synthesizing crenarchaeol. *Environ Microbiol* 10:810–818. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01506.x>

- Deja-Sikora E, Gołębiewski M, Kalwasińska A, et al (2019) Comamonadaceae OTU as a remnant of an ancient microbial community in sulfidic waters. *Microb Ecol* 78:85–101. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1270-5>
- Demergasso C, Casamayor EO, Chong G, et al (2004) Distribution of prokaryotic genetic diversity in athalassohaline lakes of the Atacama Desert, Northern Chile. *FEMS Microbiol Ecol* 48:57–69. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2003.12.013>
- Demergasso C, Dorador C, Meneses D, et al (2010) Prokaryotic diversity pattern in high-altitude ecosystems of the Chilean Altiplano. *J Geophys Res Biogeosciences* 115:n/a-n/a. <https://doi.org/10.1029/2008JG000836>
- Demergasso C, Escudero L, Casamayor EO, et al (2008) Novelty and spatio-temporal heterogeneity in the bacterial diversity of hypersaline Lake Tebenquiche (Salar de Atacama). *Extremophiles* 12:491–504. <https://doi.org/10.1007/s00792-008-0153-y>
- 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>
- Dévai G, Nagy S, Wittner I, et al (2001) A vízi és a vizes élőhelyek sajátosságai és tipológiája. In: Böhm A, Szabó M (eds) *Vizes élőhelyek: a természeti és a társadalmi környezet kapcsolata. Tanulmányok Magyarország és az Európai Unió természetvédelméről*. ELTE-TTK & SZIE-KGI & KöM-TvH, Budapest, pp 11–74
- Devereux R, Kane MD, Winfrey J, Stahl DA (1992) Genus- and group-specific hybridization probes for determinative and environmental studies of sulfate-reducing bacteria. *Syst Appl Microbiol* 15:601–609. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80122-0](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80122-0)
- Díaz-Cárdenas C, Patel BKC, Baena S (2010) *Tistlia consotensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic, chemoheterotrophic, free-living, nitrogen-fixing alphaproteobacterium, isolated from a Colombian saline spring. *Int J Syst Evol Microbiol* 60:1437–1443. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.010926-0>
- Dimitriu PA, Pinkart HC, Peyton BM, Mormile MR (2008) Spatial and temporal patterns in the microbial diversity of a meromictic soda lake in Washington State. *Appl Environ Microbiol* 74:4877–4888. <https://doi.org/10.1128/AEM.00455-08>
- Dimitriu PA, Shukla SK, Conrath J, et al (2005) *Nitrincola lacinaponensis* gen. nov., sp. nov., a novel alkaliphilic bacterium isolated from an alkaline, saline lake. *Int J Syst Evol Microbiol* 55:2273–2278. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63647-0>
- Ding H, Zeng Q, Zhou L, et al (2017) Biochemical and structural insights into a novel thermostable β -1,3-galactosidase from *Marinomonas* sp. BSi20414. *Mar Drugs* 15:13. <https://doi.org/10.3390/md15010013>
- Dinka M, Ágoston-Szabó E, Szeglet P (2010) Comparison between biomass and C, N, P, S contents of vigorous and die-back reed stands of Lake Fertő/Neusiedler See. *Biologia (Bratisl)* 65:237–247. <https://doi.org/10.2478/s11756-010-0006-x>
- Dobinski W (2011) Permafrost. *Earth-Science Rev* 108:158–169. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2011.06.007>
- Dobosy P, Sávolgy Z, Óvári M, et al (2016) Microchemical characterization of biogeochemical samples collected from the Buda Thermal Karst System, Hungary. *Microchem J* 124:116–120. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.08.004>
- Dodsworth JA, Hungate BA, Hedlund BP (2011) Ammonia oxidation, denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in two US Great Basin hot springs with abundant ammonia-oxidizing archaea. *Environ Microbiol* 13:2371–2386. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02508.x>
- Dorador C, Meneses D, Urtuvia V, et al (2009) Diversity of Bacteroidetes in high-altitude saline evaporitic basins in northern Chile. *J Geophys Res Biogeosciences* 114:n/a-n/a. <https://doi.org/10.1029/2008JG000837>

- Dorador C, Vila I, Imhoff JF, Witzel K-P (2008) Cyanobacterial diversity in Salar de Huasco, a high altitude saline wetland in northern Chile: an example of geographical dispersion? *FEMS Microbiol Ecol* 64:419–432. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00483.x>
- 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>
- Dou G, Liu H, He W, Ma Y (2016) *Bacillus lindianensis* sp. nov., a novel alkaliphilic and moderately halotolerant bacterium isolated from saline and alkaline soils. *Antonie Van Leeuwenhoek* 109:149–158. <https://doi.org/10.1007/s10482-015-0616-y>
- Durve A, Naphade S, Bhot M, et al (2013) Quantitative evaluation of heavy metal bioaccumulation by microbes. *J Microbiol Biotechnol Res* 3:21–32
- 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
- Eder W, Huber R (2002) New isolates and physiological properties of the Aquificales and description of *Thermocrinis albus* sp. nov. *Extremophiles* 6:309–318. <https://doi.org/10.1007/s00792-001-0259-y>
- 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>
- Ehrich S, Behrens D, Lebedeva E, et al (1995) A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship. *Arch Microbiol* 164:16–23. <https://doi.org/10.1007/BF02568729>
- Eichler B, Pfennig N (1986) Characterization of a new platelet-forming purple sulfur bacterium, *Amoebobacter pedioformis* sp. nov. *Arch Microbiol* 146:295–300. <https://doi.org/10.1007/BF00403233>
- Eiler A, Bertilsson S (2004) Composition of freshwater bacterial communities associated with cyanobacterial blooms in four Swedish lakes. *Environ Microbiol* 6:1228–1243. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00657.x>
- Engel AS (2000) Microbially-enhanced weathering in subsurface habitats: Sulfur-oxidizing bacteria and the cave environment. *Proc Friends Karst Meet* 130–134
- Engel AS (2011) Karst Ecosystems. In: Reitner J., Thiel V (eds) *Encyclopedia of Geobiology. Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Springer, Dordrecht, pp 521–531
- Engel AS (2007) Observations on the biodiversity of sulfidic karst habitats. *J Cave Karst Stud* 69:187–206
- Engel AS, Meisinger DB, Porter ML, et al (2010) Linking phylogenetic and functional diversity to nutrient spiraling in microbial mats from Lower Kane Cave (USA). *ISME J* 4:98–110. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.91>
- Engel AS, Porter ML, Stern LA, et al (2004) Bacterial diversity and ecosystem function of filamentous microbial mats from aphotic (cave) sulfidic springs dominated by chemolithoautotrophic “Epsilonproteobacteria.” *FEMS Microbiol Ecol* 51:31–53. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.07.004>
- 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>
- Erguder TH, Boon N, Wittebolle L, et al (2009) Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea. *FEMS Microbiol Rev* 33:855–869. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00179.x>

- Erőss 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>
- Escalante G, Campos VL, Valenzuela C, et al (2009) Arsenic resistant bacteria isolated from arsenic contaminated river in the Atacama Desert (Chile). *Bull Environ Contam Toxicol* 83:657–661. <https://doi.org/10.1007/s00128-009-9868-4>
- 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
- Everroad RC, Otaki H, Matsuura K, Haruta S (2012) Diversification of bacterial community composition along a temperature gradient at a thermal spring. *Microbes Environ* 27:374–381. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME11350>
- Falagán C, Johnson DB (2014) *Acidibacter ferrireducens* gen. nov., sp. nov.: an acidophilic ferric iron-reducing gammaproteobacterium. *Extremophiles* 18:1067–1073. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0684-3>
- Fariás ME, Contreras M, Rasuk MC, et al (2014) Characterization of bacterial diversity associated with microbial mats, gypsum evaporites and carbonate microbialites in thalassic wetlands: Tebenquiche and La Brava, Salar de Atacama, Chile. *Extremophiles* 18:311–329. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0617-6>
- Fariás ME, Poiré DG, Arrouy MJ, Albarracín VH (2011) Modern stromatolite ecosystems at alkaline and hypersaline high-altitude lakes in the Argentinean Puna. pp 427–441
- Fariás ME, Rascovan N, Toneatti DM, et al (2013) The discovery of stromatolites developing at 3570 m above sea level in a high-altitude volcanic Lake Socompa, Argentinean Andes. *PLoS One* 8:e53497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053497>
- Fariás ME, Rasuk MC, Gallagher KL, et al (2017) Prokaryotic diversity and biogeochemical characteristics of benthic microbial ecosystems at La Brava, a hypersaline lake at Salar de Atacama, Chile. *PLoS One* 12:e0186867. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186867>
- Farkas G, Gazsó LG, Diósi G (2002) Radiosensitivity of subterranean bacteria in the Hungarian upper permian siltstone formation. *J Environ Radioact* 61:233–239. [https://doi.org/10.1016/S0265-931X\(01\)00130-8](https://doi.org/10.1016/S0265-931X(01)00130-8)
- Felföldi T (2020) Microbial communities of soda lakes and pans in the Carpathian Basin: a review. *Biol Futur* 71:393–404. <https://doi.org/10.1007/s42977-020-00034-4>
- Felföldi T, Somogyi B, Márialigeti K, Vörös L (2011) Notes on the biogeography of non-marine planktonic picocyanobacteria: re-evaluating novelty. *J Plankton Res* 33:1622–1626. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbr051>
- Felföldi T, Somogyi B, Márialigeti K, Vörös L (2009) Characterization of photoautotrophic picoplankton assemblages in turbid, alkaline lakes of the Carpathian Basin (Central Europe). *J Limnol* 68:385–395. <https://doi.org/10.3274/JL09-68-2-21>
- Fernandez AB, Rasuk MC, Visscher PT, et al (2016) Microbial diversity in sediment ecosystems (evaporites domes, microbial mats, and crusts) of hypersaline Laguna Tebenquiche, Salar de Atacama, Chile. *Front Microbiol* 7:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01284>
- Ferreira AC, Nobre MF, Rainey FA, et al (1997) *Deinococcus geothermalis* sp. nov. and *Deinococcus murrayi* sp. nov., two extremely radiation-resistant and slightly thermophilic species from hot springs. *Int J Syst Bacteriol* 47:939–947. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-4-939>
- Figueroa A, Contreras M, Saavedra B (2018) Wetlands of Chile: Biodiversity, endemism, and conservation challenges. In: Finlayson C, Milton G, Prentice R, Davidson N (eds) *The Wetland Book*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 823–838
- Foesel BU, Rohde M, Overmann J (2013) *Blastocatella fastidiosa* gen. nov., sp. nov., isolated from

- semiarid savanna soil – The first described species of Acidobacteria subdivision 4. *Syst Appl Microbiol* 36:82–89. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2012.11.002>
- Fourati-Ben Fguira L, Fotso S, Ben Ameer-Mehdi R, et al (2005) Purification and structure elucidation of antifungal and antibacterial activities of newly isolated *Streptomyces* sp. strain US80. *Res Microbiol* 156:341–347. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2004.10.006>
- Fritze D (1996) *Bacillus haloalkaliphilus* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 46:98–101. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-1-98>
- Fuerst JA, Sagulenko E (2011) Beyond the bacterium: Planctomycetes challenge our concepts of microbial structure and function. *Nat Rev Microbiol* 9:403–413. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2578>
- Gabani P, Singh O V. (2013) Radiation-resistant extremophiles and their potential in biotechnology and therapeutics. *Appl Microbiol Biotechnol* 97:993–1004. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4642-7>
- Ganzert L, Bajerski F, Mangelsdorf K, et al (2011) *Arthrobacter livingstonensis* sp. nov. and *Arthrobacter cryotolerans* sp. nov., salt-tolerant and psychrotolerant species from Antarctic soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 61:979–984. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.021022-0>
- Garnova ES, Zhilina TN, Tourova TP, Lysenko AM (2003) *Anoxynatronum sibiricum* gen.nov., sp.nov. alkaliphilic saccharolytic anaerobe from cellulolytic community of Nizhnee Beloe (Transbaikal region). *Extremophiles* 7:213–220. <https://doi.org/10.1007/s00792-002-0312-5>
- 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-Szónyi J, Erőss 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>
- Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR (2016) Coming of age: Ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet* 17:333–351. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.49>
- Goorissen HP, Boschker HTS, Stams AJM, Hansen TA (2003) Isolation of thermophilic *Desulfotomaculum* strains with methanol and sulfite from solfataric mud pools, and characterization of *Desulfotomaculum solfataricum* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 53:1223–1229. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02476-0>
- Grant WD, Mwatha WE, Jones BE (1990) Alkaliphiles: Ecology, diversity and applications. *FEMS Microbiol Lett* 75:255–269. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1990.tb04099.x>
- Gray CJ, Engel AS (2013) Microbial diversity and impact on carbonate geochemistry across a changing geochemical gradient in a karst aquifer. *ISME J* 7:325–337. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.105>
- Green MR, Sambrook J (2012) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 4th edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York
- Grégoire P, Bohli M, Cayol J-L, et al (2011) *Caldilinea tarbellica* sp. nov., a filamentous, thermophilic, anaerobic bacterium isolated from a deep hot aquifer in the Aquitaine Basin. *Int J Syst Evol Microbiol* 61:1436–1441. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.025676-0>
- Groth I, Vettermann R, Schuetze B, et al (1999) Actinomycetes in karstic caves of northern Spain (Altamira and Tito Bustillo). *J Microbiol Methods* 36:115–122. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(99\)00016-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(99)00016-0)
- Guo B, Liu Y, Gu Z, et al (2016) *Massilia psychrophila* sp. nov., isolated from an ice core. *Int J Syst Evol Microbiol* 66:4088–4093. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001315>
- 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>

- Gupta RS, Patel S, Saini N, Chen S (2020) Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel Bacillaceae genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting it o. *Int J Syst Evol Microbiol* 70:5753–5798. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004475>
- Hammer Ø, Harper DATDA, Ryan PDPD (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontol Electron* 4:1–9
- Handley KM, Lloyd JR (2013) Biogeochemical implications of the ubiquitous colonization of marine habitats and redox gradients by *Marinobacter* species. *Front Microbiol* 4:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00136>
- Harris JK, Kelley ST, Pace NR (2004) New perspective on uncultured bacterial phylogenetic division OP11. *Appl Environ Microbiol* 70:845–849. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.2.845-849.2004>
- 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>
- Haselkorn R, Lapidus A, Kogan Y, et al (2001) The *Rhodobacter capsulatus* genome. *Photosynth Res* 43–52. <https://doi.org/https://doi.org/10.1023/A:1013883807771>
- Hashimoto H, Yokoyama S, Asaoka H, et al (2007) Characteristics of hollow microtubes consisting of amorphous iron oxide nanoparticles produced by iron oxidizing bacteria, *Leptothrix ochracea*. *J Magn Magn Mater* 310:2405–2407. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2006.10.793>
- Hensel R, Matussek K, Michalke K, et al (1997) *Sulfophobococcus zilligii* gen. nov., spec. nov. a novel hyperthermophilic archaeum isolated from hot alkaline springs of Iceland. *Syst Appl Microbiol* 20:102–110. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(97\)80054-9](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(97)80054-9)
- Hiraishi A, Nagashima KVP, Matsuura K, et al (1998) Phylogeny and photosynthetic features of *Thiobacillus acidophilus* and related acidophilic bacteria: Its transfer to the genus *Acidiphilium* as *Acidiphilium acidophilum* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 48:1389–1398. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1389>
- Hiraishi A, Ueda Y (1995) Isolation and characterization of *Rhodovulum strictum* sp. nov. and some other purple nonsulfur bacteria from colored blooms in tidal and seawater pools. *Int J Syst Bacteriol* 45:319–326. <https://doi.org/10.1099/00207713-45-2-319>
- Hirayama H, Takai K, Inagaki F, et al (2005) Bacterial community shift along a subsurface geothermal water stream in a Japanese gold mine. *Extremophiles* 9:169–184. <https://doi.org/10.1007/s00792-005-0433-8>
- Holmes AJ, Tujula NA, Holley M, et al (2001) Phylogenetic structure of unusual aquatic microbial formations in Nullarbor caves, Australia. *Environ Microbiol* 3:256–264. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2001.00187.x>
- Holmes B, Lewis R, Trevett A (1992) Septicaemia due to *Achromobacter* group B: A report of two cases. *Med Microbiol Lett* 1:17–184
- Holmes B, Segers P, Coenye T, et al (2006) *Pannonibacter phragmitetus*, described from a Hungarian soda lake in 2003, had been recognized several decades earlier from human blood cultures as *Achromobacter* groups B and E. *Int J Syst Evol Microbiol* 56:2945–2948. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.64563-0>
- Holochová P, Mašláňová I, Sedláček I, et al (2020) Description of *Massilia rubra* sp. nov., *Massilia aquatica* sp. nov., *Massilia mucilaginoso* sp. nov., *Massilia frigida* sp. nov., and one *Massilia* genomospecies isolated from Antarctic streams, lakes and regoliths. *Syst Appl Microbiol* 43:126112. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2020.126112>
- Horikoshi K (1999) Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev* 63:735–750. <https://doi.org/10.2183/pjab.80.166>
- Horikoshi K (2008) Past, present and future of extremophiles. *Extremophiles* 12:1–2. <https://doi.org/10.1007/s00792-007-0127-5>

