Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar
Biológia Doktori Iskola
Elméleti és Evolúcióbiológia Doktori Program

FELFÖLDI TAMÁS

Fotoautotróf pikoplankton közösségek diverzitásának molekuláris biológiai vizsgálata és a populációk szezonális dinamikájának felmérése

– doktori értekezés –

Témavezető:
Márialigeti Károly
tanszékvezető egyetemi docens
ELTE Mikrobiológiai Tanszék

Külső konzulens:
Vörös Lajos
osztályvezető, tudományos tanácsadó
MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

Doktori iskola vezetője:
Erdei Anna
tanszékvezető egyetemi tanár
ELTE Immunológiai Tanszék

Doktori program vezetője:
Szathmáry Eörs
egyetemi tanár
ELTE Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék

Készült az ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszékén 2010-ben.

TARTALOMJEGYZÉK

I. fejezet
Bevezetés 6

II. fejezet
Irodalmi áttekintés 7

1. A fotoautotróf pikoplankton általános jellemzése 7

2. A pikoalgák taxonómiája 10
Jellemző taxonómiai bélyegek 10
Pikocianobaktériumok 16
Pikoeukarióta algák 23

3. A planktonikus pikoalgákat befolyásoló környezeti hatások 24
Fény 27
Hőmérséklet 29
Tápanyagok 30
A víztér hidrogeológiai jellemzői és a trofitás 33
pH 35
Szalinitás 35
Predáció 36
Virális lízis 38
Szimbiotikus kapcsolatok 39

4. A planktonikus pikoalgák térbeli és időbeli viszonyai 40
Óceánok, tengerek, tavak, folyók és patakok 40
Pikoalga biogeográfia 41
Szezonális változások 42

5. A pikoalgák diverzitásának és azonosításának vizsgálati módszerei 44
Minta előkészítés 44
Tenyésztéses eljárások 46
Klasszikus mikroszkópos vizsgálatok 46
A sejtek fluoreszcencia tulajdonságain alapuló módszerek 47
Szerológiai módszerek 48
Nukleinsav alapú molekuláris biológiai módszerek 48
A PCR alapú módszerekkel legelterjedtebben vizsgált gének és régiók 49

6. A pikofitoplankton vizsgálata hazánkban 51

III. fejezet
Célkitűzések 53

IV. fejezet
Anyag és módszer 54

1. A vizsgált vízterek általános jellemzése 54
Szikes tavak 54
Balaton 57

2. Mintavételi helyek és időpontok 58

3. Alkalmazott vizsgálati módszerek 59
Mintavétel és minta előkészítés 60
Környezeti változók meghatározása 61
Pikocianobaktérium törzsek izolálása és fenntartása 61
A DNS kivonása 61
A DNS felszaporítása PCR segítségével 62
Denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE) 62
Klónozás és a klónok csoportosítása 64
Bázissorrend elemzés és filogenetikai rekonstrukció 64
Hosszpolimorfizmus vizsgálat (LH-PCR) 65
Statisztikai elemzések 66

V. fejezet
Eredmények és értékelésük 67

1. A szikes tavak pikofitoplanktonjának diverzitása és szezonális változásai 67
A kiskunsági és vajdasági szikes tavak planktonikus pikoalgái 67
A Fertő tó planktonikus pikoalgái 73

2. A Balaton pikofitoplanktonjának diverzitása és szezonális változásai 78
A Balaton planktonikus pikoalgáinak diverzitása 78
Szezonális változások és térbeli heterogenitás a Balaton pikocianobaktérium közösségében 84
Környezeti faktorok hatása az egyes pikocianobaktérium csoportok arányára 86

3. A kontinentális vizek planktonikus pikoalgáinak diverzitása és szezonális változásaik 90
A vizsgált vízterek összehasonlítása 90
Miért ilyen diverzek a pikocianobaktériumok? 93

4. Az alkalmazott módszereink korlátai és hibái 95
A PCR és a klónozás torzításai 95
A DGGE mintázata 97
A hosszpolimorfizmus vizsgálatról 98
Jó géneket választottunk? 99

