



Szegedi Tudományegyetem  
Biotechnológiai Tanszék  
**Prof. Dr. Kovács L. Kornél** Professor Emeritus  
6726 Szeged, Közép fasor 52.  
Tel: (62) 546 930, Fax: (62) 544 352  
E-mail: kovacs.kornel@bio.u-szeged.hu

---

### Opponensi vélemény

## ***Kériné Dr. Borsodi Andrea „Szélsőséges környezeti paraméterekhez alkalmazkodott extremofil prokariota közösségek taxonómiai és anyagcsere sokfélesége”***

**című MTA doktori értekezéséről**

Kériné Dr. Borsodi Andrea MTA doktori értekezése elismerésre méltó, több évtizedes, jelentős tudományos munka összefoglalása, kritikai észrevételeim, kérdéseim javító szándékúak a kutatási program további fejlesztése érdekében.

Bírálatomat három témakör szerint csoportosítom: 1. Az értekezés formája. 2. Az értekezés tartalma és főbb tudományos eredményei. 3. A munka tudományos és gyakorlati kihatásai.

#### Az értekezés formája

Az értekezés 184 oldal terjedelmű, ami manapság hosszúnak tekinthető. A szerző az eredményeinek többségét elismert folyóiratokban közölte, így ez a terjedelem kicsit indokolatlannak tűnik. Ugyanakkor már első áttekintés során is feltűnő, hogy a klasszikus mikrobiológiai munkák ismertetésén túlmenően, modernebb, metagenom szekvenálási módszerekkel végzett vizsgálatok leírása és főleg az eredmények szakszerű kiértékelése elnagyolt.

Formai, dolgozat felépítéséhez tartozó kritikai megjegyzést érdemel a szokatlanul kurtára sikeredett, mindössze 4 oldal terjedelmű "Anyagok és Módszerek" fejezet. A dolgozat lényegében több évtizedes kutatómunkát átölelő életmű szakmai összefoglalása. A 4. Fejezet bevezetőjében a Szerző rögzíti (34. oldal), hogy „...bár a kutatásaink során módszertani fejlesztést nem végeztünk, az értekezés módszertani fejezete betekintést enged az utóbbi két évtizedben, főként a tenyésztéstől független molekuláris biológiai módszerek esetében bekövetkezett rohamos fejlődésbe is.” A munka során nyilvánvalóan választani kellett a klasszikus mikrobiológiai módszerek, tenyésztési technikák, táptalajok gazdag kínálatából, ami a módszertani fejlesztés része kellett legyen. A molekuláris biológiai módszerek pedig az idézet szerint is rohamosan fejlődtek a vizsgált időszakban tehát ezek passzív, tankönyvi alkalmazásáról sem lehetett szó. A szükséges Anyagok és Módszerek fejezet nem mutatja be meggyőzően, hogy az egyes kísérlet sorozatokban alkalmazott módszerek az adott időszakban rendelkezésre álló korszerű eljárásokon alapultak. A tenyésztési kísérletekben eltérő táptalajokat használtak, ami azonban eltérő, zavaró következtetésekhez vezethetett (példa: „Ennek okaként a vizsgálatba vont különböző mintatípusok (víz vs. üledék és talaj), továbbá a

tenyésztéshez használt eltérő összetételű táptalajok jelölhetők meg.” (40. oldal); vagy: „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” (40. oldal)). Magyarázatra szorul, hogy a dolgozatban több helyen hangsúlyozottan anaerob üledék, biofilm mintákat miért aerob tenyésztési körülmények között vizsgáltak, ami nyilvánvalóan félrevezető képet ad az adott mikroba közösség tenyészhető tagjainak összetételéről? Az alkalmazott módszertani stratégiával kapcsolatos tartalmi kérdésekkel alább kicsit részletesen foglalkozom.