- Hose LD, Palmer AN, Palmer M V., et al (2000) Microbiology and geochemistry in a hydrogen-sulphide-rich karst environment. *Chem Geol* 169:399–423. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(00\)00217-5](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(00)00217-5)
- Hu W, Zhang Q, Tian T, et al (2015) The microbial diversity, distribution, and ecology of permafrost in China: A review. *Extremophiles* 19:693–705. <https://doi.org/10.1007/s00792-015-0749-y>
- Huang Z, Hedlund BP, Wiegel J, et al (2007) Molecular phylogeny of uncultivated Crenarchaeota in Great Basin hot springs of moderately elevated temperature. *Geomicrobiol J* 24:535–542. <https://doi.org/10.1080/01490450701572523>
- Hudson JA, Morgan HW, Daniel RM (1989) Numerical classification of *Thermus* isolates from globally distributed hot springs. *Syst Appl Microbiol* 11:250–256. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(89\)80021-9](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(89)80021-9)
- Hugenholtz P, Pitulle C, Hershberger KL, Pace NR (1998) Novel division level bacterial diversity in a Yellowstone hot spring. *J Bacteriol* 180:366–376. <https://doi.org/doi.org/10.1128/JB.180.2.366-376.1998>
- Humayoun SB, Bano N, James T, Hollibaugh JT (2003) Depth distribution of microbial diversity in Mono Lake , a meromictic soda lake in California. *Appl Environ Microbiol* 69:1030–1042. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.2.1030>
- Humphry DR, George A, Black GW, Cummings SP (2001) *Flavobacterium frigidarium* sp. nov., an aerobic, psychrophilic, xylanolytic and laminarinolytic bacterium from Antarctica. *Int J Syst Evol Microbiol* 51:1235–1243. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-4-1235>
- Hynek BM, Rogers KL, Antunovich M, et al (2018) Lack of microbial diversity in an extreme Mars analog setting: Poás Volcano, Costa Rica. *Astrobiology* 18:923–933. <https://doi.org/10.1089/ast.2017.1719>
- Iino T, Nakagawa T, Mori K, et al (2008) *Calditerrivibrio nitroreducens* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, nitrate-reducing bacterium isolated from a terrestrial hot spring in Japan. *Int J Syst Evol Microbiol* 58:1675–1679. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65714-0>
- Im W-T, Jung H-M, Ten LN, et al (2008) *Deinococcus aquaticus* sp. nov., isolated from fresh water, and *Deinococcus caeni* sp. nov., isolated from activated sludge. *Int J Syst Evol Microbiol* 58:2348–2353. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64082-0>
- Inagaki F, Takai K, Nealson KH, Horikoshi K (2004) *Sulfurovum lithotrophicum* gen. nov., sp. nov., a novel sulfur-oxidizing chemolithoautotroph within the ϵ -Proteobacteria isolated from Okinawa Trough hydrothermal sediments. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:1477–1482. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.03042-0>
- İnce İA, Demirbağ Z, Katı H (2014) *Arthrobacter pityocampae* sp. nov., isolated from *Thaumatococcus pityocampa* (Lep., Thaumatocoeidae). *Int J Syst Evol Microbiol* 64:3384–3389. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.060731-0>
- Inskeep WP, Jay ZJ, Macur RE, et al (2015) Geomicrobiology of sublacustrine thermal vents in Yellowstone lake: Geochemical controls on microbial community structure and function. *Front Microbiol* 6:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01044>
- Ito T, Sugita K, Yumoto I, et al (2005) *Thiovirga sulfuroxydans* gen. nov., sp. nov., a chemolithoautotrophic sulfur-oxidizing bacterium isolated from a microaerobic waste-water biofilm. *Int J Syst Evol Microbiol* 55:1059–1064. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63467-0>
- Jakucs L (1994) A Budai-hegység hidrotermális karsztja. *Földrajzi Értesítő* 43:235–246
- Jansson JK, Taş N (2014) The microbial ecology of permafrost. *Nat Rev Microbiol* 12:414–425. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3262>
- Jarvis P, Rey A, Petsikos C, et al (2007) Drying and wetting of Mediterranean soils stimulates decomposition and carbon dioxide emission: the “Birch effect.” *Tree Physiol* 27:929–940. <https://doi.org/10.1093/treephys/27.7.929>

- Jenks PJ, Shaw EJ (1997) Recurrent septicaemia due to “*Achromobacter* group B.” J Infect 34:143–145. [https://doi.org/10.1016/S0163-4453\(97\)92490-7](https://doi.org/10.1016/S0163-4453(97)92490-7)
- Jogler M, Chen H, Simon J, et al (2013) Description of *Sphingorhabdus planktonica* gen. nov., sp. nov. and reclassification of three related members of the genus *Sphingopyxis* in the genus *Sphingorhabdus* gen. nov. Int J Syst Evol Microbiol 63:1342–1349. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.043133-0>
- Johnson DB (1998) Biodiversity and ecology of acidophilic microorganisms. FEMS Microbiol Ecol 27:307–317. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1998.tb00547.x>
- Johnson DB, Bacelar-Nicolau P, Okibe N, et al (2009) *Ferrimicrobium acidiphilum* gen. nov., sp. nov. and *Ferrithrix thermotolerans* gen. nov., sp. nov.: heterotrophic, iron-oxidizing, extremely acidophilic actinobacteria. Int J Syst Evol Microbiol 59:1082–1089. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65409-0>
- Jolivet E, L’Haridon S, Corre E, et al (2003) *Thermococcus gammatolerans* sp. nov., a hyperthermophilic archaeon from a deep-sea hydrothermal vent that resists ionizing radiation. Int J Syst Evol Microbiol 53:847–851. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02503-0>
- Jones BE, Grant W. (1999) Microbial diversity and ecology of the soda lakes of East Africa. In: Bell CR, Brylinsky M, Johnson-Green P (eds) Microbial Biosystems: New Frontiers Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology. Halifax, Canada, pp 1–7
- Jones BE, Grant WD, Duckworth AW, et al (2005) *Cellulomonas bogoriensis* sp. nov., an alkaliphilic cellulomonad. Int J Syst Evol Microbiol 55:1711–1714. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63646-0>
- Jones BE, Grant WD, Duckworth AW, Owenson GG (1998) Microbial diversity of soda lakes. Extremophiles 2:191–200. <https://doi.org/10.1007/s007920050060>
- Jones DS, Lyon EH, Macalady JL (2008) Geomicrobiology of biovermiculations from the Frasassi cave system, Italy. J Cave Karst Stud 70:78–93
- Jones DS, Tobler DJ, Schaperdorth I, et al (2010) Community structure of subsurface biofilms in the thermal sulfidic caves of Acquasanta Terme, Italy. Appl Environ Microbiol 76:5902–5910. <https://doi.org/10.1128/AEM.00647-10>
- Jones RM, Johnson DB (2015) *Acidithrix ferrooxidans* gen. nov., sp. nov.; a filamentous and obligately heterotrophic, acidophilic member of the Actinobacteria that catalyzes dissimilatory oxidation-reduction of iron. Res Microbiol 166:111–120. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.01.003>
- Joshi A, Thite S, Kulkarni G, et al (2016) *Nitrincola alkalisediminis* sp. nov., an alkaliphilic bacterium isolated from an alkaline lake. Int J Syst Evol Microbiol 66:1254–1259. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000868>
- Kadnikov V V., Mardanov A V., Beletsky A V., et al (2019) Genome of the candidate phylum Aminicenantes bacterium from a deep subsurface thermal aquifer revealed its fermentative saccharolytic lifestyle. Extremophiles 23:189–200. <https://doi.org/10.1007/s00792-018-01073-5>
- Kamagata Y, Kawasaki H, Oyaizu H, et al (1992) Characterization of three thermophilic strains of *Methanotheroxiphilium* (“*Methanoseta*”) thermophila sp. nov. and rejection of *Methanotheroxiphilium* (“*Methanoseta*”) thermoacetophila. Int J Syst Bacteriol 42:463–468. <https://doi.org/10.1099/00207713-42-3-463>
- Kämpfer P, Schulze R, Jäckel U, et al (2005) *Hydrogenophaga defluvii* sp. nov. and *Hydrogenophaga atypica* sp. nov., isolated from activated sludge. Int J Syst Evol Microbiol 55:341–344. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.03041-0>
- Kang M-S, Im W-T, Jung H-M, et al (2007) *Cellulomonas composti* sp. nov., a cellulolytic bacterium isolated from cattle farm compost. Int J Syst Evol Microbiol 57:1256–1260. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63974-0>
- Kaur I, Das AP, Acharya M, et al (2012) *Planococcus plakortidis* sp. nov., isolated from the marine sponge *Plakortis simplex* (Schulze). Int J Syst Evol Microbiol 62:883–889.

<https://doi.org/10.1099/ijs.0.029967-0>

- Kelly DP, Wood AP (2000) Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 50:511–516. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-2-511>
- Keppen OI, Krasilnikova EN, Lebedeva N V., Ivanovskii RN (2013) Comparative study of metabolism of the purple photosynthetic bacteria grown in the light and in the dark under anaerobic and aerobic conditions. *Microbiology* 82:547–553. <https://doi.org/10.1134/S0026261713050056>
- 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>
- Kim D, Song H, Lim S, et al (2007) Effects of gamma irradiation on the radiation-resistant bacteria and polyphenol oxidase activity in fresh kale juice. *Radiat Phys Chem* 76:1213–1217. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2006.12.003>
- Kim J-O, Lee H-J, Han S-I, Whang K-S (2017) *Marinobacter halotolerans* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from a saltern crystallizing pond. *Int J Syst Evol Microbiol* 67:460–465. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001653>
- Kim M, Oh H-S, Park S-C, Chun J (2014) Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. *Int J Syst Evol Microbiol* 64:346–351. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.059774-0>
- Kimura H, Nashimoto H, Shimizu M, et al (2010) Microbial methane production in deep aquifer associated with the accretionary prism in Southwest Japan. *ISME J* 4:531–541. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.132>
- Klimchouk A, Tymokhina E, Amelichev G (2012) Speleogenetic effects of interaction between deeply derived fracture-conduit flow and intrastratal matrix flow in hypogene karst settings. *Int J Speleol* 41:161–179
- Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, et al (2013) Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res* 41:e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Kobayashi H, Endo K, Sakata S, et al (2012) Phylogenetic diversity of microbial communities associated with the crude-oil, large-insoluble-particle and formation-water components of the reservoir fluid from a non-flooded high-temperature petroleum reservoir. *J Biosci Bioeng* 113:204–210. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.09.015>
- Kodama Y, Watanabe K (2004) *Sulfuricurvum kujiense* gen. nov., sp. nov., a facultatively anaerobic, chemolithoautotrophic, sulfur-oxidizing bacterium isolated from an underground crude-oil storage cavity. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:2297–2300. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63243-0>
- Kojima H, Fukui M (2011) *Sulfuritalea hydrogenivorans* gen. nov., sp. nov., a facultative autotroph isolated from a freshwater lake. *Int J Syst Evol Microbiol* 61:1651–1655. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.024968-0>
- 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>
- Kompantseva EI, Komova A V., Kostrikina NA (2010) *Rhodovulum steppense* sp. nov., an obligately haloalkaliphilic purple nonsulfur bacterium widespread in saline soda lakes of Central Asia. *Int J Syst Evol Microbiol* 60:1210–1214. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.014639-0>
- Könneke M, Bernhard AE, de la Torre JR, et al (2005) Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature* 437:543–546. <https://doi.org/10.1038/nature03911>
- Korponai K, Szabó A, Somogyi B, et al (2019) Dual bloom of green algae and purple bacteria in an extremely shallow soda pan. *Extremophiles* 23:467–477. <https://doi.org/10.1007/s00792-019->

01098-4

- Korzhenkov AA, Teplyuk A V., Lebedinsky A V., et al (2018) Members of the uncultured taxon OP1 (“Acetothermia”) predominate in the microbial community of an alkaline hot spring at East-Tuvianian Upland. *Microbiology* 87:783–795. <https://doi.org/10.1134/S0026261718060115>
- Kostanjšek R, Pašić L, Daims H, Sket B (2013) Structure and community composition of sprout-like bacterial aggregates in a Dinaric Karst subterranean stream. *Microb Ecol* 66:5–18. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0172-1>
- Krett G, Szabó A, Felföldi T, et al (2017) The effect of reconstruction works on planktonic bacterial diversity of a unique thermal lake revealed by cultivation, molecular cloning and next generation sequencing. *Arch Microbiol* 199:1077–1089. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1379-9>
- Kristjánsson JK, Hjörleifsdóttir S, Marteinson VT, Alfredsson GA (1994) *Thermus scotoductus*, sp. nov., a pigment-producing thermophilic bacterium from hot tap water in Iceland and including *Thermus* sp. X-1. *Syst Appl Microbiol* 17:44–50. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80030-5](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80030-5)
- Kristjánsson JK, Hreggvidsson GO (1995) Ecology and habitats of extremophiles. *World J Microbiol Biotechnol* 11:17–25. <https://doi.org/10.1007/BF00339134>
- Krulwich TA, Guffanti AA (1989) Alkalophilic bacteria. *Annu Rev Microbiol* 43:435–463. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.43.100189.002251>
- Krulwich TA, Sachs G, Padan E (2011) Molecular aspects of bacterial pH sensing and homeostasis. *Nat Rev Microbiol* 9:330–343. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2549>
- Kumar S, Stecher G, Li M, et al (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 35:1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kumaresan D, Wischer D, Stephenson J, et al (2014) Microbiology of Movile Cave — A chemolithoautotrophic ecosystem. *Geomicrobiol J* 31:186–193. <https://doi.org/10.1080/01490451.2013.839764>
- Kumari D, Pan X, Achal V, et al (2015) Multiple metal-resistant bacteria and fungi from acidic copper mine tailings of Xinjiang, China. *Environ Earth Sci* 74:3113–3121. <https://doi.org/10.1007/s12665-015-4349-z>
- 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>
- Kuzmann E, Homonnay Z, Kovács K, et al (2014) Mössbauer study of biofilms formed at spring caves of Buda Karst, Hungary. *Hyperfine Interact* 226:571–577. <https://doi.org/10.1007/s10751-013-0932-4>
- 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>
- Le Guern C, Baranger P, Crouzet C, et al (2003) Arsenic trapping by iron oxyhydroxides and carbonates at hydrothermal spring outlets. *Appl Geochemistry* 18:1313–1323. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(03\)00053-2](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(03)00053-2)
- Lebre PH, De Maayer P, Cowan DA (2017) Xerotolerant bacteria: surviving through a dry spell. *Nat Rev Microbiol* 15:285–296. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.16>
- Lee SD (2019) *Lutibaculum pontilimi* sp. nov., isolated from a tidal mudflat and emended description of the genus *Lutibaculum*. *Int J Syst Evol Microbiol* 69:422–426. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003163>