Összefoglalás 101

Summary 102

Mellékletek 103

Függelék 112

F1. A *Synechococcus*ok fikobiliszómájának felépítése 112
F2. A kromatikus adaptáció 114
F3. Miért nincs a *Prochlorococcus*oknak fikobiliszómájuk? 115
F4. Miért képeznek a pikoalgák kolóniákat és aggregátumokat? 116
F5. A pikoalgák tenyésztéséről 118
F6. A hazai szikesek egyedisége 119
F7. Mindenki mindenhol jelen van? 120

Fogalomtár 122

Rövidítések jegyzéke 125

Képek jegyzéke 127

Hivatkozások jegyzéke 128

Köszönetnyilvánítás 149

A doktori értekezéshez közvetlenül nem kapcsolódó, de a pikoalga kutatásokban központi szerepet játszó kérdések, témák megvitatását és az ezzel kapcsolatos eredmények összefoglalását a Függelék fejezetben közöltük. A szöveges értékelés nélküli kiegészítések táblázatos formában vagy ábraként szerepelnek a Mellékletek fejezetben. A szövegtesthez kapcsolható rövid megjegyzések, érdekességek, pontosítások lábjegyzetes formában kerültek feltüntetésre. Első indexben elhelyezett F betűvel jelöltük (F) *első előfordulásukkor a Fogalomtárban megtalálható kifejezéseket.*

I. fejezet

BEVEZETÉS

Az utóbbi néhány évtizedben a pikofitoplankton felfedezése és jelentőségének felismerése *(Johnson és Sieburth 1979, Waterbury és mtsai. 1979)* átformálta a vizes élőhelyek ökológiai folyamatairól alkotott nézeteinket. Ezek az alig néhány mikrométeres fotoszintetikus élőlények Földünk szinte valamennyi felszíni vizében megtalálhatók, sok esetben nagymértékben hozzájárulnak az elsődleges termeléshez, és ezáltal meghatározó szerepet töltenek be a vizes élőhelyek anyagforgalmában a táplálékláncban fontos elemét képezve *(Li és mtsai. 1983, Platt és mtsai. 1983, Stockner 1988, Weisse 1993, Callieri 2008).*

A pikocianobaktériumok genetikai diverzitásának kutatása a tengerekhez és óceánokhoz képest kontinentális vizekben lényegesen kevesebb figyelmet kapott és főként izolátumokra irányult *(Robertson és mtsai. 2001, Crosbie és mtsai. 2003a, Ernst és mtsai. 2003).* A természetes közösségek vizsgálata pedig mindössze néhány élőhelyre korlátozódott (szubalpin tavak: *Becker és mtsai. 2002, Becker és mtsai. 2004, Becker és mtsai. 2007, Callieri és mtsai. 2007a*; Felső-tó: *Ivanikova és mtsai. 2007*; néhány angliai tó: *Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008*). Az édesvízi pikoeukarióta algák faji összetételére vonatkozó ismereteink még hiányosabbak *(Callieri 2008)*, az egyes pikofitoplankton genotípusok[F] szezonális változásait részletesen tárgyaló munkák pedig szinte teljesen hiányoznak a nemzetközi szakirodalomból *(Becker és mtsai. 2002, Becker és mtsai. 2004, Becker és mtsai. 2007, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008).*

Éppen ezért sekély tavaink planktonikus pikoalga közösségeinek molekuláris biológiai módszerekkel történő jellemzése, összetételük és diverzitásuk megismerése, belső dinamikájuk feltárása nemcsak hazai viszonylatban tekinthető hiánypótló vizsgálatnak, hanem hozzájárul a pikofitoplanktonról alkotott általános nézetek formálásához is.