A szerző az egyes extrémofil terepi helyszínek szerint tagolja a dolgozatot, ami egyrészt logikusnak tűnik, másrészt azonban hiányoltam a különböző kutatási programok/helyszínek közötti összehasonlító elemzéseket és azokból levonható, mikrobiális ökológiai következtetéseket. A sok évet felölelő, alapos mikrobiológiai munka mintegy féltucat, izgalmasan különleges élőhely mikroba közösségének leírásával foglalkozik anélkül, hogy a számos extrémofil környezet mikroba közösségeinek létére, kialakulására valamiféle általánosítható üzenetet tudna megfogalmazni - feltéve persze, hogy létezik ilyen üzenet. Dicséretes, hogy részletesen tárgyalja az irodalomban hasonló vizsgálatok eredményeivel való összevetéseket. Nyilvánvalóan a fenntartható mikroba közösségek evolúcióját elsősorban a környezeti paraméterek határozzák meg, de izgalmas lett volna például azt megfigyelni, hogy a fontos vagy annak tartott környezeti paraméterek változása milyen átrendeződéseket hoz létre az adott mikroba közösségekben.

Az értekezés stílusa általánosságban megfelelő, bizonyos fejezetekben olvasmányos. Elismerésre méltó, hogy nem teng túl a dolgozatban az angol kifejezések használata. Helyenként azonban értelem zavaró kifejezés vezet félre az olvasó gondolatait, mint például az Irodalmi áttekintés 2.1. fejezetének nyitó mondata: „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.” Egyrészt nem tudjuk, hogy az élet a korai Földi környezetben pontosan hol és milyen körülmények között alakult ki, azaz a korai földi evolúció idején is lehettek olyan izolált területek és vizes élőhelyek, ahol a mai földfelszínre általában jellemző környezeti paraméterek voltak jellemzőek, alkalmas helyszínt szolgáltatva a mikrobiális evolúció számára. Másrészt, a ma ismert mikroflóra is képes olyan extrém körülmények között fennmaradni és virágozni, ami nem „tipikus földi élőhely”. Éppen ez a dolgozat egyik fő üzenete, miszerint különleges körülményekhez alkalmazkodni képes a bioszféra és annak mikroszkópikus tagjai. Utólag nehéz eldönteni, hogy az extrémofil mikrobiotákat „evolúciós maradéknak” vagy a változó környezethez alkalmazkodó, a környezeti paraméterek által kiszelektált mikroba közösségeknek kell-e tekintenünk? Végző soron filozófiai kérdés, hogy a *Homo sapiens* által kellemesnek talált környezet „zord” vagy éppenséggel alkalmas a sokkal nagyobb biodiverzitással rendelkező mikrobiális lakótársaink számára.

Elnagyolt mondatok, kifejezések találhatók a dolgozatban, ha nem is nagy számban. Ilyen például az „atmoszféra” mértékegység használata (7. oldal), ami nem egy SI mértékegység. Hasonlóan pongyola megfogalmazás a 10. oldalon használt „kis  $\text{Ca}^{2+}$ - és  $\text{Mg}^{2+}$ -tartalmú, ...

valamint a „nagy  $\text{Ca}^{2+}$  tartalmú ” kifejezések használata, az eltérő ionkoncentrációk megjelölésére. Kifogásolható a „mérsékelten vagy nagyon lúgos”, tudományos szempontból pontatlan kifejezés (28. oldal) és társai. Ilyen a 19. oldalon található mondat is: „*A permafroszt talajok általában 20-70% jeget és 1-7% fagyott vizet tartalmaznak...*” Mi a különbség a „jég” és a „fagyott víz” között és hogy jön ki az anyagmérleg, mekkora hányada a legjobb esetben is hiányzó 23%-nyi anyagnak a mikrobiális biomassza? Félrevezető helyenként a mikrobiológiai rendszertani kategóriák következetlen alkalmazása. Például az 5.3-7, 5.3-9, 5.4-3, 5-4-7 ábrák aláírásában „baktérium törzsekről” van szó, de az ábrán magasabb rendszertani kategóriák vannak feltüntetve.