- Leél-Össy S (2017) Caves of the Buda Thermal Karst. In: Klimchouk A, Palmer N, De Waele A, et al. (eds) Hypogene Karst Regions and Caves of the World. Cave and Karst Systems of the World. Springer, Cham, pp 279–297
- 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 barlangkutatási eredményei a Budai-hegységben (különös tekintettel a Rózsadomb környékére). Földtani Közlöny 148:45. <https://doi.org/10.23928/foldt.kozl.2018.148.1.45>
- Legatzki A, Ortiz M, Neilson JW, et al (2011) Bacterial and archaeal community structure of two adjacent calcite speleothems in Kartchner Caverns, Arizona, USA. Geomicrobiol J 28:99–117. <https://doi.org/10.1080/01490451003738465>
- León MJ, Sánchez-Porro C, Ventosa A (2017) *Marinobacter aquaticus* sp. nov., a moderately halophilic bacterium from a solar saltern. Int J Syst Evol Microbiol 67:2622–2627. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001984>
- Leys NMEJ, Ryngaert A, Bastiaens L, et al (2004) Occurrence and phylogenetic diversity of *Sphingomonas* strains in soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons. Appl Environmantal Microbiol 70:1944–1955. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.1944>
- Li G, Wang S, Gai Y, et al (2020) *Marinobacter changyiensis*, sp. nov., isolated from offshore sediment. Int J Syst Evol Microbiol 70:3004–3011. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004118>
- Li J-Y, Zhang Y-F, Yang Z, Wang M (2017) Bacterial diversity in Shahu lake, northwest China is significantly affected by nutrient composition rather than location. Ann Microbiol 67:469–478. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1276-0>
- Li M, Fang C, Kawasaki S, et al (2019) Bio-consolidation of cracks in masonry cement mortars by *Acinetobacter* sp. SC4 isolated from a karst cave. Int Biodeterior Biodegradation 141:94–100. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.03.008>
- Li W-J, Chen H-H, Kim C-J, et al (2005) *Nesterenkonia sandarakina* sp. nov. and *Nesterenkonia lutea* sp. nov., novel actinobacteria, and emended description of the genus *Nesterenkonia*. Int J Syst Evol Microbiol 55:463–466. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.63281-0>
- Lim S, Jung J-H, Blanchard L, de Groot A (2019) Conservation and diversity of radiation and oxidative stress resistance mechanisms in *Deinococcus* species. FEMS Microbiol Rev 43:19–52. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy037>
- Lindner AS, Pacheco A, Aldrich HC, et al (2007) *Methylocystis hirsuta* sp. nov., a novel methanotroph isolated from a groundwater aquifer. Int J Syst Evol Microbiol 57:1891–1900. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.64541-0>
- Liu Y, Balkwill DL, Aldrich HC, et al (1999) Characterization of the anaerobic propionate-degrading syntrophs *Smithella propionica* gen. nov., sp. nov. and *Syntrophobacter wolinii*. Int J Syst Evol Microbiol 49:545–556. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-545>
- Liu Y, Yao T, Jiao N, et al (2006) Microbial community structure in moraine lakes and glacial meltwaters, Mount Everest. FEMS Microbiol Lett 265:98–105. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00477.x>
- Llirós M, Inceoğlu Ö, García-Armisen T, et al (2014) Bacterial community composition in three freshwater reservoirs of different alkalinity and trophic status. PLoS One 9:e116145. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116145>
- Logan NA, Berge O, Bishop AH, et al (2009) Proposed minimal standards for describing new taxa of aerobic, endospore-forming bacteria. Int J Syst Evol Microbiol 59:2114–2121. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.013649-0>
- Lueders T, von Netzer F (2014) Primers: Functional genes for anaerobic hydrocarbon degrading microbes. In: McGenity T, Timmis K, Nogales B (eds) Hydrocarbon and Lipid Microbiology

Protocols. Springer Berlin Heidelberg, pp 39–55

- Lv Y-Y, Wang J, Chen M-H, et al (2016) *Dinghuibacter silviterrae* gen. nov., sp. nov., isolated from forest soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 66:1785–1791. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000940>
- Lynch RC, King AJ, Fariás ME, et al (2012) The potential for microbial life in the highest-elevation (>6000 m a.s.l.) mineral soils of the Atacama region. *J Geophys Res Biogeosciences* 117:n/a-n/a. <https://doi.org/10.1029/2012JG001961>
- Ma B, Gong J (2013) A meta-analysis of the publicly available bacterial and archaeal sequence diversity in saline soils. *World J Microbiol Biotechnol* 29:2325–2334. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1399-9>
- Ma K, Liu X, Dong X (2006) *Methanosaeta harundinacea* sp. nov., a novel acetate-scavenging methanogen isolated from a UASB reactor. *Int J Syst Evol Microbiol* 56:127–131. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.63887-0>
- Ma Y, Xue Y, Grant WD, et al (2004) *Alkalimonas amylolytica* gen. nov., sp. nov., and *Alkalimonas delamerensis* gen. nov., sp. nov., novel alkaliphilic bacteria from soda lakes in China and East Africa. *Extremophiles* 8:193–200. <https://doi.org/10.1007/s00792-004-0377-4>
- Macalady JL, Dattagupta S, Schaperdoth I, et al (2008) Niche differentiation among sulfur-oxidizing bacterial populations in cave waters. *ISME J* 2:590–601. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.25>
- Macalady JL, Jones DS, Lyon EH (2007) Extremely acidic, pendulous cave wall biofilms from the Frasassi cave system, Italy. *Environ Microbiol* 9:1402–1414. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01256.x>
- Macalady JL, Lyon EH, Koffman B, et al (2006) Dominant microbial populations in limestone-corroding stream biofilms, Frasassi cave system, Italy. *Appl Environ Microbiol* 72:5596–5609. <https://doi.org/10.1128/AEM.00715-06>
- MacElroy RD (1974) Some comments on the evolution of extremophiles. *Biosystems* 6:74–75. [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(74\)90026-4](https://doi.org/10.1016/0303-2647(74)90026-4)
- 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 (2019) Felszínalatti vízáramlások mintázata fedetlen és kapcsolódó fedett karbonátos víztartó rendszerekben a Budai-termálkarszt tágabb környezetének példáján. *MTA Doktori Értekezés*
- Mádl-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>
- 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, Simon S, Tóth J, Pogácsás G (2005) Felszíni és felszín alatti vizek kapcsolata a Duna-Tisza közti Kelemen-szék és Kolon-tó esetében. *Általános Földtani Szemle* 30:93–110
- 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>
- Manaia CM, Nogales B, Nunes OC (2003) *Tepidiphilus margaritifera* gen. nov., sp. nov., isolated from a thermophilic aerobic digester. *Int J Syst Evol Microbiol* 53:1405–1410. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02538-0>
- Mandakovic D, Maldonado J, Pulgar R, et al (2018) Microbiome analysis and bacterial isolation from Lejía Lake soil in Atacama Desert. *Extremophiles* 22:665–673. <https://doi.org/10.1007/s00792-018-1027-6>
- Mardis ER (2013) Next-Generation Sequencing Platforms. *Annu Rev Anal Chem* 6:287–303. <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-062012-092628>
- Margesin R, Collins T (2019) Microbial ecology of the cryosphere (glacial and permafrost habitats): current knowledge. *Appl Microbiol Biotechnol* 103:2537–2549. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09631-3>
- Margesin R, Schinner F (2001) Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Appl Microbiol Biotechnol* 56:650–663. <https://doi.org/10.1007/s002530100701>
- Margulies M, Egholm M, Altman WE, et al (2005) Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* 437:376–380. <https://doi.org/10.1038/nature03959>
- Mari L, Nagy B, Heiling Z, Nemerkenyi Z (2014) Pszeodokarszt a Száraz-Andokban? - Az Ojos del Salado olvadáshoz köthető felszínformái. *Karsztfejlődés XIX.*:231–241
- Márialigeti K (2008) A nemtenyésztéses diverzitáselemző molekuláris eljárások haszna a környezeti bakteriológiában. *MTA Doktori Értekezés*
- Marks CR, Stevenson BS, Rudd S, Lawson PA (2012) Nitrospira-dominated biofilm within a thermal artesian spring: a case for nitrification-driven primary production in a geothermal setting. *Geobiology* 10:457–466. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2012.00335.x>
- Martínez-Cánovas MJ, Béjar V, Martínez-Checa F, et al (2004) *Idiomarina fontislapidosi* sp. nov. and *Idiomarina ramblicola* sp. nov., isolated from inland hypersaline habitats in Spain. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:1793–1797. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63172-0>
- Massol-Deya AA, Odelson DA, Hickey RF, Tiedje JM (1995) Bacterial community fingerprinting of amplified 16S and 16–23S ribosomal DNA gene sequences and restriction endonuclease analysis(ARDRA). In: Akkermans AD. L, van Elsas JD, Bruijn FJ (eds) *Molecular Microbial Ecology Manual*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 289–296
- McIlroy S, Seviour RJ (2009) Elucidating further phylogenetic diversity among the *Defluviococcus* - related glycogen-accumulating organisms in activated sludge. *Environ Microbiol Rep* 1:563–568. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00082.x>
- McKinley KP, Laundry TJ, Masterton RG (1990) *Achromobacter* Group B replacement valve endocarditis. *J Infect* 20:262–263. [https://doi.org/10.1016/0163-4453\(90\)91294-N](https://doi.org/10.1016/0163-4453(90)91294-N)
- Mechichi T, Stackebrandt E, Gad'on N, Fuchs G (2002) Phylogenetic and metabolic diversity of bacteria degrading aromatic compounds under denitrifying conditions, and description of *Thauera phenylacetica* sp. nov., *Thauera aminoaromatica* sp. nov., and *Azoarcus buckelii* sp. nov. *Arch Microbiol* 178:26–35. <https://doi.org/10.1007/s00203-002-0422-6>
- Mei R, Nobu MK, Narihiro T, Liu W-T (2020) Metagenomic and metatranscriptomic analyses revealed uncultured Bacteroidales populations as the dominant proteolytic amino acid degraders in anaerobic digesters. *Front Microbiol* 11:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.593006>
- 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>
- Mesbah NM, Abou-El-Ela SH, Wiegel J (2007) Novel and unexpected prokaryotic diversity in water and sediments of the alkaline, hypersaline lakes of the Wadi An Natrun, Egypt. *Microb Ecol* 54:598–617. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9193-y>
- Micsinai A, Borsodi AK, Csengeri V, et al (2003) Rhizome-associated bacterial communities of healthy and declining reed stands in Lake Velencei, Hungary. *Hydrobiologia* 506–509:707–713. <https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000008590.37567.fa>
- Milford AD, Achenbach LA, Jung DO, Madigan MT (2000) *Rhodobaca bogoriensis* gen. nov. and sp. nov., an alkaliphilic purple nonsulfur bacterium from African Rift Valley soda lakes. *Arch Microbiol* 174:18–27
- Miller AZ, Hernández-Mariné M, Jurado V, et al (2012) Enigmatic reticulated filaments in subsurface granite. *Environ Microbiol Rep* n/a-n/a. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2012.00375.x>
- Miroshnichenko ML, Kolganova T V., Spring S, et al (2010) *Caldithrix palaeochoryensis* sp. nov., a thermophilic, anaerobic, chemo-organotrophic bacterium from a geothermally heated sediment, and emended description of the genus *Caldithrix*. *Int J Syst Evol Microbiol* 60:2120–2123. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.016667-0>
- Miroshnichenko ML, Kostrikina NA, Chernyh NA, et al (2003) *Caldithrix abyssi* gen. nov., sp. nov., a nitrate-reducing, thermophilic, anaerobic bacterium isolated from a Mid-Atlantic ridge hydrothermal vent, represents a novel bacterial lineage. *Int J Syst Evol Microbiol* 53:323–329. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02390-0>
- Miroshnichenko ML, Lebedinsky A V., Chernyh NA, et al (2009) *Caldimicrobium rimae* gen. nov., sp. nov., an extremely thermophilic, facultatively lithoautotrophic, anaerobic bacterium from the Uzon Caldera, Kamchatka. *Int J Syst Evol Microbiol* 59:1040–1044. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.006072-0>
- 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>
- Miseta R, Palatinszky M, Márialigeti K, Borsodi AK (2009) Molecular biological investigations on the bacterial communities of curative well waters of Harkány Spa. *Acta Microbiol Immunol Hung* 56:357–368. <https://doi.org/10.1556/AMicr.56.2009.4.5>
- Mohapatra M, Behera P, Kim JY, Rastogi G (2020) Seasonal and spatial dynamics of bacterioplankton communities in a brackish water coastal lagoon. *Sci Total Environ* 705:134729. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134729>
- Molina V, Eissler Y, Fernandez C, et al (2021) Greenhouse gases and biogeochemical diel fluctuations in a high-altitude wetland. *Sci Total Environ* 768:144370. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144370>
- Molina V, Hernández K, Dorador C, et al (2016) Bacterial active community cycling in response to solar radiation and their influence on nutrient changes in a high-altitude wetland. *Front Microbiol* 7: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01823>
- 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>
- Montes MJ, Bozal N, Mercade E (2008) *Marinobacter guineae* sp. nov., a novel moderately halophilic bacterium from an Antarctic environment. *Int J Syst Evol Microbiol* 58:1346–1349. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65298-0>
- Moreira D, Amils R (1997) Phylogeny of *Thiobacillus cuprinus* and other mixotrophic Thiobacilli:

- Proposal for *Thiomonas* gen. nov. Int J Syst Bacteriol 47:522–528. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-522>
- Mori K, Hanada S, Maruyama A, Marumo K (2002) *Thermanaeromonas toyohensis* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic anaerobe isolated from a subterranean vein in the Toyoha Mines. Int J Syst Evol Microbiol 52:1675–1680. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-5-1675>
- Mori K, Suzuki K (2008) *Thiofaba tepidiphila* gen. nov., sp. nov., a novel obligately chemolithoautotrophic, sulfur-oxidizing bacterium of the Gammaproteobacteria isolated from a hot spring. Int J Syst Evol Microbiol 58:1885–1891. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65754-0>
- Muyzer G, Muyzer G, Smalla K, Smalla K (1998) Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. Antonie Van Leeuwenhoek 73:127–41. <https://doi.org/10.1023/a:1000669317571>
- Mwirichia R, Cousin S, Muigai AW, et al (2011) Bacterial diversity in the haloalkaline Lake Elmenteita, Kenya. Curr Microbiol 62:209–221. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9692-4>
- Mwirichia R, Muigai AM, Tindall B, et al (2010) Isolation and characterisation of bacteria from the haloalkaline Lake Elmenteita, Kenya. Extremophiles 14:339–348. <https://doi.org/10.1007/s00792-010-0311-x>
- 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. Permafrost Process 30:3–18. <https://doi.org/10.1002/ppp.1989>
- Nagy B, Kovács J, Ignéczi Á, et al (2020) The thermal behavior of ice-bearing ground: The highest cold, dry desert on Earth as an analog for conditions on Mars, at Ojos del Salado, Puna de Atacama-Altiplano Region. Astrobiology 20:701–722. <https://doi.org/10.1089/ast.2018.2021>
- Nagy K, Kávási N, Kovács T, Somlai J (2008) Radon therapy and speleotherapy in Hungary. Le Press Therm Clim 145:219–225
- Nakagawa S, Shtaih Z, Banta A, et al (2005) *Sulfurihydrogenibium yellowstonense* sp. nov., an extremely thermophilic, facultatively heterotrophic, sulfur-oxidizing bacterium from Yellowstone National Park, and emended descriptions of the genus *Sulfurihydrogenibium*, *Sulfurihydrogenibium subterraneum*. Int J Syst Evol Microbiol 55:2263–2268. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63708-0>
- Nakagawa T, Fukui M (2003) Molecular characterization of community structures and sulfur metabolism within microbial streamers in Japanese hot springs. Appl Environ Microbiol 69:7044–7057. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7044-7057.2003>
- Nakamura K, Takahashi A, Mori C, et al (2013) *Methanothermobacter tenebrarum* sp. nov., a hydrogenotrophic, thermophilic methanogen isolated from gas-associated formation water of a natural gas field. Int J Syst Evol Microbiol 63:715–722. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.041681-0>
- 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>
- Nazina T, Babich T, Kostyukova N, et al (2020) Ultramicrobacteria from nitrate- and radionuclide-contaminated groundwater. Sustainability 12:1239. <https://doi.org/10.3390/su12031239>
- Nelson WC, Stegen JC (2015) The reduced genomes of Parcubacteria (OD1) contain signatures of a symbiotic lifestyle. Front Microbiol 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00713>
- 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>
- Niederberger TD, McDonald IR, Hacker AL, et al (2008) Microbial community composition in soils of Northern Victoria Land, Antarctica. Environ Microbiol 10:1713–1724. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01593.x>

- Nielsen P, Fritze D, Priest FG (1995) Phenetic diversity of alkaliphilic *Bacillus* strains: proposal for nine new species. *Microbiology* 141:1745–1761. <https://doi.org/10.1099/13500872-141-7-1745>
- Nogi Y, Takami H, Horikoshi K (2005) Characterization of alkaliphilic *Bacillus* strains used in industry: Proposal of five novel species. *Int J Syst Evol Microbiol* 55:2309–2315. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63649-0>
- Northup DE, Barns SM, Yu LE, et al (2003) Diverse microbial communities inhabiting ferromanganese deposits in Lechuguilla and Spider Caves. *Environ Microbiol* 5:1071–1086. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00500.x>
- Northup DE, Lavoie KH (2001) Geomicrobiology of caves: A review. *Geomicrobiol J* 18:199–222. <https://doi.org/10.1080/01490450152467750>
- Nowlan B, Dodia MS, Singh SP, Patel BKC (2006) *Bacillus okhensis* sp. nov., a halotolerant and alkalitolerant bacterium from an Indian saltpan. *Int J Syst Evol Microbiol* 56:1073–1077. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63861-0>
- Oksanen J, Kindt R, O'Hara RB (2005) The vegan Package. *Community Ecology Package*
- 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>
- Oren A (2008) Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Systems* 4:1–13. <https://doi.org/10.1186/1746-1448-4-2>
- Oren A (2002) Diversity of halophilic microorganisms: Environments, phylogeny, physiology, and applications. *J Ind Microbiol Biotechnol* 28:56–63. <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000176>
- Ortiz M, Legatzki A, Neilson JW, et al (2014) Making a living while starving in the dark: Metagenomic insights into the energy dynamics of a carbonate cave. *ISME J* 8:478–491. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.159>
- Ortiz M, Neilson JW, Legatzki A, Maier RM (2015) 5. Bacterial and archaeal diversity on cave speleothem and rock surfaces: A carbonate cave case study from Kartchner Caverns. In: *Microbial Life of Cave Systems*. DE GRUYTER, pp 105–124
- 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>
- Pan X-C, Geng S, Mei R, et al (2014) *Nitratireductor shengliensis* sp. nov., isolated from an oil-polluted saline soil. *Curr Microbiol* 69:561–566. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0624-6>
- Park SJ, Park YM, Chun WY, et al (2010) Calcite-forming bacteria for compressive strength improvement in mortar. *J Microbiol Biotechnol* 20:782–788. <https://doi.org/10.4014/jmb.0911.11015>
- Pašić L, Kovčec B, Sket B, Herzog-Velikonja B (2010) Diversity of microbial communities colonizing the walls of a karstic cave in Slovenia. *FEMS Microbiol Ecol* 71:50–60. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00789.x>
- Pekár F (2008) A geotermikus energiaszolgáltatás alapjai és környezeti hatásai. In: Tamás J (ed) *Agrárium és környezetgazdálkodás*. Mezőgazda Kiadó, pp 195–198
- Peng M, Jia H, Wang Q (2017) The effect of land use on bacterial communities in saline–alkali soil. *Curr Microbiol* 74:325–333. <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1195-0>
- Perkerson III RB, Johansen JR, Kováčik L, et al (2011) A unique Pseudanabaenalean (Cyanobacteria) genus *Nodosilinea* gen. nov. based on morphological and molecular data. *J Phycol* 47:1397–1412. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01077.x>
- Pham VHT, Kim J (2012) Cultivation of unculturable soil bacteria. *Trends Biotechnol* 30:475–484. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.05.007>
- Pikuta EV, Zhilina TN, Zavarzin GA, et al (1998) *Desulfonatronum lacustre* gen. nov., sp. nov.: A new alkaliphilic sulfate-reducing bacterium utilizing ethanol. *Microbiology* 67:105–113

