
Opponensi vélemény Dr. Szili-Kovács Tibor „Környezeti és antropogén tényezők hatása a mikrobiális aktivitásokra szélsőséges talajviszonyok között” című MTA doktori értekezéséről

Dr. Szili-Kovács Tibor MTA doktori értekezése elismerésre méltó tudományos teljesítményen alapszik, kritikai észrevételeim, kérdéseim javító szándékúak.

A bírálatom a következőképpen tagolódik: 1. Az értekezés **formája és nyelvhelyessége**. 2. Az értekezés **tartalma**. 3. **Új tudományos eredmények**.

Forma, nyelvhelyesség

Általános vélemény: Az értekezés terjedelme átlagosnak mondható, az irodalomjegyzékkel és a függelékkel együtt 147 oldalt tesz ki. Szerkezetét tekintve azonban nem mondható átlagosnak, hiszen három, egymástól élesen elkülönülő részből tevődik össze, amelyek mindegyike tartalmaz hosszabb vagy rövidebb irodalmi bevezetést, célkitűzést, anyag és módszereket leíró, illetve az eredményeket bemutató és megvitató részeket. A rövid, mindössze egyoldalas általános bevezető részt a Szerző nagyrészt e rendhagyó szerkezet magyarázatának szenteli. Kiemeli, hogy a többféle kutatási irányból próbált egy fókuszpontot keresni, amire eredményei felfűzhetőek, és ezt a fókuszpontot a talajmikrobiális aktivitás szélsőséges talajviszonyok közötti tanulmányozásában találta meg. Véleményem szerint ezt a „felfűzést” csak kevésbé sikerült a Szerzőnek megvalósítania, emiatt az értekezés a három témának a fizikai értelemben vett felfűzésének tekinthető inkább, semmint logikai felfűzésnek.

Részletes kritikai észrevételek:

1. Ahogy azt az előzőekben is próbáltam érzékeltetni, az értekezésnek nincs kifejezetten szakirodalmi áttekintést nyújtó, az olvasót a témába bevezető része. Az egyoldalas bevezető rész után egy meglehetősen *in medias res* hangulatú felütéssel, egy kétsoros indoklással veszi kezdetét a disszertáció lényegi része, miszerint a Szerző első vizsgálatait a Kiskunsági Nemzeti Park Fülöpháza melletti területén végezte, ezért bevezetőként rövid ismertetést ír a homoktalajokról. Ez az ismertetés valóban rövid, mindössze 1 oldal, amit egy problémafelvetésként értelmezhető, szintén rövid alfejezet követ. Itt kezd először hiányozni az olvasó számára a szakirodalmi áttekintés rész. Az értekezés második részét bevezető, szakirodalmi áttekintésként értelmezhető része hasonlóan rövid, mindössze 3 és fél oldal. Valóban részletes szakirodalmi áttekintést csak az értekezés harmadik része kapott, ahol a mikroszervezeteknek a szikes-sós közegekhez való alkalmazkodásába kap betekintést az olvasó. Véleményem szerint szerencsésebb lett volna egy összefüggő, a Szerző által a későbbiekben bemutatott eredmények értelmezését jobban megalapozó és segítő szakirodalmi áttekintéssel indítani az értekezést. Ezáltal a három különálló téma logikai összefűzése is jobban megvalósulhatott volna.
2. Az értekezés stílusa általánosságban megfelelő, többnyire olvasmányos, közérthetően megfogalmazott. Nyelvtani hibákat egyáltalán nem tartalmaz, csupán néhány elütés maradt a dolgozatban (így például: vákuumekszikkátor, féksókkal terhelt, Gyöngyösorosi, MicorResp™, redundancia analízis, ürmüs és füves szikespuszta, endosóra, katabolikus aktivitás-mintézat).
3. Stilisztikailag szintén kevés kifogásolható megfogalmazással találkoztam az értekezésben, egyedül talán a „lecsökken” kifejezés gyakori használata (17-szer található meg) róható fel, ami helyenként zavarólag hatott.
4. Az értekezés ábraanyaga szép és szemléletes, ugyanakkor sok esetben azok kizárólag angol nyelvű feliratokat tartalmaznak (pl. 10., 11., 12., 13., 15., 24., 26., 27., 28., 29., 42., 50., 53. ábrák). Ezen ábrák feltételezhetően eredetileg a Szerző angol nyelvű

szakcikkeiben jelentek meg, mindazonáltal egységesebb képet mutatna az értekezés, ha ezeket is magyar feliratokkal látta volna el a Szerző.