Az értekezés ábra anyaga megfelelő, helyenként kifejezetten szemléletes, mint például az alföldi szikes, BTK biofilm és Ojos del Salado magashegyi helyszíneken talált ökológiai összefüggés rendszerek ábrái (5.1-2; 5.3-8; 5.4-13). A taxonómiai fák kiemelésre szánt tagjai kezdetben még színezéssel vannak kiemelve (5.1-10; 5.1-8 ábrák), később a törzsek leírásánál néhol félkövérrel vannak szedve azok, amikre figyelni érdemes. Néhány esetben még ilyen megoldások sem vezetnek az olvasó szemébe. Javított volna az ábrák esztétikus prezentálásán, ha azok hasonló stílusban készültek volna el. A gondosabb szerkesztés benyomását keltette volna néhány ábra feliratainak magyar nyelvű változata (például: 5.1-6; 5.1-9; 5.3-7 ábrák) vagy az ábraaláírások és ábrajelölések harmonizálása (például: az 5.1-6 ábrán lemaradt az (a) és (b) jelölés és egyik dendrogram mintában sem szerepel az (I) = csurgalékvíz jelölés.)

### Tartalom

Kériné Dr. Borsodi Andrea alapos leíró mikrobiológiai ökológiai kutatásokat végzett számos, eltérő környezeti tulajdonságokkal rendelkező élőhely feltérképezésével. Kitartó munkával, részben klasszikus mikrobiológiai tenyésztési módszereket használva, részben 16S-rDNS alapú taxonómiai szekvenálásokat végezve jelentős mennyiségű új ismeretet tárt fel ezeknek a különös, extrémofil, földrajzilag izolált mikrobiológiai „szigetek” baktérium és archaea közösségeiről. Ezzel a több évtizedes leíró mikrobiológiai munkával gazdagította az ilyen szélsőséges körülmények között túlélő és fenntartható módon, stabilan működő mikroba közösségek talán legfontosabb tagjainak listáját, vagy legalább is az adott mesterséges környezetben tenyészthető tagjainak körét. A tenyésztési módszerekre épített kutatási stratégia indokoltsága azonban kérdéseket vet fel.

A 4.3.1. fejezet elején a Szerző leszögezi: „*Kutatásaink során a tenyésztéseket mindig léghő oxigén jelenlétében végeztük, ezért csak a mintákban jelenlevő aerob vagy fakultatív anaerob anyagcserére képes extrémofil baktériumokat tudtuk kitenyészteni.*”

Több kérdés merül fel ezzel a megközelítéssel kapcsolatban:

- 1.) Ahogyan az „Anyagok és Módszerek” fejezetben, úgy itt sem derül ki, hogy milyen táptalajokat és miért éppen azokat használták a tenyésztési kísérletekhez?
- 2.) Végeztek-e olyan kontrol kísérleteket, amelyekben igazolható volt, hogy lényegesen vagy részlegesen eltérő tápközegekben ugyanazok, vagy eltérő mikrobák, esetleg eltérő gyakorisággal voltak tenyészthetők?
- 3.) Honnan tudták, hogy az alkalmazott tápközegek voltak optimálisak a mikroba közösség legtöbb tagjának tenyésztéséhez?

4.) Az extremofil mikroba közösségeknek fontos tagjai az archaeák közé tartoznak, amelyeknek zöme obligát anaerob mikroba. Mivel ezek, és persze hasonlóképpen az eukaryota közösségi tagok, az alkalmazott aerob/fakultatív baktérium tenyésztési eljárások során nem kerülhettek a kutatás látókörébe, a közösségek működésével kapcsolatos megfontolások nagyon vázlatosak lehetnek. Ezeknek a gondolatoknak a kritikai megtárgyalását hiányoltam a dolgozatból.