- 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>
- Pleše B, Pojskić N, Ozimec R, et al (2016) Molecular characterization of aquatic bacterial communities in Dinaric Range Caves. *Water Environ Res* 88:617–629. <https://doi.org/10.2175/106143016X14609975746488>
- Pollák B, Rusznyák B, Palatinszky M, et al (2006) Tiszántúli szikes tavak baktériumközösségeinek összehasonlító vizsgálata. *Hidrológiai Közlöny* 86:88–90
- Porsch K, Wirth B, Tóth EM, et al (2015) Characterization of wheat straw-degrading anaerobic alkali-tolerant mixed cultures from soda lake sediments by molecular and cultivation techniques. *Microb Biotechnol* 8:801–814. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12272>
- Porter ML, Engel AS, Kane TC, Kinkle BK (2009) Productivity-diversity relationships from chemolithoautotrophically based sulfidic karst systems. *Int J Speleol* 38:27–40. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.38.1.4>
- 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>
- Prashar P, Kapoor N, Sachdeva S (2014) Rhizosphere: Its structure, bacterial diversity and significance. *Rev Environ Sci Biotechnol* 13:63–77. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9317-z>
- Preiss L, Hicks DB, Suzuki S, et al (2015) Alkaliphilic bacteria with impact on industrial applications, concepts of early life forms, and bioenergetics of ATP synthesis. *Front Bioeng Biotechnol* 3:. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00075>
- Qiu X, Qu Z, Jiang F, et al (2016) *Roseomonas arctica* sp. nov., isolated from arctic glacial foreland soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 66:1218–1223. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000857>
- Qiu X, Qu Z, Jiang F, et al (2014) *Pedobacter huanghensis* sp. nov. and *Pedobacter glacialis* sp. nov., isolated from Arctic glacier foreland. *Int J Syst Evol Microbiol* 64:2431–2436. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.061648-0>
- Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, et al (2012) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 41:D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Rampelotto P (2013) Extremophiles and extreme environments. *Life* 3:482–485. <https://doi.org/10.3390/life3030482>
- Rangseekeaw P, Pathom-aree W (2019) Cave Actinobacteria as producers of bioactive metabolites. *Front Microbiol* 10:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00387>
- Ravot G, Magot M, Fardeau M-L, et al (1999) *Fusibacter paucivorans* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, thiosulfate-reducing bacterium from an oil-producing well. *Int J Syst Evol Microbiol* 49:1141–1147. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-3-1141>
- Reddy GSN, Aggarwal RK, Matsumoto GI, Shivaji S (2000) *Arthrobacter flavus* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from a pond in McMurdo Dry Valley, Antarctica. *Int J Syst Evol Microbiol* 50:1553–1561. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-4-1553>
- Reddy SV, Thirumala M, Farooq M, et al (2015a) *Bacillus lonarensis* sp. nov., an alkalitolerant bacterium isolated from a soda lake. *Arch Microbiol* 197:27–34. <https://doi.org/10.1007/s00203-014-1040-9>
- Reddy VS, Thirumala M, Farooq M (2015b) *Bacillus caseinilyticus* sp. nov., an alkali- and thermotolerant bacterium isolated from a soda lake. *Int J Syst Evol Microbiol* 65:2441–2446. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.000275>
- Reskóné NM (1999) A Velencei-tó mai arculata, vízminősége. *Acta Biol Debrecina Suppl Oecologica Hungarica* 9:175–182

- Reysenbach A-L (2002) Merging genomes with geochemistry in hydrothermal ecosystems. *Science* (80-) 296:1077–1082. <https://doi.org/10.1126/science.1072483>
- Reysenbach A-L, Hamamura N, Podar M, et al (2009) Complete and draft genome sequences of six members of the Aquificales. *J Bacteriol* 191:1992–1993. <https://doi.org/10.1128/JB.01645-08>
- Rickard AH, Gilbert P, High NJ, et al (2003) Bacterial coaggregation: An integral process in the development of multi-species biofilms. *Trends Microbiol* 11:94–100. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(02\)00034-3](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(02)00034-3)
- 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)
- Ritika C, Suresh K, Anil Kumar P (2012) *Caenispirillum salinarum* sp. nov., a member of the family Rhodospirillaceae isolated from a solar saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 62:1698–1702. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.035287-0>
- Rivadeneira MA, Delgado R, Delgado G, et al (1993) Precipitation of carbonates by *Bacillus* sp. isolated from saline soils. *Geomicrobiol J* 11:175–184. <https://doi.org/10.1080/01490459309377949>
- Rivas R, Trujillo ME, Mateos PF, et al (2004) *Cellulomonas xylanilytica* sp. nov., a cellulolytic and xylanolytic bacterium isolated from a decayed elm tree. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:533–536. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02866-0>
- Roane TM, Kellogg ST (1996) Characterization of bacterial communities in heavy metal contaminated soils. *Can J Microbiol* 42:593–603. <https://doi.org/10.1139/m96-080>
- Ronaghi M, Uhlén M, Nyren P (1998) A sequencing method based on real-time pyrophosphate. *Science* (80-) 281:363–365. <https://doi.org/10.1126/science.281.5375.363>
- 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>
- RStudio Team (2020) RStudio: Integrated Development for R. RStudio
- Ruginescu R, Purcărea C, Dorador C, et al (2019) Exploring the hydrolytic potential of cultured halophilic bacteria isolated from the Atacama Desert. *FEMS Microbiol Lett* 366:. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz224>
- Rundel PW, Kleier CC Parque Nacional Nevado de Tres Cruces, Chile: A significant coldspot of biodiversity in a high Andean ecosystem. *Mt Views* 2:
- Rusznayk A, Akob DM, Nietzsche S, et al (2012) Calcite biomineralization by bacterial isolates from the recently discovered pristine karstic Herrenberg Cave. *Appl Environ Microbiol* 78:1157–1167. <https://doi.org/10.1128/AEM.06568-11>
- 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>
- Rusznayk A, Vladár P, Molnár P, et al (2008a) Cultivable bacterial composition and BIOLOG catabolic diversity of biofilm communities developed on *Phragmites australis*. *Aquat Bot* 88:211–218. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.10.007>
- Rusznayk A, Vladár P, Szabó G, et al (2008b) Phylogenetic and metabolic bacterial diversity of *Phragmites australis* periphyton communities in two Hungarian soda ponds. *Extremophiles* 12:763–773. <https://doi.org/10.1007/s00792-008-0183-5>
- Sadeghi A, Karimi E, Dahaji PA, et al (2012) Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. *World J Microbiol Biotechnol* 28:1503–1509. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0952-7>

- Sajid I, Yao CBFF, Shaaban KA, et al (2009) Antifungal and antibacterial activities of indigenous *Streptomyces* isolates from saline farmlands : prescreening , ribotyping and metabolic diversity. *World J Microbiol Biotechnol* 25:601–610. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9928-7>
- Sánchez-Andrea I, Knittel K, Amann R, et al (2012) Quantification of Tinto River sediment microbial communities: Importance of sulfate-reducing bacteria and their role in attenuating acid mine drainage. *Appl Environ Microbiol* 78:4638–4645. <https://doi.org/10.1128/AEM.00848-12>
- Sánchez-Andrea I, Stams AJM, Hedrich S, et al (2015) *Desulfosporosinus acididurans* sp. nov.: An acidophilic sulfate-reducing bacterium isolated from acidic sediments. *Extremophiles* 19:39–47. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0701-6>
- SantaCruz-Calvo L, González-López J, Manzanera M (2013) *Arthrobacter siccitolerans* sp. nov., a highly desiccation-tolerant, xeroprotectant-producing strain isolated from dry soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 63:4174–4180. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.052902-0>
- Santini JM, Streimann ICA, vanden Hoven RN (2004) *Bacillus macyae* sp. nov., an arsenate-respiring bacterium isolated from an Australian gold mine. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:2241–2244. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63059-0>
- Sarethy IP, Saxena Y, Kapoor A, et al (2011) Alkaliphilic bacteria: Applications in industrial biotechnology. *J Ind Microbiol Biotechnol* 38:769–790. <https://doi.org/10.1007/s10295-011-0968-x>
- Sarkar A, Kazy SK, Sar P (2013) Characterization of arsenic resistant bacteria from arsenic rich groundwater of West Bengal, India. *Ecotoxicology* 22:363–376. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-1031-z>
- Savio D, Stadler P, Reischer GH, et al (2019) Spring water of an alpine karst aquifer is dominated by a taxonomically stable but discharge-responsive bacterial community. *Front Microbiol* 10:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00028>
- Schauer M, Kamenik C, Hahn MW (2005) Ecological differentiation within a cosmopolitan group of planktonic freshwater bacteria (SOL Cluster, Saprospiraceae , Bacteroidetes). *Appl Environ Microbiol* 71:5900–5907. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.5900-5907.2005>
- Scheldeman P, Baurain D, Bouhy R, et al (1999) *Arthrospira* ('*Spirulina*') strains from four continents are resolved into only two clusters, based on amplified ribosomal DNA restriction analysis of the internally transcribed spacer. *FEMS Microbiol Lett* 172:213–222. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13471.x>
- Schieber J, Glamoclija M (2007) Microbial mats built by iron bacteria: A modern example from southern Indiana. *Atlas Microb mat Featur Preserv within clastic rock Rec* 8:233–244
- Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, et al (2009) Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 75:7537–7541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>
- 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>
- Scholten E, Lukow T, Auling G, et al (1999) *Thauera mechernichensis* sp. nov., an aerobic denitrifier from a leachate treatment plant. *Int J Syst Evol Microbiol* 49:1045–1051. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-3-1045>
- 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>
- Shabarova T, Pernthaler J (2010) Karst pools in subsurface environments: Collectors of microbial diversity or temporary residence between habitat types. *Environ Microbiol* 12:1061–1074.

<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02151.x>

- Shen L, Liu Y, Gu Z, et al (2015) *Massilia eurypsychrophila* sp. nov. a facultatively psychrophilic bacteria isolated from ice core. *Int J Syst Evol Microbiol* 65:2124–2129. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000229>
- Shi Y, Chai L, Yang Z, et al (2012) Identification and hexavalent chromium reduction characteristics of *Pannonibacter phragmitetus*. *Bioprocess Biosyst Eng* 35:843–850. <https://doi.org/10.1007/s00449-011-0668-y>
- Shiba T, Simidu U (1982) *Erythrobacter longus* gen. nov., sp. nov., an aerobic bacterium which contains bacteriochlorophyll-a. *Int J Syst Bacteriol* 32:211–217. <https://doi.org/10.1099/00207713-32-2-211>
- 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>
- Siddiqi MZ, Kim Y-J, Hoang V-A, et al (2014) *Arthrobacter ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Arch Microbiol* 196:863–870. <https://doi.org/10.1007/s00203-014-1025-8>
- Sievert SM, Wieringa EBA, Wirsén CO, Taylor CD (2007) Growth and mechanism of filamentous-sulfur formation by *Candidatus Arcobacter sulfidicus* in opposing oxygen-sulfide gradients. *Environ Microbiol* 9:271–276. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01156.x>
- Singh A, Vaidya B, Tanuku NRS, Pinnaka AK (2015) *Nitrincola nitratreducens* sp. nov. isolated from a haloalkaline crater lake. *Syst Appl Microbiol* 38:555–562. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.09.002>
- Sipos R, Székely AJ, Palatinszky M, et al (2007) Effect of primer mismatch, annealing temperature and PCR cycle number on 16S rRNA gene-targeting bacterial community analysis. *FEMS Microbiol Ecol* 60:341–350. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00283.x>
- Solon AJ, Vimercati L, Darcy JL, et al (2018) Microbial communities of high-elevation fumaroles, penitentes, and dry tephra “soils” of the Puna de Atacama volcanic zone. *Microb Ecol* 76:340–351. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1129-1>
- Somogyi B, Felföldi T, Dinka M, Vörös L (2010) Periodic picophytoplankton predominance in a large, shallow alkaline lake (Lake Fertő, Neusiedlersee). *Ann Limnol - Int J Limnol* 46:9–19. <https://doi.org/10.1051/limn/2010001>
- Somogyi B, Felföldi T, Vanyovszki J, et al (2009) Winter bloom of picoeukaryotes in Hungarian shallow turbid soda pans and the role of light and temperature. *Aquat Ecol* 43:735–744. <https://doi.org/10.1007/s10452-009-9269-0>
- Song B, Palleroni NJ, Häggblom MM (2000) Isolation and characterization of diverse halobenzoate-degrading denitrifying bacteria from soils and sediments. *Appl Environ Microbiol* 66:3446–3453. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.8.3446-3453.2000>
- Sorokin DY, Banciu HL, Muyzer G (2015) Functional microbiology of soda lakes. *Curr Opin Microbiol* 25:88–96. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.05.004>
- 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>
- Sorokin DY, van Pelt S, Tourova TP (2008a) Utilization of aliphatic nitriles under haloalkaline conditions by *Bacillus alkalinitrilicus* sp. nov. isolated from soda solonchak soil. *FEMS Microbiol Lett* 288:235–240. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01353.x>
- Sorokin ID, Kravchenko IK, Tourova TP, et al (2008b) *Bacillus alkalidiazotrophicus* sp. nov., a diazotrophic, low salt-tolerant alkaliphile isolated from Mongolian soda soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 58:2459–2464. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65655-0>

- Spang A, Poehlein A, Offre P, et al (2012) The genome of the ammonia-oxidizing *Candidatus Nitrososphaera gargensis*: Insights into metabolic versatility and environmental adaptations. *Environ Microbiol* 14:3122–3145. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02893.x>
- Spring S (2006) The genera *Leptothrix* and *Sphaerotilus*. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, et al. (eds) *The Prokaryotes*. Springer Science, New York, NY, pp 758–777
- Spring S, Schulze R, Overmann J, Schleifer K-H (2000) Identification and characterization of ecologically significant prokaryotes in the sediment of freshwater lakes: molecular and cultivation studies. *FEMS Microbiol Rev* 24:573–590. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00559.x>
- Srinivas TNR, Anil Kumar P, Sasikala C, et al (2008) *Rhodobacter ovatus* sp. nov., a phototrophic alphaproteobacterium isolated from a polluted pond. *Int J Syst Evol Microbiol* 58:1379–1383. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65619-0>
- Stackebrandt E, Goebel BM (1994) Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int J Syst Evol Microbiol* 44:846–849. <https://doi.org/10.1099/00207713-44-4-846>
- Stackebrandt E, Koch C, Gvozdiak O, Schumann P (1995) Taxonomic dissection of the genus *Micrococcus*: *Kocuria* gen. nov., *Nesterenkonia* gen. nov., *Kytococcus* gen. nov., *Dermacoccus* gen. nov., and *Micrococcus* Cohn 1872 gen. emend. *Int J Syst Bacteriol* 45:682–692. <https://doi.org/10.1099/00207713-45-4-682>
- Stackebrandt E, Schumann P (2015) *Cellulomonas*. In: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Wiley, pp 1–14
- Stahl DA, de la Torre JR (2012) Physiology and diversity of ammonia-oxidizing Archaea. *Annu Rev Microbiol* 66:83–101. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092611-150128>
- Staley JT, Konopka A (1985) Measurement of in situ activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. *Annu Rev Microbiol* 39:321–346. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.39.100185.001541>
- Stieglmeier M, Klingl A, Alves RJE, et al (2014) *Nitrososphaera viennensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic and mesophilic, ammonia-oxidizing archaeon from soil and a member of the archaeal phylum Thaumarchaeota. *Int J Syst Evol Microbiol* 64:2738–2752. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.063172-0>
- Stohr R, Waberski A, Völker H, et al (2001) *Hydrogenothermus marinus* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic hydrogen-oxidizing bacterium, recognition of *Calderobacterium hydrogenophilum* as a member of the genus *Hydrogenobacter* and proposal of the reclassification of *Hydrogenobacter acidophilus*. *Int J Syst Evol Microbiol* 51:1853–1862. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-5-1853>
- Sullivan RF, Holtman MA, Zylstra GJ, et al (2003) Taxonomic positioning of two biological control agents for plant diseases as *Lysobacter enzymogenes* based on phylogenetic analysis of 16S rDNA, fatty acid composition and phenotypic characteristics. *J Appl Microbiol* 94:1079–1086
- Svec P, Cernohlávková J, Busse HJ, et al (2015) Classification of strain CCM 4446 T as *Rhodococcus degradans* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 65:4381–4387. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000584>
- Switzer Blum J, Burns Bindi A, Buzzelli J, et al (1998) *Bacillus arsenicoselenatis*, sp. nov., and *Bacillus selenitireducens*, sp. nov.: Two haloalkaliphiles from Mono Lake, California that respire oxyanions of selenium and arsenic. *Arch Microbiol* 171:19–30. <https://doi.org/10.1007/s002030050673>
- Sylvan JB, Toner BM, Edwards KJ (2012) Life and Death of Deep-Sea Vents: Bacterial Diversity and Ecosystem Succession on Inactive Hydrothermal Sulfides. *MBio* 3:. <https://doi.org/10.1128/mBio.00279-11>
- Szabó A, Korponai K, Kerepesi C, et al (2017) Soda pans of the Pannonian steppe harbor unique bacterial communities adapted to multiple extreme conditions. *Extremophiles* 21:639–649.