5. A szakmai terminológiát a Szerző többnyire helyesen használja, néhány kisebb észrevételem van csupán ezt illetően. Főleg az értekezés első részében, amely időben a Szerző legkorábbi kutatási munkáját hivatott bemutatni, az aktinobaktériumokra konzekvensen mint aktinomicéták hivatkozik. Ez a megnevezés már évtizedek óta nem használatos, méghozzá félrevezető mivolta végett. Egy helyen a Szerző is érzi ezt és kénytelen zárójelk között megjegyezni, hogy „az aktinomicéták is baktériumok” (lásd 40. oldal). Habár értem, hogy itt több évtizeddel ezelőtti kutatások eredményeit mutatja be a Szerző, úgy vélem helyesebb lett volna a jelenleg használatos megnevezés használata. A 23. ábrán elkülönült csoportot alkotnak az aktinobaktériumok (a kérdéses ábrán mint aktinomicéták) és a Gram-pozitív baktériumok, miközben az aktinobaktériumok szintén Gram-pozitív sejtfallal rendelkeznek. Ezt az ellentmondást valahogy fel kellett volna oldania a Szerzőnek.
6. Egyes baktérium taxonok esetében előfordul, hogy a Szerző felváltva használja a legújabb nevezéktant a korábban elfogadottal, akár néhány sor eltéréssel is (pl. *Gemmatimonadetes* – *Gemmatimonadota* – 107. oldal).

Tartalom

Dr. Szili-Kovács Tibor több évtizede vizsgálja a különböző magyarországi talajok mikrobiális közösségeinek aktivitását és diverzitását, természetes, illetve antropogén hatás alatt álló ökoszisztémákban. Eredményei, amelyeket hazai és nemzetközi tudományos folyóiratokban egyaránt publikálta, a hazai talajmikrobiológiai kutatások ismert és elismert kutatójává tették, de nemzetközi ismertsége is kétségtelen. Az értekezés végig vezet minket a Szerző tudományos életpályáján, és betekintést ad a talajmikrobiológia meglehetősen komplex világába. A Szerző pályája elején nitrogén immobilizációval segített növénytársulás restaurációs kísérletekbe kapcsolódott be, ahol a homoktalajok mikrobiális biomasszájának alakulását vizsgálta a kezelések hatására. Kiemelendő, hogy a mikrobaközösségek összetételének vizsgálatához ekkor még nem álltak rendelkezésre a mai molekuláris módszerek, helyette a még ma is

használatos foszfolipid-zsírsav (PLFA) analízis segítségével kellett megállapítani a nagyobb mikroba csoportok abundanciájának alakulását a kezelések hatására. Később nehézfém szennyezés hatását vizsgálta a talaj mikrobiális aktivitására szabadföldi kisparcellás kísérletben, illetve egy hazai, többévtizedes bányászati tevékenység miatt szennyezett területen. Talajmikrobiológiai vizsgálataihoz ekkor még kizárólag klasszikus mikrobiológiai módszereket, így tenyésztésen alapuló csíraszámbecslést, illetve talajenzimek aktivitásmérését használta. Időben legújabb vizsgálatai pedig kiskunsági szikes talajok mikrobaközösségeinek megismerését célozta, immáron újgenerációs DNS szekvenálási módszerekkel kiegészítve a klasszikus talajmikrobiológiai eszköztárat. A Szerző ennek megfelelően meglehetősen sokrétű kutatómunkát végzett el, és az eredményeknek az egy értekezésen belüli bemutatása és értékelése bizony komoly kihívás. Habár a Szerző az értekezés elején leszögezi, hogy nem törekedett a módszertani részletek ismertetésére, csak amennyire szükségesnek vélte, mégis precízen részletezte az elvégzett munkafolyamatokat. A kapott eredmények és értékelésük pedig nagyban hozzájárultak a hazai talajmikrobiológiai ismereteink bővüléséhez.