5.) Mennyire tekinthető mérvadónak és meghatározónak a tenyésztés és klasszikus mikrobiológiai azonosítás eredményei, ha azokat nem tudták megerősíteni a klónkönyvtárakban és DGGE vizsgálatokban: „*Ez utóbbi szervezeteket azonban sem a klónkönyvtárakban, sem a DGGS vizsgálatok során nem tudtuk azonosítani...*” (47. oldal). Általánosságban: Melyiknek kell hinnünk, a tenyésztés vagy a molekuláris elemzéseknek? Példa: az 5.1-2. ábrán felsorolt, az ábra aláírás szerint „fajok” (valójában nemzetség nevek szerepelnek az ábrán!?) között csak a *Rhodobaca* nemzetséget sikerült kimutatni tenyésztés (T) és klónozásos (K) módszerrel egyaránt.

További kérdések, megjegyzések:

6.) A 14. oldalon szerepel két állítás: i.) „*a baktériumközösségek összetételében a tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független DGGE és klónozási módszerek alkalmazásával sem lehetett szezonális különbségeket kimutatni.*” ii.) „*míg cianobaktériumok és zöld algák... jellegzetes szezonális ciklust mutatnak*”. Melyik állítás van közelebb az igazsághoz?

7.) A dolgozat olvasói számára fontos üzeneteket, az egész munka jelentőségét kiemelő rész lenne a „2.9. *Az extremofilekkel kapcsolatos mikrobiológiai kutatások jelentősége*” fejezet. Feltűnő, hogy ebben a fejezetben a szerző nem csak a releváns hazai vagy külföldi kutatások említéséről feledkezik meg, de az egész fejezet gyakorlatilag James Coker 2016-os összefoglaló cikkének rövid átirata (9 hivatkozást kapott a fejezetben a Coker publikáció és a világban az extrém mikrobiológia területen dolgozó több száz kutató mindössze 2 másik hivatkozást érdemelt ki!). Azt is csak a 49. oldal alján odavetett megjegyzésből tudjuk meg, hogy például a Szerző munkacsoportja által részletesen vizsgált Therm-Organ (Szarvas) és Velencei tavak üledékének alkalofil mikroba közösségét sikeresen alkalmazták lignocellulóz tartalmú szubsztrátot hatékonyan lebontó biogáz termelő biotechnológiai alkalmazásban (Porsch et al., 2015).

A „*Kutatások célkitűzései*” fejezet egyetlen oldalban, korrekt módon foglalja össze, hogy a több évtizedes és nagyon alapos munka lényegében a leíró mikrobiológiai megismerést szolgálta. Meghatározták a különböző mértékben extremofil élőhelyeken a rendelkezésre álló hagyományos mikrobiológiai (tenyésztéses) és molekuláris technikákkal kimutatható mikroba közösségek összetételét és a talált eredményeket a tudományos közösség számára hozzáférhetővé tették.

Erről szól lényegében a dolgozat fő tömegét kitevő „*Eredmények és értékelésük*” fejezet. Az egyes mintavevő helyekről nyert információk alapján megtudjuk, hogy valóban: az extrém környezeti feltételek mellett túlélő mikroba közösség az extrém környezeti feltételekhez adaptálódott nemzetségekből tevődik össze. A mikroba közösségek tagjainak pontosabb azonosítását jelentősen gátolták a módszertani nehézségek, ezért csak egy közelítően használható képet kapunk arról, hogy „kik” és feltehetően „mit csinálnak” a furcsa környezetben való túlélés érdekében. Ez egy fajta hézagpótló, alapos leíró munka, amiért

elismerés illeti a szorgos kutatót. Sajnos a dolgozatból nem derül ki, hogy mit lehetne kezdeni ezekkel az eredményekkel és ilyen irányú kutatásokat tervez-e a Szerző a jövőben?