<https://doi.org/10.1007/s00792-017-0932-4>

- Szabó A, Korponai K, Somogyi B, et al (2020) Grazing pressure-induced shift in planktonic bacterial communities with the dominance of acIII-A1 actinobacterial lineage in soda pans. *Sci Rep* 10:19871. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76822-8>
- Szabolcs I, Jassó F (1961) A szikes talajok genetikus típusai és elterjedésük törvényszerűségei a Duna-Tisza közén. *Agrokémia és Talajtan* 10:173–194
- Szabolcs I, Jassó F (1959) A magyar szikes talajok osztályozása. *Agrokémia és Talajtan* 8:281–300
- Szabolcs I, Molnár E (1980) A talajképződés tényezői és talajképződési folyamatok Cegléd környékének szikes területein. *Agrokémia és Talajtan* 29:7–34
- Szanyi J, Kovács B (2010) Utilization of geothermal systems in South-East Hungary. *Geothermics* 39:357–364. <https://doi.org/10.1016/j.geothermics.2010.09.004>
- Szanyi J, Nádor A, Madarász T (2021) A geotermikus energia kutatása és hasznosítása Magyarországon az elmúlt 150 év tükrében. *Földtani Közlöny* 151:79–102. <https://doi.org/10.23928/foldt.kozl.2021.151.1.79>
- Szerbin P (1996) Natural radioactivity of certain spas and caves in Hungary. *Environ Int* 22:389–398. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(96\)00137-7](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(96)00137-7)
- Szuróczki S, Szabó A, Korponai K, et al (2020) Prokaryotic community composition in a great shallow soda lake covered by large reed stands (Neusiedler See/Lake Fertő) as revealed by cultivation- and DNA-based analyses. *FEMS Microbiol Ecol* 96:. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa159>
- Tahon G, Tytgat B, Lebbe L, et al (2018) *Abditobacterium utsteinense* sp. nov., the first cultivated member of candidate phylum FBP, isolated from ice-free Antarctic soil samples. *Syst Appl Microbiol* 41:279–290. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2018.01.009>
- Takács T (1987) A Fertő-tó szerkezetéről. *Praenorica Folia Hist II.*:47–54
- Takai K, Kobayashi H, Neelson KH, Horikoshi K (2003) *Sulfurihydrogenibium subterraneum* gen. nov., sp. nov., from a subsurface hot aquifer. *Int J Syst Evol Microbiol* 53:823–827. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02506-0>
- Takai K, Komatsu T, Horikoshi K (2001) *Hydrogenobacter subterraneus* sp. nov., an extremely thermophilic, heterotrophic bacterium unable to grow on hydrogen gas, from deep subsurface geothermal water. *Int J Syst Evol Microbiol* 51:1425–1435. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-4-1425>
- Takeuchi M, Sakane T, Yanagi M, et al (1995) Taxonomic study of bacteria isolated from plants : Proposal of *Sphingomonas rosa* sp. nov., *Sphingomonas pruni* sp. nov., *Sphingomonas asaccharolytica* sp. nov., and *Sphingomonas mali* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 45:334–341
- Takii S, Hanada S, Tamaki H, et al (2007) *Dethiosulfatibacter aminovorans* gen. nov., sp. nov., a novel thiosulfate-reducing bacterium isolated from coastal marine sediment via sulfate-reducing enrichment with casamino acids. *Int J Syst Evol Microbiol* 57:2320–2326. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64882-0>
- Tebo BM, Davis RE, Anitori RP, et al (2015) Microbial communities in dark oligotrophic volcanic ice cave ecosystems of Mt. Erebus, Antarctica. *Front Microbiol* 6:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00179>
- Tetu SG, Breakwell K, Elbourne LDH, et al (2013) Life in the dark: Metagenomic evidence that a microbial slime community is driven by inorganic nitrogen metabolism. *ISME J* 7:1227–1236. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.14>
- Timmins J, Moe E (2016) A decade of biochemical and structural studies of the DNA repair machinery of *Deinococcus radiodurans*: Major findings, functional and mechanistic insight and challenges. *Comput Struct Biotechnol J* 14:168–176. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2016.04.001>
- Tindall BJ, Rosselló-Móra R, Busse HJ, et al (2010) Notes on the characterization of prokaryote strains

- for taxonomic purposes. *Int J Syst Evol Microbiol* 60:249–266. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.016949-0>
- Tomaselli L (1997) Morphology, ultrastructure and taxonomy. In: Vonshak A (ed) *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology*. Taylor and Francis, London, UK, pp 1–15
- Tomova I, Dimitrova D, Stoilova-Disheva M, et al (2011) Archaeal diversity at two hot springs, Rupi Basin, Bulgaria. *Biotechnol Equip* 25:105–113. <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2011.0120>
- Tóth T (2010) Medium-term vegetation dynamics and their association with edaphic conditions in two Hungarian saline grassland communities. *Grassl Sci* 56:13–18. <https://doi.org/10.1111/j.1744-697X.2009.00167.x>
- Tóth T, Szendrei G (2006) A hazai szikes talajok és a szikesedés, valamint a sófelhalmozódási folyamatok rövid jellemzése. *Topogr Mineral Hungariae* IX:7–20
- Trujillo-Cabrera Y, Ponce-mendoza A, Vásquez-Murrieta MS, et al (2013) Diverse cellulolytic bacteria isolated from the high humus , alkaline-saline chinampa soils. *Ann Microbiol* 63:779–792. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0533-5>
- Van den Burg B (2003) Extremophiles as a source for novel enzymes. *Curr Opin Microbiol* 6:213–218. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(03\)00060-2](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(03)00060-2)
- van Niftrik L, Jetten MSM (2012) Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: Unique microorganisms with exceptional properties. *Microbiol Mol Biol Rev* 76:585–596. <https://doi.org/10.1128/MMBR.05025-11>
- Van Trappen S, Vandecandelaere I, Mergaert J, Swings J (2005) *Flavobacterium fryxellicola* sp. nov. and *Flavobacterium psychrolimnae* sp. nov., novel psychrophilic bacteria isolated from microbial mats in Antarctic lakes. *Int J Syst Evol Microbiol* 55:769–772. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.03056-0>
- van Veen WL, Mulder EG, Deinema MH (1978) The *Sphaerotilus-Leptothrix* group of bacteria. *Microbiol Rev* 42:329–356
- 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>
- Vargas VA, Delgado OD, Hatti-Kaul R, Mattiasson B (2005) *Bacillus bogoriensis* sp. nov., a novel alkaliphilic, halotolerant bacterium isolated from a Kenyan soda lake. *Int J Syst Evol Microbiol* 55:899–902. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63318-0>
- Vedder A (1934) *Bacillus alcalophilus* n. sp.; benevens enkele ervaringen met sterk alcalische voedingbodems. *Antonie Leeuwenhoek J Microbiol Serol* 1:141–147
- Ventosa A, Nieto JJ, Oren A (1998) Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 62:504–44. <https://doi.org/10.1128/mbr.62.2.504-517.1998>
- Vick TJ, Dodsworth JA, Costa KC, et al (2010) Microbiology and geochemistry of Little Hot Creek, a hot spring environment in the Long Valley Caldera. *Geobiology* 8:140–154. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2009.00228.x>
- 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 (2012) Történeti áttekintés a budai barlangok keletkezéséről - a klasszikus karsztfejlődéstől a hipogén barlangképződésig. *Karszt és Barlang* 14:24–46
- Virág M, Leél-Őssy 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

- Vishnivetskaya TA, Petrova MA, Urbance J, et al (2006) Bacterial community in ancient Siberian permafrost as characterized by culture and culture-independent methods. *Astrobiology* 6:400–414. <https://doi.org/10.1089/ast.2006.6.400>
- Vladár P, Ruzsnyák A, Márialigeti K, Borsodi AK (2008) Diversity of sulfate-reducing bacteria inhabiting the rhizosphere of *Phragmites australis* in Lake Velencei (Hungary) revealed by a combined cultivation-based and molecular approach. *Microb Ecol* 56:64–75. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9324-0>
- Walker JJ, Pace NR (2007) Endolithic Microbial Ecosystems. *Annu Rev Microbiol* 61:331–347. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.080706.093302>
- Wang H, Zhang X, Wang S, et al (2018) *Massilia violaceinigra* sp. nov., a novel purple-pigmented bacterium isolated from glacier permafrost. *Int J Syst Evol Microbiol* 68:2271–2278. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002826>
- Wang J, Salem DR, Sani RK (2019) Extremophilic exopolysaccharides: A review and new perspectives on engineering strategies and applications. *Carbohydr Polym* 205:8–26. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.011>
- Wang M, Zhang X, Jiang T, et al (2017) Liver abscess caused by *Pannonibacter phragmitetus*: Case report and literature review. *Front Med* 4:48. <https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00048>
- Wang Y, Zhang R, Zheng Q, Jiao N (2014) Draft genome sequences of two marine phototrophic bacteria, *Erythrobacter longus* strain DSM 6997 and *Erythrobacter litoralis* strain DSM 8509. *Genome Announc* 2:. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00677-14>
- Ward LM, Cardona T, Holland-Moritz H (2019) Evolutionary implications of anoxygenic phototrophy in the bacterial phylum *Candidatus* Eremiobacterota (WPS-2). *Front Microbiol* 10:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01658>
- Watson SW, Bock E, Valois FW, et al (1986) *Nitrospira marina* gen. nov. sp. nov.: A chemolithotrophic nitrite-oxidizing bacterium. *Arch Microbiol* 144:1–7. <https://doi.org/10.1007/BF00454947>
- Weidler GW, Dornmayr-Pfaffenhuemer M, Gerbl FW, et al (2007) Communities of Archaea and Bacteria in a subsurface radioactive thermal spring in the Austrian Central Alps, and evidence of ammonia-oxidizing Crenarchaeota. *Appl Environ Microbiol* 73:259–270. <https://doi.org/10.1128/AEM.01570-06>
- Welch AB, Maxcy RB (1975) Characterization of radiation-resistant vegetative bacteria in beef. *Appl Microbiol* 30:242–250. <https://doi.org/10.1128/am.30.2.242-250.1975>
- 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>
- Wilhelm RC, Niederberger TD, Greer C, Whyte LG (2011) Microbial diversity of active layer and permafrost in an acidic wetland from the Canadian High Arctic. *Can J Microbiol* 57:303–315. <https://doi.org/10.1139/w11-004>
- 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
- Wingender J, Neu TR, Flemming H-C (1999) What are bacterial extracellular polymeric substances? In: Wingender J, Neu TR, Flemming HC (eds) *Microbial Extracellular Polymeric Substances*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 1–19
- Woo S, Cui Y, Kang M, et al (2012) *Georgenia daeguensis* sp. nov., isolated from 4-chlorophenol enrichment culture. *Int J Syst Evol Microbiol* 62:1703–1709. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.033217-0>
- Wood AP, Kelly DP (1988) Isolation and physiological characterisation of *Thiobacillus aquaesulis* sp. nov., a novel facultatively autotrophic moderate thermophile. *Arch Microbiol* 149:339–343.

<https://doi.org/10.1007/BF00411653>

- Wu X, Xu H, Liu G, et al (2017) Bacterial communities in the upper soil layers in the permafrost regions on the Qinghai-Tibetan plateau. *Appl Soil Ecol* 120:81–88. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.08.001>
- Xu J, He J, Wang Z, et al (2007) *Rhodococcus qingshengii* sp. nov., a carbendazim-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 57:2754–2757. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65095-0>
- Xu L, Luo M, Jiang C, et al (2012) In vitro reduction of hexavalent chromium by cytoplasmic fractions of *Pannonibacter phragmitetus* LSSE-09 under aerobic and anaerobic conditions. *Appl Biochem Biotechnol* 166:933–941. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9481-y>
- Yamada T, Imachi H, Ohashi A, et al (2007) *Bellilinea caldifistulae* gen. nov., sp. nov. and *Longilinea arvoryzae* gen. nov., sp. nov., strictly anaerobic, filamentous bacteria of the phylum Chloroflexi isolated from methanogenic propionate-degrading consortia. *Int J Syst Evol Microbiol* 57:2299–2306. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65098-0>
- Yamada T, Sekiguchi Y, Hanada S, et al (2006) *Anaerolinea thermolimos* sp. nov., *Levilinea saccharolytica* gen. nov., sp. nov. and *Leptolinea tardivitalis* gen. nov., sp. nov., novel filamentous anaerobes, and description of the new classes Anaerolineae classis nov. and Caldilineae classis nov. in the. *Int J Syst Evol Microbiol* 56:1331–1340. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64169-0>
- Yanez-Montalvo A, Águila B, Gómez-Acata S, et al (2020) Depth related structure and microbial composition of microbialites in a karst sinkhole, Cenote Azul, Mexico. *Geomicrobiol J* 0:1–15. <https://doi.org/10.1080/01490451.2020.1836086>
- Yang H, Hu J, Long X, et al (2016) Salinity altered root distribution and increased diversity of bacterial communities in the rhizosphere soil of Jerusalem artichoke. *Nat Sci Reports* 6:20687. <https://doi.org/10.1038/srep20687>
- Yang T, Lyons S, Aguilar C, et al (2011) Microbial communities and chemosynthesis in Yellowstone Lake sublacustrine hydrothermal vent waters. *Front Microbiol* 2:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00130>
- Yang Y, Li Y, Sun Q (2014) Archaeal and bacterial communities in acid mine drainage from metal-rich abandoned tailing ponds, Tongling, China. *Trans Nonferrous Met Soc China* 24:3332–3342. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(14\)63474-9](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(14)63474-9)
- Yoon J-H, Kang S-J, Jung Y-T, Oh T-K (2009) *Psychroflexus salinarum* sp. nov., isolated from a marine solar saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 59:2404–2407. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.008359-0>
- Yoon J-H, Kang S-J, Schumann P, Oh T-K (2010) *Jeotgalibacillus salarius* sp. nov., isolated from a marine saltern, and reclassification of *Marinibacillus marinus* and *Marinibacillus campisalis* as *Jeotgalibacillus marinus* comb. nov. and *Jeotgalibacillus campisalis* comb. nov., respectively. *Int J Syst Evol Microbiol* 60:15–20. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.008318-0>
- Yoon J-H, Lee K-C, Kho YH, et al (2002) *Halomonas alimentaria* sp. nov., isolated from jeotgal, a traditional Korean fermented seafood. *Int J Syst Evol Microbiol* 52:123–130. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-1-123>
- Yoon J-H, Yeo S-H, Kim I-G, Oh T-K (2004) *Marinobacter flavimaris* sp. nov. and *Marinobacter daepoensis* sp. nov., slightly halophilic organisms isolated from sea water of the Yellow Sea in Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:1799–1803. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63151-0>
- Yoon JH, Weiss N, Kang KH, et al (2003) *Planococcus maritimus* sp. nov., isolated from sea water of a tidal flat in Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 53:2013–2017. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02557-0>
- Yoon SH, Ha SM, Kwon S, et al (2017) Introducing EzBioCloud : A taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. *67:1613–1617*. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001755>
- Yumoto I (2002) Bioenergetics of alkaliphilic *Bacillus* spp. *J Biosci Bioeng* 93:342–353.