II. fejezet

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1. A fotoautotróf pikoplankton általános jellemzése

Bár bakteriális méretű fotoautotróf[F] lények előfordulásáról néhány tengeri és édesvízi környezetben már korábban is beszámoltak *(Bailey-Watts és mtsai. 1968, Paerl 1977, Paerl és Mackenzie 1977)*, a pikocianobaktériumok tömeges előfordulásának felfedezése az 1970-es évek végéhez köthető *(Johnson és Sieburth 1979, Waterbury és mtsai. 1979, Johnson és Sieburth 1982)*. A vizsgálatokhoz az eredetileg heterotróf baktériumok számlálására használt epifluoreszcens technikát alkalmazták *(Daley és Hobbie 1975)*, ami lehetővé tette a fotoszintetikus pigmentekkel rendelkező apró, néhány mikrométeres sejtek megfigyelését. A felfedezés jelentőségét tovább növelték azok a kutatási eredmények, amelyek szerint a planktonikus elsődleges termelés túlnyomó részét ezek a szervezetek adják az óceánok trópusi és szubtrópusi régióiban *(Li és mtsai. 1983, Platt és mtsai. 1983)*. Később a vizes élőhelyek legkülönbözőbb típusaiban sikerült őket kimutatni, sok esetben meghatározó mennyiségben *(Stockner 1988, Weisse 1993, Callieri 2008)*, igazolva ezáltal a fotoautotróf pikoplankton energia- és anyagforgalomban betöltött kulcsfontosságú szerepét.

A fotoautotróf pikoplankton elnevezés három jellemző tulajdonságra utal: *(i)* a *fotoautotróf* jelleg az energiaszerzés (fényenergia hasznosítása) és az anyagcsere tulajdonságaira (szén-dioxidból szerves szénvegyületek előállítása) vonatkozik; ezt sokszor a fotoszintézis[F] szinonimájaként is használják, bár nemcsak a klasszikus fotoszintetizáló szervezetek (cianobaktériumok, algák és növények) képesek szén-dioxid konvertálására biomasszává fényenergia segítségével; *(ii)* a *plankton*[F] elnevezés a vízben lebegő élőlényeket jelöli; *(iii)* a *piko* előtag pedig egy adott mérettartományt határoz meg, ami a hagyományos értelmezés szerint a 0,2-től 2 μm-ig terjed *(II/1. táblázat)*.

A sejtek legnagyobb lineáris mérete alapján történő osztályozás azonban nem teljesen egyértelmű és általános érvényű. Egy másik definíció szerint *(Stockner és Antia 1986)* a *piko* méretkategória 3 μm-es felső határral rendelkezik, és számos tanulmányban a pikoplankton megjelölés erre vonatkozik *(Pearl és MacKenzie 1977, Vörös 1989, Vörös 1991, Malinsky-Rushansky és mtsai.*

1997, Bell és Kalff 2001, Hepperle és Krienitz 2001, Moon-van der Staay és mtsai. 2001, Becker és mtsai. 2002 stb.). Egyesek pedig úgy érvelnek, hogy mivel az apró eukarióta planktonikus algák mérete sok esetben csak kissé haladja meg a klasszikus pikoplankton kategóriát (< 2 µm), és a sejtek 2-5 µm-es nagyságúak, így a 0,5-5 µm-es méretet jelölő *ultraplankton* elnevezés sokkal életszerűbb *(Murphy és Haugen 1985)*. Részben átfed a pikoplankton mérettel az 1-15 µm-es tartományt átfogó *µ-alga* megjelölés *(Krienitz és mtsai. 1996)*, bár ez kevéssé elterjedt[1]. Figyelembe véve, hogy akár egyazon faj vagy törzs esetében is a megváltozó környezeti körülmények lényeges méretbeli változásokat indukálhatnak *(Jezberová és Komárková 2007b)*, bármilyen szigorú méret szerinti elválasztás erőltetettnek tűnhet. A helyzetet tovább bonyolítja, hogy a vizsgálati minták feldolgozásakor is bekövetkezhet méretváltozás (*pl.* a fixálás során) vagy a méretet akaratlanul is tévesen ítélhetjük meg (*pl.* a pórusméretnél nagyobb sejtek átjutásakor a szűrőn) *(Li 1990, Vörös 1991, Vaulot és mtsai. 2008)*. Mégis indokolt valamilyen mesterséges határt meghúzni, hiszen számos tulajdonság összefügg a sejtek méretével (kompetíció a tápanyagokért, fényért, energetikai folyamatok, ülepedési ráta *stb.*) *(Potter és mtsai. 1997, Raven 1998, Veldhuis és mtsai. 2005)*. Ezeket a jellemzőket a fotoszintetikus pikoplankton esetére vonatkozólag részletesen a *II/2. táblázat* ismerteti.