Részletes kritikai észrevételek, kérdések:

1. Ahogy azt már az értekezés formai kritikájánál megjegyeztem, az értekezés szakirodalmi áttekintő részei hosszukat és tartalmi mélységüket tekintve nagyon változatosak. Habár az értekezés fókuszpontjában a talajmikrobiális aktivitás szélsőséges talajviszonyok közötti tanulmányozása áll, az első rész esetében nem igazán derül ki, illetve a Szerző nem alapozza meg szakirodalmilag, hogy a homoktalajok miért is számítanak szélsőséges környezeti körülménynek a mikrobiális élet szempontjából. Csupán egy rövid talajosztályozási betekintést kap az olvasó. Ezzel szemben a szikes-sós környezetekhez való alkalmazkodást kellő mélységében tárgyalja később a Szerző. Marad tehát a kérdés, hogy **homoktalajok esetében mi az a szélsőséges környezeti körülmény, amihez alkalmazkodniuk kell a mikroszervezeteknek és hogyan történik ez az alkalmazkodás? Hogyan befolyásolta a kapott mikrobiális eredményeket az a tény, hogy a vizsgálatokat homoktalajon kellett elvégezni? Más típusú talajadottságok mennyiben befolyásolnák a Szerző végkövetkeztetéseit? Esetleg azok általánosnak tekinthetők a talajtípustól függetlenül?**

2. Az értekezés egyes részei hangsúlyosan támaszkodnak tenyésztési technikákra alapuló bakteriális csíraszámbecslések eredményeire. Az értekezés 33. oldalán a Szerző ekként fogalmaz: „*A talajkivonat agaron meghatározott összcsíraszámában szintén nem volt eltérés a vizsgált R és Bt területeken (22b. ábra). A bolygatatlan gyepterületről kitenyészthető csíraszám nem volt kisebb, mint a felhagyott szántókról származó minták csíraszám, holott az összes foszfolipid és mikrobiális biomassza mennyisége kisebb volt. Ez is mutatja, hogy a csíraszám nem alkalmas a mikrobiális biomasszában meglévő különbségek kimutatására.*” Véleményem szerint szakmailag helytállóbb lett volna, ha a Szerző pontosítja, hogy ezekben az esetekben csak a kitenyészthető baktériumok csíraszámáról beszél. Ma már tudjuk, hogy a kitenyészthető baktériumok mindössze 1%-át alkotják a valós bakteriális diverzitásnak. **Ennek ismeretében, a mai tudásunk alapján elképzelhető-e, hogy mégis volt csíraszám-beli különbség a két terület között, csak az akkor elérhető módszerekkel ez nem volt kimutatható?** Napjainkban rendelkezésünkre állnak olyan molekuláris technikák, amelyekkel pontos képet kaphatunk egy közeg teljes csíraszámáról. Ilyen mikroszkópos módszer például a fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH), amelyet régóta rutinszerűen használnak vízi ökoszisztémák mikrobaközösségeinek csíraszámbecslésére. **Ez a módszer alkalmas lehet talajok mikrobaközösségeinek csíraszámbecslésére is?**
3. Az értekezés II. fejezetében, a nagyhorcsöki nehézfém terheléses kísérlet eredményeinek tárgyalása során a Szerző azt írja, hogy a kopiotróf baktériumok száma csak az alacsony dózisu réz kezelés hatására csökkent le szignifikánsan, míg az oligotrófok nagyobb érzékenységet mutattak a réz- és nikkelterhelésre. – **Vajon ha a mai korszerű molekuláris mikrobiológiai módszerekkel vizsgálnánk a kérdést, akkor is erre a megállapításra juthatnánk? Mi okozhatja a Szerző által valószínűsített nehézfém érzékenység különbséget a kopiotróf és az oligotróf mikroszervezetek között?**
4. Az értekezés III., szikes talajok mikrobiológiájával foglalkozó fejezete áll legközelebb a mai kor szakmai igényeihez. Az Anyag és Módszer alfejezet ez esetben is nagyon részletes, precíz leírása az elvégzett munkafolyamatoknak, azonban ezekkel kapcsolatban felmerült pár kisebb kérdésem. A fluoreszcein-diacetát hidrolitikus enzimaktivitás mérésekor a Szerző leírja, hogy módosítottak az eredeti módszeren,