[https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(02\)80066-4](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(02)80066-4)

- Yumoto I, Hirota K, Goto T, et al (2005) *Bacillus oshimensis* sp. nov., a moderately halophilic, non-motile alkaliphile. *Int J Syst Evol Microbiol* 55:907–911. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63488-0>
- Yumoto I, Yamaga S, Sogabe Y, et al (2003) *Bacillus krulwichiae* sp. nov., a halotolerant obligate alkaliphile that utilizes benzoate and m-hydroxybenzoate. *Int J Syst Evol Microbiol* 53:1531–1536. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02596-0>
- Yun Y, Cheng X, Wang W, Wang H (2018) Seasonal variation of bacterial community and their functional diversity in drip water from a karst cave. *Chinese Sci Bull* 63:3932–3944
- Zahrán HH (1997) Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in saline environments. *Biol Fertil Soils* 25:211–223
- Zalatnai M, Körmöczi L, Tóth T (2007) Community boundaries and edaphic factors in saline-sodic grassland communities along an elevation gradient. *Tiscia* 36:7–15
- Zavarzina DG, Tourova TP, Kolganova T V., et al (2009) Description of *Anaerobacillus alkalilacustre* gen. nov., sp. nov.—Strictly anaerobic diazotrophic bacillus isolated from soda lake and transfer of *Bacillus arseniciselenatis*, *Bacillus macyae*, and *Bacillus alkalidiazotrophicus* to *Anaerobacillus* as the new combinations *A. arseniciselenatis* comb. nov., *A. macyae* comb. nov., and *A. alkalidiazotrophicus* comb. nov. *Microbiology* 78:723–731. <https://doi.org/10.1134/S0026261709060095>
- Zeikus JG, Dawson MA, Thompson TE, et al (1983) Microbial ecology of volcanic sulphidogenesis: Isolation and characterization of *Thermodesulfobacterium commune* gen. nov. and sp. nov. *Microbiology* 129:1159–1169. <https://doi.org/10.1099/00221287-129-4-1159>
- Zhai L, Liao T, Xue Y, Ma Y (2012) *Bacillus daliensis* sp. nov., an alkaliphilic, Gram-positive bacterium isolated from a soda lake. *Int J Syst Evol Microbiol* 62:949–953. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.031575-0>
- Zhai L, Ma Y, Xue Y, Ma Y (2014) *Bacillus alkalicola* sp. nov., an alkaliphilic, Gram-Positive bacterium isolated from Zhabuye Lake in Tibet, China. *Curr Microbiol* 69:311–316. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0576-x>
- Zhang CL, Ye Q, Huang Z, et al (2008) Global occurrence of archaeal amoA genes in terrestrial hot springs. *Appl Environ Microbiol* 74:6417–6426. <https://doi.org/10.1128/AEM.00843-08>
- Zhang D-C, Wang H-X, Cui H-L, et al (2007) *Cryobacterium psychrotolerans* sp. nov., a novel psychrotolerant bacterium isolated from the China No. 1 glacier. *Int J Syst Evol Microbiol* 57:866–869. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64750-0>
- Zhang H, Sekiguchi Y, Hanada S, et al (2003) *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating microorganism, the first cultured representative of the new bacterial phylum Gemmatimonadetes phyl. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 53:1155–1163. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02520-0>
- Zhang W, Xue Y, Ma Y, et al (2002) *Marinospirillum alkaliphilum* sp. nov., a new alkaliphilic helical bacterium from Haoji soda lake in Inner Mongolia Autonomous Region of China. *Extremophiles* 6:33–37. <https://doi.org/10.1007/s007920100219>
- Zhao W, Song Z, Jiang H, et al (2011) Ammonia-oxidizing archaea in Kamchatka hot springs. *Geomicrobiol J* 28:149–159. <https://doi.org/10.1080/01490451003753076>
- Zhilina TN, Zavarzin G a, Rainey F, et al (1996) *Spirochaeta alkalica* sp. nov., *Spirochaeta africana* sp. nov., and *Spirochaeta asiatica* sp. nov., alkaliphilic anaerobes from the continental soda lakes in Central Asia and the East African Rift. *Int J Syst Bacteriol* 46:305–312. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-1-305>
- Zhilina TN, Zavarzina DG, Kuever J, et al (2005) *Desulfonatronum cooperativum* sp. nov., a novel hydrogenotrophic, alkaliphilic, sulfate-reducing bacterium, from a syntrophic culture growing on acetate. *Int J Syst Evol Microbiol* 55:1001–1006. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63490-0>

- Zhong Z-P, Liu Y, Liu H-C, et al (2015) *Marinobacter halophilus* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from a salt lake. *Int J Syst Evol Microbiol* 65:2838–2845. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000338>
- Zhou Y, Jiang T, Hu S, et al (2017) Genomic insights of *Pannonibacter phragmitetus* strain 31801 isolated from a patient with a liver abscess. *MicrobiologyOpen* 6:e00515. <https://doi.org/10.1002/mbo3.515>
- Zhu HZ, Zhang ZF, Zhou N, et al (2019) Diversity, distribution and co-occurrence patterns of bacterial communities in a karst cave system. *Front Microbiol* 10:1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01726>
- Ziegler S, Waidner B, Itoh T, et al (2013) *Metallibacterium scheffleri* gen. nov., sp. nov., an alkalinizing gammaproteobacterium isolated from an acidic biofilm. *Int J Syst Evol Microbiol* 63:1499–1504. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.042986-0>
- Zillig W, Gierl A, Schreiber G, et al (1983) The archaebacterium *Thermofilum pendens* represents, a novel genus of the thermophilic, anaerobic sulfur respiring Thermoproteales. *Syst Appl Microbiol* 4:79–87. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(83\)80035-6](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(83)80035-6)

Internetes hivatkozások

- [1] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=Pannonibacter>
- [2] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=Bacillus>
- [3] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=Anaerobacillus>
- [4] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=Cellulomonas>
- [5] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=Nesterenkonia>
- [6] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=Nitrincola>
- [7] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=Deinococcus>
- [8] <https://atacama.expedicio.eu/hu/>

11.FÜGGELÉK

11.1. Függelék táblázatok

11.1-1. táblázat A kutatások során a tudományra nézve új fajként leírt baktériumtörzsek legfontosabb fenotípusos és genotípusos taxonómiai tulajdonságai

	<i>Pannonibacter phragmitetus</i> gen. nov., sp. nov. (Borsodi és mtsai 2003a)	<i>Bacillus aurantiacus</i> sp. nov. (Borsodi és mtsai 2008)	<i>Bacillus alkaliseditinis</i> sp. nov. (Borsodi és mtsai 2011)	<i>Bacillus kiskunsagensis</i> sp. nov. (Borsodi és mtsai 2017c)	<i>Anaerobacillus alkalphilus</i> sp. nov. (Borsodi és mtsai 2019)	<i>Cellulomonas phragmiteti</i> sp. nov. (Buzsnyák és mtsai 2011)	<i>Nesterenkonia pannonica</i> sp. nov. (Borsodi és mtsai 2017b)	<i>Nitrincola alkilacustris</i> sp. nov. (Borsodi és mtsai 2017a)		<i>Deinococcus budaensis</i> sp. nov. (Malk és mtsai 2016)	<i>Deinococcus fonticola</i> sp. nov. (Malk és mtsai 2019)
Taxonómiai besorolás	Proteobacteria	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes	Actinobacteria	Actinobacteria	Proteobacteria		Deinococcus-Thermus	
Típus törzs jelzése	C6/19 ^T	K1-5 ^T	K1-25 ^T	B16-24 ^T	B16-10 ^T	KB23 ^T	BV-35 ^T	ZV-19 ^T		FeSTC15-38 ^T	FeSDHB5-19 ^T
Törzsvyjteményi azonosító (NCAIM)	B.02025 ^T	B.002265 ^T	B.02301 ^T	B.02610 ^T	B.02608 ^T	B.02303 ^T	B.02606 ^T	B.02612 ^T		B.02630 ^T	B.02639 ^T
Törzsvyjteményi azonosító (DSM)	14782 ^T	18675 ^T	21670 ^T	29791 ^T	29790 ^T	22512 ^T	29786 ^T	29817 ^T		101791 ^T	106917 ^T
GenBank azonosító	AJ400704	AJ605773	AJ606037	LN610501	LN610499	AM902253	LN610504	LN650603		LN864925	LT853728
Származási hely	Fertő	Kelemen-szék	Kelemen-szék	Bóddi-szék	Bóddi-szék	Kelemen-szék	Bóddi-szék	Zab-szék		BTKS	BTKS
Minta típusa	bomló nádrizóma	üledék	üledék	rizoszféra	rizoszféra	perfiton	water	water		karstt biofilm	karstt biofilm
Növényi asszociáció	<i>Phragmites australis</i>			<i>Bolboschoenus maritimus</i>	<i>Bolboschoenus maritimus</i>	<i>Phragmites australis</i>					
Táptalaj	DSMZ-940	DSMZ-246*	DSMZ-246*	DSMZ-940	DSMZ-830*	KingB*	DSMZ-830*	DSMZ-830*		DSMZ-803	DSMZ-803
Telep színe	krémfehér	narancssárga	barnásfehér	krémfehér	krémfehér	sárgás-narancs	narancssárga	krémfehér		halvány rózsaszín	halvány rózsaszín
Gram-reakció	-	+	+	+	+	+	+	-		-	-
Sejt alakja	pálca	pálca	pálca	pálca	pálca	pálca	kokkoidális pálca	pálca		kokkusz	kokkusz
Sejt mérete (µm)	2,0-4,0 x 0,3-0,6	3,2-4,5 x 0,8-1,0	2,0-3,0 x 0,8-0,9	1,5-2,5 x 0,5-0,7	2,0-2,5 x 0,5-0,8	1,0-1,5 x 0,4-0,6	0,6-0,8 x 0,4-0,6	1,5-1,8 x 0,5-0,8		1,0-1,8	1,0-2,0
Endospóra	-	+	+	+	+	-	-	-		-	-
Spóra morfológia	-	ST-C/E/ND	C/E/D	C/E/D	T/E/D	-	-	-		-	-
Mozgásképesség	+	-	-	-	+	-	-	+		-	-
Csillózat	poláris	-	-	-	szubpoláris	n.a.	-	poláris		-	-
Kataláz reakció	+	+	+	+	+	+	+	-		+	+
Oxidáz reakció	+	-	-	-	-	-	-	+		-	+
Anaerob növekedés	+	-	-	+	+	+	+	+		-	-
Nitrát-redukció nitrítig	-	-	+	+	+	-	-	+		-	-
Nitrát-redukció nitrogénig	+	-	-	-	-	-	-	-		-	-
Hugh-Leifson glükóz oxidatív teszt	+	-	-	-	-	-	-	-		-	-
Hugh-Leifson glükóz fermentatív teszt	+	-	-	-	-	-	-	-		-	-
Metilvörös reakció	-	-	-	-	-	+	-	-		-	-
Voges-Proskauer reakció	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-
Hidrolitikus képesség											
Arginin	+	n.a.	-	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.	n.a.
Cellulóz	-	n.a.	+	n.a.	n.a.	+	+	n.a.		n.a.	n.a.
Eszkulin	-	-	-	-	-	+	+	-		-	+
Kazein	-	-	-	-	-	+	-	-		-	+
Keményítő	-	-	-	-	-	+	-	-		-	-
Tween 80	-	-	+	-	+	+	-	-		-	-
Zselatin	-	-	+	-	+	+	-	+		+	+
Tirozin bontás	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	+		n.a.	n.a.
Fenilalanin dezamináz	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	-		n.a.	n.a.
Kénhidrogén képzés ciszteiból	-	-	-	-	-	-	-	-		-	+
Indol képzés triptofánból	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-
Ureáz aktivitás	+	-	-	-	-	+	+	-		-	-
Foszfátáz aktivitás	+	-	-	-	+	-	-	-		-	+
Citrát hasznosítás	+	-	-	-	-	-	-	-		-	-
Hőmérsékleti tartomány (°C)	10-37	10-45	15-37	10-40	10-40	15-37	10-40	10-37		20-37	10-32
Hőmérsékleti optimum (°C)	22-28	28	25-28	25-28	25-28	25	25-28	20-28		28	28
NaCl (mV) tolerancia tartomány	0-5	0-15	2-12	5-10	0-7	2-7	0-15	0-10		0-1	0-1,5
NaCl (mV) optimum	2,5	3-7	5	5-7	5	5	5-7	0-7		0	0-0,5
pH tolerancia tartomány	7,0-11,0	8,0-12,0	7,0-12,0	7,0-12,0	7,0-11,0	7,0-9,0	6,0-12,0	7,0-11,0		6,0-9,0	5,0-10,0
pH optimum	9,0-10,0	9,5-10,0	9,0-11,0	9,0-10,0	9,0-10,0	8,0	9,0-10,0	8,0-9,0		7,0	6,5-7,5
Gamma sugárzás rezisztencia (kGy)	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		D ₁₀ <3,0	D ₁₀ <8,0
UV sugárzás rezisztencia (J m ⁻²)	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.	D ₁₀ ~800
Fő légzési kinon	Q-10	MK-7	MK-7	MK-7	MK-7	MK-9(H4)	MK-7	Q-8		MK-8	MK-8
Domináns celluláris zsírsav	C _{18:1ω7c}	anteizo-C _{15:0}	anteizo-C _{15:0} izo-C _{15:0}	anteizo-C _{15:0}	anteizo-C _{15:0}	anteizo-C _{15:0} C _{16:0}	anteizo-C _{15:0} anteizo-C _{17:0}	C _{18:1ω7c}		izo-C _{16:0} C _{16:1ω7c}	C _{16:0} C _{16:1ω7c}
DNS+G arány (mol%)	64,6	42,9	39,0	36,6	35,8	74,8	65,4	54,5		68,2	60,9

Rövidítések: n.a., nincs adat; *, módosított; C, centrális; ST, szubterminális; T, terminális; E, ellipszoid; D, deformálód; ND, nem deformálód; MK, menaki non; Q, ubikinin

11.1-2. táblázat A TO-tározó vízének fizikai és kémiai tulajdonságai a mintavételek időpontjában (átlag±szórás; n=5)

Vizgálat időpontja	Therm-Organ-tó					
	2010/03	2010/07	2010/09	2011/03	2011/07	2011/09
Vízmélység (cm)	42,50 ± 3,54	137,50 ± 3,54	170,00 ± 0,00	40,50 ± 0,71	120,00 ± 0,00	160,00 ± 14,14
Secchi átlátszóság (cm)	22,50 ± 10,61	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	12,50 ± 3,54	5,00 ± 0,00	4,50 ± 0,71
Víz hőmérséklet (°C)	15,90 ± 3,25	27,65 ± 1,20	19,75 ± 2,62	14,45 ± 3,85	26,70 ± 2,13	22,73 ± 0,78
pH	8,72 ± 0,01	8,86 ± 0,04	9,04 ± 0,03	8,77 ± 0,01	9,27 ± 0,08	9,28 ± 0,02
Oldott oxigéntartalom (mg l ⁻¹)	0,09 ± 0,08	1,08 ± 0,54	1,02 ± 0,20	1,27 ± 0,11	1,04 ± 0,17	1,12 ± 0,35
Oxigén telítettség (%)	0,90 ± 0,85	13,80 ± 6,79	11,45 ± 2,62	13,45 ± 3,32	13,45 ± 1,91	13,05 ± 4,31
Redoxpotenciál (mV)	46,40 ± 23,48	-114,85 ± 0,35	46,15 ± 1,06	58,80 ± 0,11	-139,40 ± 0,01	-12,00 ± 8,06
Fajlagos elektromos vezetőképesség (mS cm ⁻¹)	4,00 ± 0,21	4,65 ± 0,01	4,56 ± 0,02	4,19 ± 0,11	5,76 ± 0,01	5,77 ± 0,04
KOI (mg l ⁻¹)	637,00 ± 206,48	402,00 ± 32,53	437,5 ± 33,23	382,00 ± 97,58	206,00 ± 8,49	270,00 ± 19,80
BOI (mg l ⁻¹)	374,00 ± 304,06	54,95 ± 19,87	64,80 ± 27,86	434,50 ± 109,60	128,00 ± 0,00	227,00 ± 39,60
NH ₄ ⁺ (mg l ⁻¹)	6,37 ± 4,43	0,29 ± 0,10	0,36 ± 0,35	5,57 ± 2,43	0,06 ± 0,03	0,03 ± 0,00
NO ₂ ⁻ (mg l ⁻¹)	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,13 ± 0,00	0,15 ± 0,07	0,10 ± 0,00
NO ₃ ⁻ (mg l ⁻¹)	k.h.a.	0,22 ± 0,00	k.h.a.	0,19 ± 0,00	0,20 ± 0,00	k.h.a.
Összes nitrogén (mg l ⁻¹)	10,44 ± 3,05	10,90 ± 0,14	11,95 ± 0,07	9,57 ± 0,43	12,30 ± 0,85	13,40 ± 0,14
PO ₄ ³⁻ (mg l ⁻¹)	0,05 ± 0,00	0,49 ± 0,43	0,06 ± 0,00	0,24 ± 0,13	0,13 ± 0,08	0,43 ± 0,00
Összes foszfor (mg l ⁻¹)	0,26 ± 0,08	0,65 ± 0,21	0,50 ± 0,01	0,35 ± 0,05	0,59 ± 0,00	0,50 ± 0,01
Összes fenol (mg l ⁻¹)	4,07 ± 1,96	0,95 ± 0,16	1,46 ± 0,58	4,19 ± 1,43	1,93 ± 0,12	2,12 ± 0,18