Az Eredmények és Értékelésük c. fejezetből az 5.4. Ojos del Salado vizes élőhelyeinek feltárására irányuló munka beszámolóját emelem ki. Részben azért, mert ilyen exotikus helyen végzett mikrobiológiai munkával nem sok hazai mikrobiológus dicsekedhet, tehát ez tényleg egy „unikum”, de emellett azért is, mert ezek a minták a legalaposabban feldolgozottak és mikrobiológiai ökológia szempontjából tanulságos következtetésekhez vezettek. Azon nyilván lehet vitatkozni, hogy a több ezer méter magasságban, tényleg elég zordnak tűnő vidék mennyire felel meg a Mars bolygó felszínén várható körülményeknek az ott feltételezett életformák kialakulása szempontjából, főleg akkor, ha a marsi élet felfedezésének aerob tenyésztéses vizsgálatokkal szeretnénk nekivágni. Az mindenesetre tanulságos, hogy a modernebbnek tekintett molekuláris módszerekkel ezekben a „halmozottan hátrányos” környezeti mintákban is nagyon változatos mikroba közösségeket sikerült megfigyelni. Ez fontos megállapítás nem csak az asztrobiológia szempontjából, hanem a földi globális klímaváltozásnak az élővilág túlélési esélyeire gyakorolt hatásainak latolgatása szempontjaiból is.

#### Tudományos és gyakorlati kihatások

8.) Némi magyarázatra szorulna, hogy a 132. oldalon felsorolt „*általános következtetések*” mennyiben tekinthetők új tudományos felismeréseknek? A felsorolt 5 következtetés közül az alább idézett állítások nem tűnnek meglepő, vagy váratlan új tudományos eredményeknek:

8a.) *„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;”*

8b.) *„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;”*

8c.) *„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;”*

8d.) *„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 utolsó „általános következtetés” szerint: „*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.*” Az fentiekhez hasonlóan ezzel az állítással is egyet lehet érteni annak ellenére, hogy mindegyik „következtetés” túlságosan általánosnak tűnik. Sajnos ilyen irányban végzett saját mikrobiális biotechnológia irányú kutatásokról a dolgozat nem számol be részletesen, bár az eredmények potenciális gyakorlati jelentőséget például a 112. oldalon is kiemeli.

Véleményem szerint a dolgozatban bemutatott munka két területen alkotott maradandót, ami miatt megérdemli az MTA Doktora tudományos fokozat odaítélését. **Egyrészt** alapos leíró mikrobiológiai munkával rögzítette néhány, extrém környezetben található mikroba közösség összetételének némiképpen felületes, de a szerző rendelkezésére álló, módszertanilag elérhető mélységéig lenyúló leírását. **Másrészt** polifázikus taxonómiai megközelítéssel szabatosan jellemzett és leírt 8 olyan, tenyésztéssel azonosított baktérium fajt/izolátumot, amelyek eddig jórészt ismeretlenek voltak a baktérium rendszertannal foglalkozó kutatók előtt. Ezek a baktérium fajok a tudományra nézve új alkalofil vagy alkalitoleráns, halofil vagy halotoleráns törzsek, amelyeknek környezeti ökológiai jelentősége illetve potenciális biotechnológiai alkalmazása a jövő kutatás-fejlesztési feladati közé tartoznak.

Összegzés: A fentiek alapján Kériné Dr. Borsodi Andrea MTA doktori értekezésében foglalt kutatási eredményeket elegendőnek tartom az MTA doktora cím megszerzéséhez, ezért javaslom a nyilvános védés kitűzését és eredményes védés esetén a tudományos rang odaítélését.

Szeged, 2023. 07. 30.

  
Kovács Kornél, az MTA Doktora

Hivatalos bírálói nyilatkozat

Borsodi Andrea

Szélsőséges környezeti paraméterekhez alkalmazkodott extrémofil prokarióta közösségek taxonómiai és anyagcsere sokfélesége

című doktori munkájáról.

A doktori munka tudományos eredményeit elegendőnek tartom az MTA doktora cím megszerzéséhez, a nyilvános védés kitűzését javaslom:

igen

nem

Dátum: 2022.07.30.



.....  
Kovács Kornél