- mivel üveggyöngyöket adtak a talajmintákhoz, majd 30 perces előrázatást végeztek rázógéppel, a talajszemcsék diszpergálásának elősegítésére. **Kérdéseim: (1). Mekkora méretű üveggyöngyöt alkalmaztak? Mik voltak a rázatás egyéb paraméterei? Ez nem befolyásolhatta negatívan a mikrobaközösség aktivitását a bakteriális sejtek esetleges fizikai károsodása miatt? (2). A mikrorespirációs vizsgálatok során a talajmintákat 96 lyukú mélyített lemezbe mérténk, majd Parafilm M-mel letakarva 5 napig exsikkátorban előinkubálták. – Miért van szükség az 5 napos előinkubációra? Nem sok ez? (3) Két talajminta (AA és AL) c-jelű rétegéből nem sikerült a DNS izolálás. Mi lehetett ennek az oka? Az extrém fizikai-kémiai körülmények gátolhatták a DNS izolálást, vagy a biomassza mennyisége volt csekély mértékű a mintákban? (4) Az amplicon szekvenálás után a baktérium fajgazdagságot az ACE és Chao1 indexekkel is jellemezték. Számításuk azonban az egyedi (egyszer előforduló, ún. singleton) elemek előfordulásán alapul egy adathalmazon belül. A bioinformatikai adatfeldolgozás gyakran magában foglalja az egyedi elemek eltávolítását, emiatt a Chao1 és ACE indexeket a legtöbb esetben nem ajánlott használni, különösen az amplicon szekvencia variánsokon (ASV) alapuló elemzési módszerek esetén. Az a tény, hogy a Szerző OTU (operational taxonomic unit) alapon dolgozott, kiküszöbölhette-e ezt a jelenséget?**
5. A DNS-alapú és a MicroResp módszerrel történt vizsgálatok eredményeinek összehasonlításakor a Jelölt leírja, miszerint figyelembe kell vennünk, hogy a DNS-alapú mikrobiális megközelítés nem csak az aktív, hanem a jelentős mennyiségben előforduló inaktív (endosóra vagy dormans) és holt mikrobiális közösség tagjait is kimutatja. Mindezekkel magyarázza a Jelölt, hogy egyes talajminták bakteriális közösség összetétele nagyon hasonlónak adódott a 16S amplicon szekvenálás alapján, míg a metabolikusan aktív baktériumok, amelyeket közvetett módon a Microresp módszerrel detektáltak, szignifikánsan különbözött az eltérő vegetációjú talajokban. – **Okozhatta-e ezt a jelenséget az a tény, hogy a Microresp nem tesz különbséget a Bacteria, Archaea és Eukarya domének között, míg 16S alapon csak a Bacteria domént vizsgálta a Jelölt?**
6. A Jelölt fontos taxonként ír a *Methylobacillus* törzs képviselőiről, amelyek nagyobb abundanciával fordultak elő a legmélyebb (30–60 cm) talajrétegből származó mintában

– **Utalhat-e ez arra, hogy ezek a közegek már erősen oxigénlimitáltak lehetnek?**
Ezt követően a diszkusszióban ezt írja a Jelölt: *Vizsgálataink során egyértelműen megállapítható volt, hogy a Methyloirabilota törzset képviselő OTU-k a mélyebb talajrétegekben nagyobb relatív gyakorisággal fordultak elő...*, majd ezt írja: *Ugyanakkor egy érdekes megállapításra jutottunk, amely szerint a Methyloirabilota törzs képviselői nagyobb abundanciával fordultak elő a legmélyebb (30–60 cm) talajrétegből származó mintákban.* – Ennek ellenére nem ismerteti ennek a törzsnek a metabolikus képességeit – fontos lenne, hogy elhangozzon, hogy metán oxidáló baktériumokról van szó, amelyek nitrátot használnak a légzésükhöz. **Az ő abundáns jelenlétük feltételezheti-e ugyancsak szigorúan anaerob metanogén archaeák abundáns jelenlétét is ezekben a talajrétegekben?**

Új tudományos eredmények

1. Laboratóriumi inkubációs kísérletek sorozatával megállapította, hogy a szacharóz cukor és a fűrészpor együttes alkalmazásával a talaj nitrogén nagyrészt immobilizált állapotban tartható legalább 60 napon keresztül a vizsgált homoktalajnál. A gyorsabban lebomló cukor erőteljesebb, de rövidebb ideig tartó, míg a lassan lebomló fűrészpor kisebb mértékű, de huzamosabb ideig tartó N immobilizációt eredményezett. A szénforráskezelések hatására a talaj mikrobiális biomassza C és N szignifikánsan növekedett laboratóriumi körülmények között a vizsgált homoktalajokban.

2. A szénforrás-kezelések (cukor vagy fűrészpor) priming hatását mutatta ki, ami erőteljesen megnyilvánult, a talaj eredeti szerves C-tartalmának szénmineralizációjának (CO₂ produkció) növekedését okozva. A szacharóz priming hatása sokkal nagyobb volt, mint a fűrészporé a vizsgált homoktalajokban. A cukor talajhoz történő hozzáadása nem csak a talaj szerves N készletéből, hanem a talaj szerves N-ből is hozzájárult a mikrobiális biomasszába történő beépüléshez. Fűrészpor hatására a talaj szerves N kisebb mértékű csökkenése mellett, a mikrobiális biomasszába is kevesebb nitrogén épült be, ezért a biomassza C/N arányában növekedés következett be. Vizsgálatai szerint a fűrészpor hatására immobilizált N jelentős része nem mikrobiális biomassza kompartmentbe épült be.