Rövidítések: k.h.a., kimutatási határ alatt

11.1-3. táblázat Az apajpusztai (KNP) különböző növénytársulású talajainak fizikai és kémiai tulajdonságai júniusban (06) és szeptemberben (09) (átlag±szórás; n=3)

Minta azonosító	Vakszik		Szikfok		Ürmös puszta		Füves szikespuszta	
	AL-06	AL-09	AP-06	AP-09	AA-06	AA-09	AF-06	AF09
pH _{H2O}	10,3±0,1	10,3±0,1	8,9±0,6	9,5±0,2	8,3±0,3	9,9±0,1	7,4±0,2	8,0±0,2
Fajlagos elektromos vezetőképesség (μS cm ⁻¹)	3800±834	2147±114	1196±220	1131±46,5	562±202	592±28,7	325±35,7	284±22,9
Sótartalom (%)	0,55±0,23	0,25±0,02	0,14±0,03	0,13±0,01	0,05±0,04	0,13±0,02	<0,02	<0,02
C _{szerves} (%)	0,4±0,1	0,3±0,0	1,3±0,3	0,6±0,1	1,7±0,3	1,1±0,2	2,6±0,2	1,6±0,5
CaCO ₃ (%)	22,3±4,1	20,9±3,0	23,2±0,7	22,5±1,0	12,5±4,2	12,5±0,9	15,9±2,9	15,6±2,2

11.1-4. táblázat A kutatások során a különböző mintavételi helyekről származó mintákból 16S rRNS gén alapú amplikon-szekvenálással nyert baktérium OTU-k száma, a diverzitás és fajszám becslő index értékekkel

Mintavételi hely	Minta jelzése	Szekvencia szám	Good's lefedettség	OTU szám	Chao1	ACE	Inverz Simpson	Hivatkozás
Apajpuszta (Kiskunsági Nemzeti Park)	AL-06	4493	99,89%	366	429,1	431,0	55,9	Borsodi és mtsai 2021
	AP-06	4580	99,80%	417	497,2	500,8	17,2	
	AA-06	3144	99,87%	669	721,0	722,3	242,7	
	AF-06	3350	99,70%	707	775,1	778,5	235,3	
	AL-09	3571	99,69%	382	447,3	451,2	86,9	
	AP-09	2658	99,74%	520	543,1	545,6	69,1	
	AA-09	5958	99,97%	624	855,0	855,7	173,6	
	AF-09	2066	99,18%	618	618,3	624,5	265,7	
Molnár János-barlang (BTK)	MIC	46804	99,97%	1836	1883,0	1886,4	40,8	Borsodi és mtsai 2022
	MJW	43988	99,95%	1167	1190,1	1195,4	7,3	
	MJM	66811	99,97%	1452	1556,4	1560,5	10,4	
	MJB	36737	99,97%	1041	1042,2	1045,0	37,6	
	MJD	40367	99,95%	1784	1796,7	1081,5	86,5	
Rudas Diana-Hygieia-forrás (BTK)	DHC	2837	99,57%	124	155	–	35,5	Enyedí és mtsai 2019
	DHB	906	98,78%	109	111	–	29,5	
Rudas Török-forrásbarlang (BTK)	RTC	1858	98,22%	160	227	–	9,6	Anda és mtsai 2020
	RTB	2540	99,48%	159	197	–	32,1	
	RTW	6536	–	46	59	65	1,1	
	03 hét	2954	–	143	162	173	17,1	
	06 hét	9010	–	176	240	266	10,5	
	09 hét	5986	–	198	260	273	17,4	
	12 hét	7291	–	172	243	265	17,4	
	15 hét	13152	–	190	269	287	14,1	
	18 hét	8225	–	193	273	320	17,8	
	21 hét	8555	–	199	288	360	14,6	
	24 hét	5102	–	204	263	302	18,3	
	27 hét	4800	–	202	253	266	18,9	
	30 hét	8352	–	216	311	351	25,6	
1 év	3431	–	187	213	222	23,7		
Hévíz-tó "Amphora" forrásbarlang	LHC	80834	99,99%	170	198,0	198,6	2,1	Borsodi és mtsai 2022
	LHW	51193	99,97%	1073	1094,6	1097,9	29,1	
	LHM	64974	99,99%	717	747,1	748,3	33,4	
	LHB	99628	100,0%	488	562,0	562,0	2,7	
	LHD	34495	99,98%	1855	1855,0	1856,5	65,3	
Laguna Santa Rosa 3700 m tszf. (Ojos del Salado, Chile)	SRS1	1563	–	221	299,6	346,9	82,1	Borsodi és mtsai 2022
	SRS2	1131	–	206	246,1	270,3	72,1	
	SRS3	747	–	118	120,7	127,0	23,0	
	SRS4	1013	–	154	175,3	193,5	41,0	
Laguna Verde 4350 m tszf. (Ojos del Salado, Chile)	LVM1	1068	–	110	128,5	138,7	26,1	Borsodi és mtsai 2022
	LVM2	868	–	104	111,1	116,8	30,6	
	LVM3	1314	–	130	165,8	192,6	23,8	
	LVM4	759	–	131	136,5	144,2	11,9	
Permafroszt olvadéktó 5900 m tszf. (Ojos del Salado, Chile)	F1	94052	100,0%	218	–	–	6,6	Aszalós és mtsai 2020b
	S7 (NVC)	90765	100,0%	729	–	–	35,0	
	S8	50915	100,0%	681	–	–	97,1	
	S9	24372	99,90%	505	–	–	46,9	
	S10	81372	100,0%	839	–	–	124,0	
	S11	57257	100,0%	658	–	–	68,7	
	S12	48520	100,0%	623	–	–	38,8	
Krátertó 6480 m tszf. (Ojos del Salado, Chile)	LS	40182	100,0%	136	–	–	6,6	Aszalós és mtsai 2020a
	FC-1	51336	100,0%	168	–	–	7,9	
	FC-2	60391	100,0%	112	–	–	9,7	

11.1-5. táblázat Termálfürdőket ellátó kutak és energetikai célra hasznosított dél-alföldi termálkutak hévizének fizikai és kémiai tulajdonságai
(átlag±szórás; n=3)

Vizgálat időpontja	Harkány VI. 2007-2008	Városliget II. 2012/12	Szarvas SZR18 2012/03	Szarvas K87 2012/03	Szarvas SZR21 2013/09
Víz hőmérséklet (°C)	61,8±0,6	73,7	95	96	93
pH	7,0±0,1	6,2	8,3	8,5	7,9
Redoxpotenciál (mV)	-340±0	-290	n.a.	n.a.	n.a.
Fajlagos elektromos vezetőképesség ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	1080±68	1655	3980	3770	4270
KOI (mg l^{-1})	n.a.	n.a.	819	768	1060
BOI (mg l^{-1})	n.a.	n.a.	534	584	494
TOC (mg l^{-1})	1,8±0,1	1,7	n.a.	n.a.	n.a.
TIC (mg l^{-1})	n.a.	78,2	n.a.	n.a.	n.a.
Bikarbonát (mg l^{-1})	532±34	n.a.	2789	2845	2965
S^{2-} (mg l^{-1})	11,1±1,7	12,0	n.a.	n.a.	n.a.
SO_4^{2-} (mg l^{-1})	25±4,2	215,3	60,9	54,5	62,7
NH_4^+ (mg l^{-1})	n.a.	0,16	16,2	15,3	17,7
NO_2^- (mg l^{-1})	k.h.a.	k.h.a.	k.h.a.	k.h.a.	k.h.a.
NO_3^- (mg l^{-1})	k.h.a.	k.h.a.	k.h.a.	k.h.a.	k.h.a.
Összes nitrogén (mg l^{-1})	n.a.	0,7	13,5	13,4	14,6
PO_4^{3-} (mg l^{-1})	n.a.	n.a.	k.h.a.	0,18	0,20
Fe^{2+} (mg l^{-1})	n.a.	0,17	0,06	0,12	0,09
Cl^- (mg l^{-1})	n.a.	170,4	179	81,3	238
Összes fenol (mg l^{-1})	n.a.	n.a.	9,19	10	9,79

Rövidítések: n.a., nincs adat; k.h.a., kimutatási határ alatt

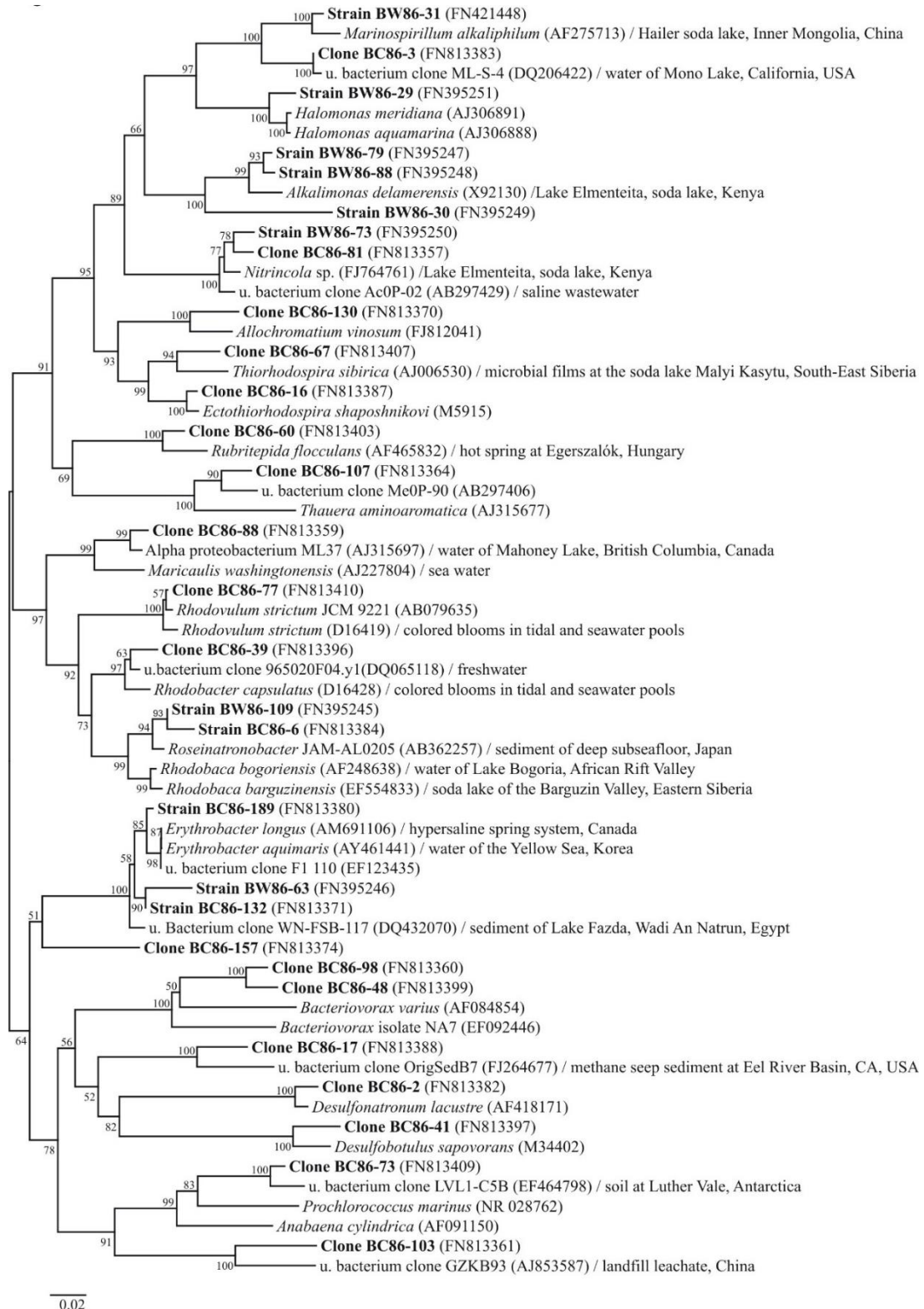
11.1-6. táblázat A Budai-termálkarszt déli megcsapolódási területéről és a Molnár János-barlangból, valamint a Hévízi-tó forrásbarlangjából származó vízminták fizikai és kémiai tulajdonságai a mintavétel időpontjában

Vizsgálat időpontja	Rác-Nagyforrás	R-T forrás		D-H forrás		G-O forrás	Molnár János-barlang			Hévízi-tó forrásbarlang			
	2012/12	2012/12	2015/10	2012/12	2015/10	2012/12	2012/12	2014/01 (H)	2014/01 (M)	2014/01 (K)	2015/06 (H)	2015/06 (M)	2015/06 (K)
Víz hőmérséklet (°C)	37,6	38,7	37,7	29,1	31,6	29,6	20,1	17,8	25,2	23,6	24,3	39,7	30,1
pH	6,7	6,8	6,6	7,0	6,7	7,0	6,9	7,0	6,7	6,6	7,5	7,6	7,1
Fajlagos elektromos vezetőképesség ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	1735	1715	1508	1708	1767	1808	1006	730	879	852	789	748	742
TOC (mg l^{-1})	1,1	0,8	3,0	6,4	k.h.a	2,0	1,4	k.h.a	k.h.a	k.h.a	k.h.a.	k.h.a.	2,8
TIC (mg l^{-1})	76,0	130,0	n.a.	70,0	n.a.	83,0	49,6	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
KOI (mg l^{-1})	k.h.a	k.h.a	k.h.a	k.h.a	k.h.a	k.h.a	k.h.a	k.h.a	k.h.a	k.h.a	n.a.	n.a.	n.a.
NH_4^+ (mg l^{-1})	k.h.a	0,06	0,19	k.h.a	k.h.a	0,14	k.h.a	k.h.a	k.h.a	0,44	0,1	0,2	0,3
NO_2^- (mg l^{-1})	k.h.a	0,076	k.h.a	0,011	k.h.a	0,017	0,007	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
NO_3^- (mg l^{-1})	k.h.a	k.h.a	k.h.a	k.h.a	1,3	0,5	1,7	2,1	1,7	5,6	k.h.a.	k.h.a.	0,3
Összes nitrogén (mg l^{-1})	0,4	0,4	n.a.	0,4	n.a	0,9	1,8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
SO_4^{2-} (mg l^{-1})	335	350	171	362	167	369	121	144	140	158	94	74	67
Cl^- (mg l^{-1})	114	142	107	122	156	137	37	36	59	44	16	21	24
PO_4^{3-} (mg l^{-1})	k.h.a	1,42	k.h.a	0,09	k.h.a	0,01	k.h.a	0,08	k.h.a	k.h.a	k.h.a.	k.h.a.	2,8
Fe^{2+} (mg l^{-1})	0,17	0,04	k.h.a	0,18	k.h.a	0,08	0,08	k.h.a	k.h.a	k.h.a	0,02	0,03	k.h.a.
Rn (Bq l^{-1})	n.a	n.a	600±21	n.a.	1006±45	n.a.	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a.	n.a.	n.a.