A nevezéktan más tekintetben is zavarosnak tűnhet, ezért pontosítást igényel. Mivel a bakteriológia területén a *pikoplankton* elnevezés nem terjedt el, ma kizárólag a klasszikus értelemben vett algákat jelöli ez a terminus. Ebből következően sokszor szinonimaként használják a *fotoautotróf pikoplankton*, *pikoplankton* és *piko-fitoplankton*[F] kifejezéseket. A *pikoalga* megjelölés a nemzetközi szakirodalomban egyaránt jelölhet prokarióta (cianobaktérium) és eukarióta algákat is, a két csoport megkülönböztető neve: *pikocianobaktériumok*, illetve *pikoeukarióta algák* vagy *eukarióta pikoalgák*.

II/1. táblázat. Standard méret szerinti plankton csoportok
(Sieburth és mtsai. 1978 alapján)

elnevezés	***méret***
megaplankton	20-200 cm
makroplankton	2-20 cm
mezoplankton	0,2-20 mm
mikroplankton	20-200 µm
nanoplankton	2-20 µm
pikoplankton	0,2-2 µm
femtoplankton	0,02-0,2 µm

[1] a dolgozatban a legáltalánosabban használt, 0,2-2 µm mérettartományt értjük a *piko* jelző esetében, ahol ettől eltérő szervezetekre vonatkoznak a megállapítások, arra külön felhívjuk a figyelmet

II/2. táblázat. A pikofitoplankton sejtek kis méretéből adódó tulajdonságai
(Raven 1998 alapján)

fénygyűjtéssel kapcsolatos tulajdonságok
nagyobb pigment-specifikus abszorpció egységnyi sejttérfogatra vonatkoztatott pigmenttartalom mellett
adott pigment-protein esetén rövidebb idő szükséges megfelelő foton mennyiség abszorpciójához
kisebb foton áramlási sebesség szükséges a 'downstream' folyamatok energiájának biztosításához, de emiatt kifejezettebb hajlam a fotoinhibíciós[F] sérülésekre (ezek javításának energetikai vonzata)
gyengébb képesség az UV-B sugárzás rongáló hatásának kivédésére UV-B abszorbeáló pigmentekkel
tápanyagfelvétellel és vízháztartással kapcsolatos tulajdonságok
adott koncentráció különbség mellett nagyobb a tenyészközeg és a plazmamembrán közötti anyagáramlás lehetősége
a membránon keresztüli, növekedéshez szükséges nettó anyag(és víz-)áramlás mennyisége kisebb
mivel az előző két pontban megállapított jelenségek összegezhetőek, alacsony tápanyagtartalmú közegekben a kisebb méretű sejteknek nagyobb lehetősége van a tápanyagok felvételére
szintén az első két pont jelenségeinek összegezhetősége miatt, a már megszerzett tápanyagok (és az azok metabolikus átalakítása során keletkezett anyagok) kimosódása, *ill.* más anyagok (*pl.* tengerekben a sók, édesvízben a víz) beszivárgása kifejezettebb (ezen homeosztatikus veszélyek energetikai vonzata)
növekedéssel és sejtfenntartással kapcsolatos folyamatokra gyakorolt hatások
nagyobb növekedési ráta (egységnyi idő alatti, egységnyi biomasszára vonatkoztatott növekmény) több sejtosztódással jár egységnyi energia/tápanyag felhasználása mellett
a fénygyűjtéssel és a hozzá kapcsolható folyamatokkal (redoxpotenciál, ATP-szintézis) összefüggő forrás-kihasználás alacsony fényintenzitás mellett sokkal kedvezőbb a kis sejtek kisebb csomagolási hatása ('package effect') miatt
alacsony CO_2 koncentráció mellett kedvezőbb a RuBisCO[F] forrás-kihasználása (*pl.* a rövidebb intracelluláris diffúziós távolságok miatt)
a fentiek miatt kevesebb energia és tápanyag szükséges a katalitikus rendszer fenntartásához, így több jut a szaporodásra
sejtszám-csökkenéssel járó folyamatok
az eufotikus zónából[F] történő kiülepedés veszélye kisebb
a parazitizmus veszélye kisebb (kevés energiát és tápanyagot biztosítanak a parazita életciklus lezajlásához)
a virális támadás és lízis veszélye, *ill.* a predációs veszteség jelentősége valószínűleg nem függ össze a sejtek méretével