3. Szabadföldi körülmények között alkalmazva a fűrészpor + cukor (szacharóz) kezelés területtől függően csökkentette a talaj felvehető N készletét, miközben növelte a mikrobiális biomasszát a felhagyott fülöpházi homoktalajban.
4. A nehézfémterhelés hatására a kadmium, réz és nikkel fémsók nagymértékű akkumulációja ellenére a talajból kitenyészthető mikroorganizmuszámok táptalajtól függően eltérő hatást eredményeztek. A legmarkánsabb csökkenés az Ashby-agaron kitenyészthető szabadonélő aerob nitrogénkötő baktériumok számában mutatkozott meg, míg a mikroszkópikus gombák száma növekedett. A nehézfémakkumuláció a talaj mikrobiális biomasszában és dehidrogenáz aktivitásban is egyértelmű csökkenést okozott a Cd-, Cu- és Ni-sókkal szennyezett nagyhőrcsöki talajban.
5. Megállapította, hogy a Lakanen-Erviö kivonatban lévő fémkoncentráció negatívan korrelált a talaj pH-jával, a talaj Arany-féle kötöttségi számával, kálium- és foszfortartalmával, míg pozitívan korreláltak a talajok sótartalmával. A talaj mikrobiális biomassza pozitívan korrelált a talaj Arany-féle kötöttségi számával és a foszforral, de negatívan korrelált az összes sótartalommal, valamint a talaj Cd-, Pb-, Zn-, As- és Cu-tartalmával. Negatív korreláció volt a talaj növények számára felvehető foszfor és a savas foszfomonoészteráz aktivitás között.
6. A potenciálisan toxikus elemtartalmak erős pozitív korrelációt mutattak a metabolikus hányadossal (qCO_2), míg a toxikus elemek erős negatív korrelációban állt az MBC/SOC aránnyal, ami arra utal, hogy a metabolikus hányados és az MBC/SOC arány kombinációja megbízható indikátora lehet a talajok toxikus hatású fémszennyezettségének.
7. A Felső-kiskunsági szikes területen eltérő kémhatású és sótartalmú talajokat vizsgálva megállapította, hogy a talaj alaprespirációja, FDA-aktivitása és szubsztrát-indukált respirációs aktivitása (ez utóbbi kettő a mikrobiális biomasszával arányos) a sótartalom és kémhatás növekedésével csökkenést mutatott.
8. A Felső-kiskunsági puszta négy eltérő növénytársulás alól vett talajminta genusz-szintű bakteriális összetétele és diverzitása a jelentős átfedések mellett szignifikáns különbséget mutatott az eltérő sótartalmú és kémhatású minták között.
9. A Felső-kiskunsági puszta Apaj melletti szikes területről származó talajok vizsgálatai szerint a Gemmatimonadota baktérium phylum rendelkezett a legnagyobb relatív abundanciával ez

erősen szikes talajmintákban, míg az Acidobacteriota törzs relatív gyakorisága a sótartalom és pH növekedésével csökkenést mutatott.

10. A vizsgált talajokban a talajok baktérium közösségeinek alfa-diverzitás mutatói negatív korrelációban voltak a sótartalommal (EC), a pH-val, a Na⁺-koncentrációval, és pozitív korrelációban a szervesanyag tartalommal, összes nitrogénnel, ammónium-nitrogénnel, a felvehető foszforral és káliummal.

11. A Felső-kiskunsági szikes tavak melletti minták esetében a talaj sótartalma, míg a Felső-kiskunsági Apaj melletti területen a talaj pH volt a legerősebben meghatározó tényező a talajok katabolikus aktivitás-mintázatában és a tenyésztéstől független módszerrel meghatározott bakteriális taxonómiai összetétel tekintetében.

Nyilatkozat

Dr. Szili-Kovács Tibor MTA doktori értekezésében foglalt kutatási eredményeket elegendőnek tartom az MTA doktora cím megszerzéséhez, ezért javaslom a nyilvános védelem kitűzését. Az értekezés hazai és nemzetközi szakmai folyóiratokban közölt, hiteles adatokat tartalmaz.

Gödöllő, 2025. június 24.



Prof. Dr. Táncsics András

egyetemi tanár, az MTA doktora