Rövidítések: R-T, Rudas-Török; D-H, Diana-Hygieia; G-O, Gellért Ősforrás;

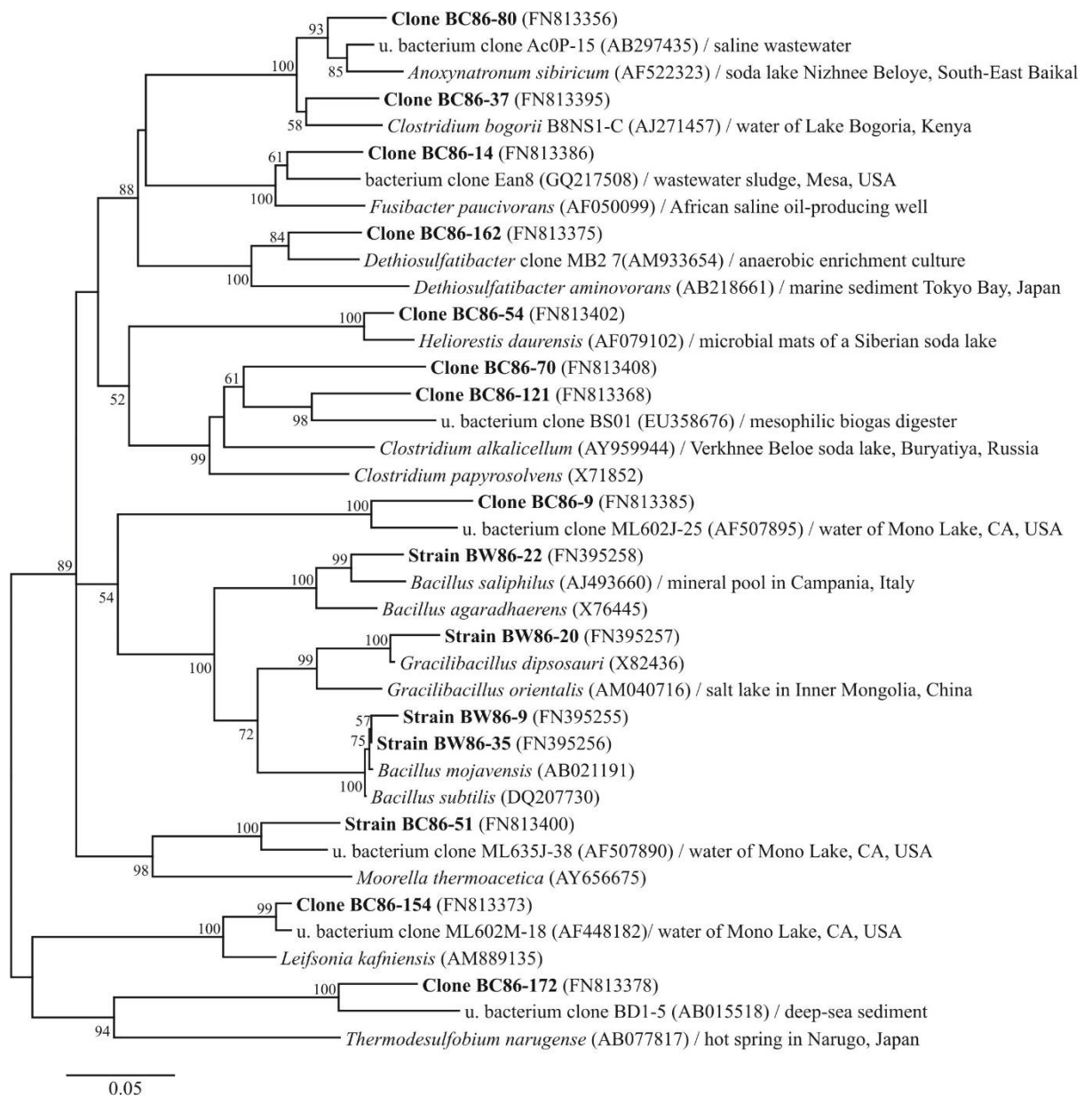
H, hideg vízi forrás; M, meleg vízi forrás; K, kevert termálvíz; n.a., nincs adat; k.h.a., kimutatási határ alatt

11.2. Függelék ábrák



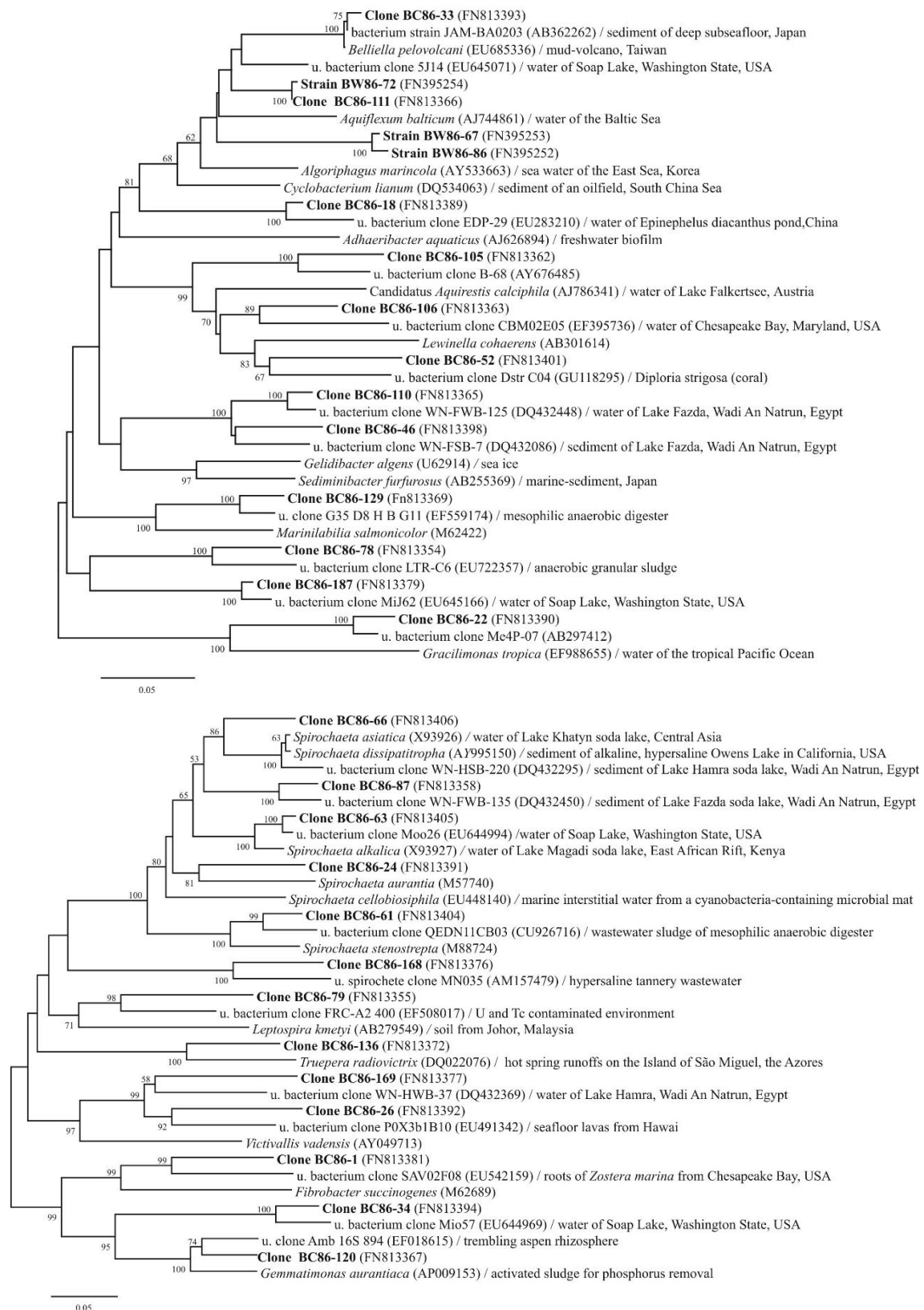
11.2-1. ábra A Böddi-székből származó (félkövérrel jelölt) baktériumtörzsek és molekuláris klónok 16S rRNS gén szekvencia alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon Proteobacteria és Cyanobacteria fajok és környezeti klónok feltüntetésével (Borsodi és mtsai 2013) Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 2 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.

kerine.borsodi.andrea_3_22



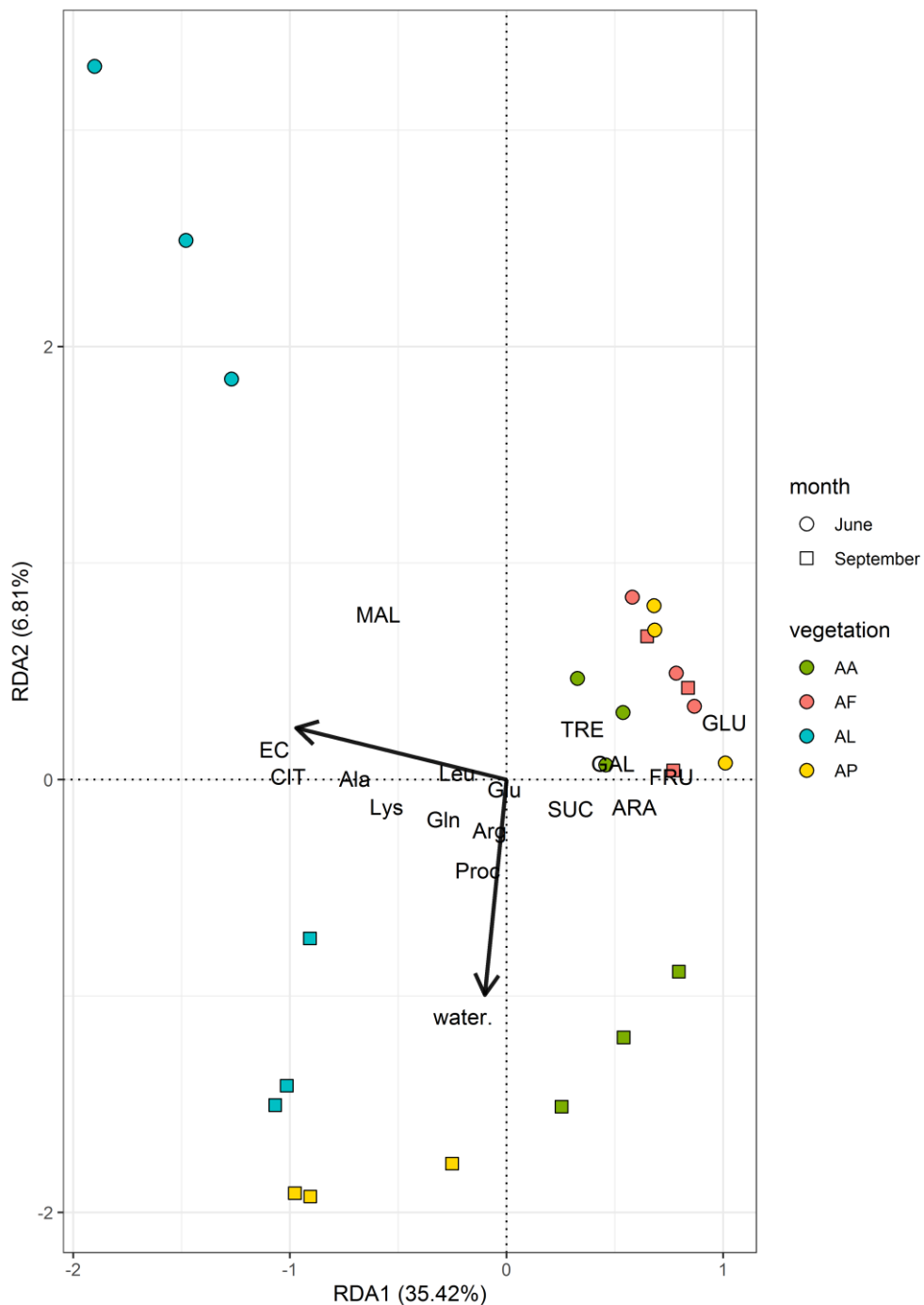
11.2-2. ábra A Böddi-székéből származó (félkövérrel jelölt) baktériumtörzsek és molekuláris klónok 16S rRNS gén szekvencia alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon Firmicutes és Actinobacteria fajok és környezeti klónok feltüntetésével (Borsodi és mtsai 2013) (Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 5 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)

kerine.borsodi.andrea_3_22



11.2-3. ábra A Böddi-székéből származó (félkövérrel jelölt) baktériumtörzsek és molekuláris klónok 16S rRNS gén szekvencia alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon Bacteroidetes (felül) és Spirochaetes és más (alul) fajok és környezeti klónok feltüntetésével (Borsodi és mtsai 2013)

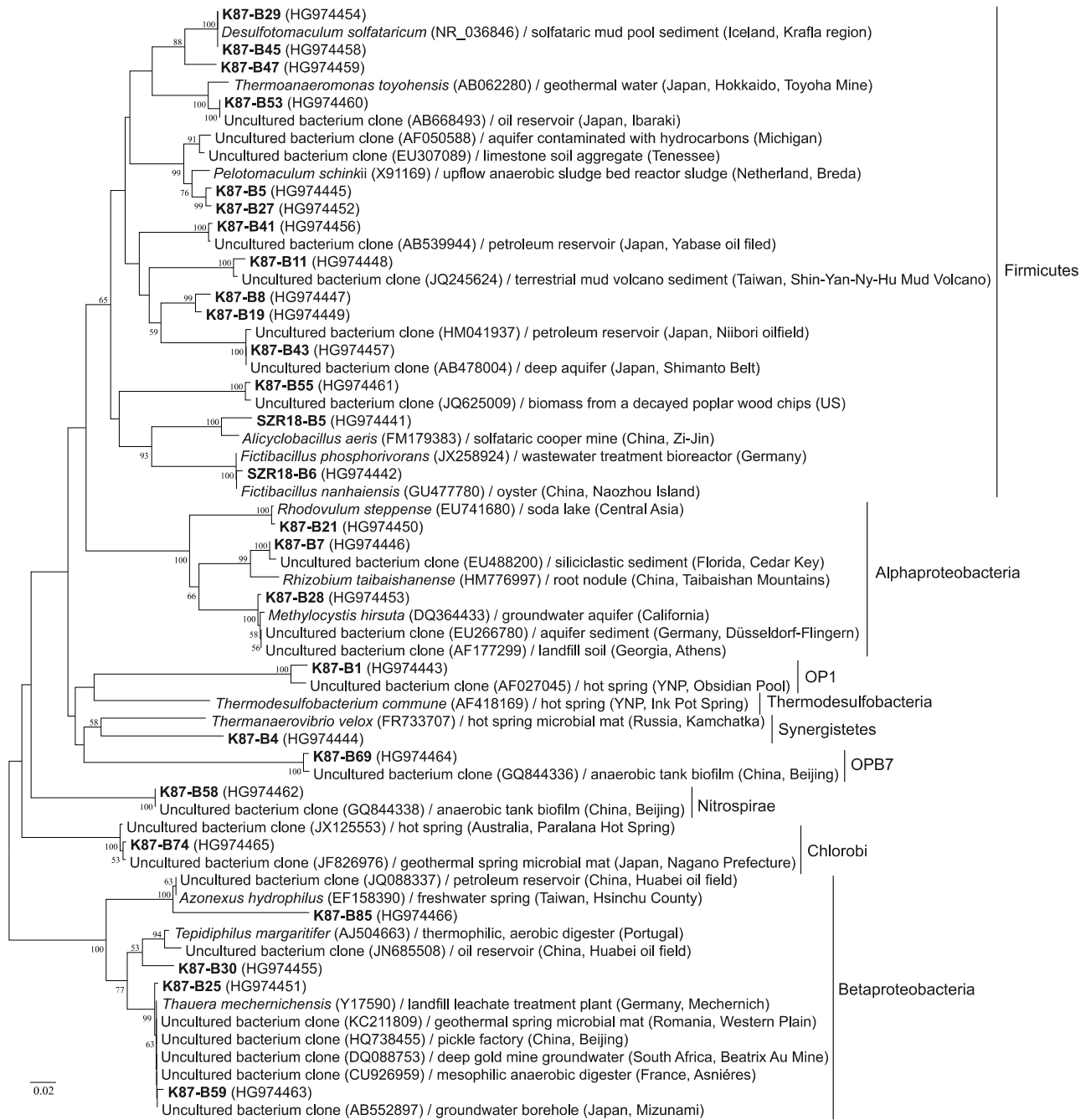
(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 5 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)



11.2-4. ábra Redundancia analízis (RDA) biplot a szikes talajok mikrobaközösségeinek közösségi szénforrás hasznosítása és a környezeti változók közötti összefüggések bemutatására (Borsodi és mtsai 2021)

(A környezeti változókhoz tartozó nyilak hosszát 1,5-szeresre növeltük a jobb láthatóság érdekében. Rövidítések: EC – fajlagos elektromos vezetőképesség, water – talaj víztartalom; Gal – D-galaktóz; Tre – trehalóz; Ara – arabinóz; Glc – D-glükóz; Fru – D-fruktóz; Cit – citromsav; Mal – DL-almasav; Suc – Na-szukcinát; Ala – L-alanine; Lys – L-lizin; Gln – L-glutamin; Leu – L-leucin; Arg – L-arginine; Proc – protokatekuinsav; Glu – L-glutaminsav. Szín- és betűkódok: kék – AL, vakszik; sárga – AP, szikfok; zöld – AA, ürmös puszta; AF, piros – füves szikes puszta.)

kerine.borsodi.andrea_3_22



11.2-5. ábra A Szarvas környéki termáلكutak vizéből nyert (félkövérrel jelölt) molekuláris klónok 16S rRNS gén szekvencia alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon Bacteria taxonok feltüntetésével (Németh és mtsai 2014)
 (Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 2 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)



11.2-6. ábra A Szarvas környéki termáلكutak vizéből nyert (félkövérrel jelölt) molekuláris klónok 16S rRNS gén szekvencia alapú neighbor-joining módszerrel készült törzsfája a legközelebbi rokon Archaea taxonok feltüntetésével (Németh és mtsai 2014)
(Zárójelben a GenBank adatbázisban található szekvenciák azonosítói láthatók. A bootstrap értékek 50% alatt nincsenek feltüntetve. A méretvonal 2 nukleotid szubsztitúciót jelöl 100 nukleotidonként.)