A pikoalgák nem kizárólag planktonikus élőlények, hanem a vizek bentikus környezeteit (perifitont és mesterséges szubsztrátokat) is kolonizálhatják *(piko-bentosz[F]) (Abed és mtsai. 2002, Becker és mtsai. 2004).* A sejtek kitapadását az általuk kiválasztott anyagok is segíthetik *(Postius és Böger 1998).* A kevés ilyen irányú vizsgálat alapján az körvonalazódik, hogy a biofilmet alkotó pikocianobaktériumok közelebbi rokonai az ugyanazon tó pelágikus formái, mint a más élőhelyek biofilmjeiben találhatók *(Becker és mtsai. 2004).* Ez szintén a planktonikus pikoalgák sokoldalúságát példázza, ami vizes környezetekben megfigyelt univerzális előfordulásuk alapja *(Callieri 2008).*

2. A pikoalgák taxonómiája

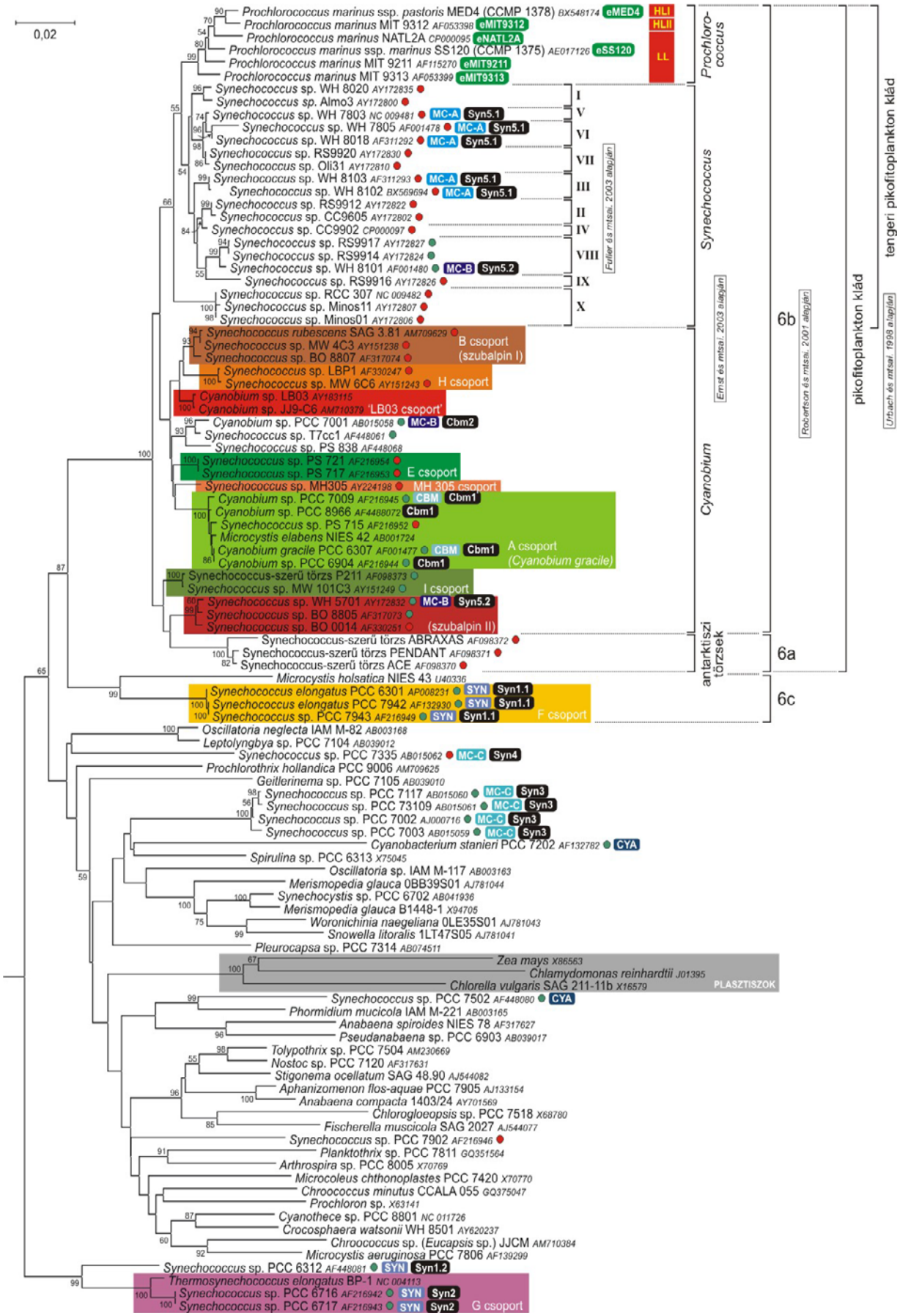
Az 1980-as évek végétől megindult molekuláris biológiai alapú filogenetikai vizsgálatok alapjaiban formálták át a pikoalgák taxonómiáját. Bebizonyosodott, hogy a cianobaktériumok morfológiai alapokon nyugvó klasszikus rendszere *(Melléklet M/1. táblázata)* nem tartható fenn tovább. Igazolódott, hogy az alaktani jellegek többsége nem megfelelő filogenetikai bélyeg *(Giovannoni és mtsai. 1988, Robertson és mtsai. 2001)*. Megdőlt az az elképzelés is, ami szerint a hasonló fotoszintetikus apparátussal rendelkező (fikobiliszómák[F] hiánya, Chl *b* megléte) kloroplasztisz proklorofita[F] eredetű lenne (ahová a *Prochlorococcus* pikocianobaktérium nemzetség mellett az endoszimbionta *Prochloron* és a fonalas *Prochlorothrix* is tartozik). Ráadásul kiderült, hogy a proklorofiták polifiletikusak *(II/1. ábra)* és a proklorofita-növényi plasztisz típusú fotoszintetikus fenotípus legalább négyszer alakult ki a földtörténet során *(Palenik és Haselkorn 1992, Urbach és mtsai. 1992)*.

A legnagyobb változások azonban a *Synechococcus* pikocianobaktérium és a *Chlorella* pikoeukarióta alga nemzetségeket érték *(Honda és mtsai. 1999, Huss és mtsai. 1999, Robertson és mtsai. 2001)*. Korábban ezt a két genust tartották az édesvízi pikofitoplankton meghatározó képviselőjének *(Callieri 2008)*, a molekuláris biológiai vizsgálatok eredményeképpen azonban új nemzetségeket, csoportokat emeltek ki és alkottak tagjaikból. A taxonómiai átrendezések a mai napig tartanak, bár az utóbbi néhány évben kissé alábbhagytak a vizsgálati nehézségek (*pl.* az axenikus[F] tenyészetek hiánya, az algológiai és mikrobiológiai szemlélet ütközése) miatt.

Jellemző taxonómiai bélyegek

Történeti és ökológiai jelentősége a morfológiai és pigmentösszetétel vizsgálatoknak van, míg az evolúciós és taxonómiai kérdések tisztázása napjainkban már molekuláris biológiai módszereken alapul.

II/1. ábra ***(következő oldal).*** A cianobaktériumok főbb leszármazási vonalai a 16S rRNS gén (16S rDNS) alapján, külön kiemelve a pikocianobaktériumok felosztására különböző szerzők által javasolt csoportokat
Külső csoport: Gloeobacter violaceus PCC 7421 (AF132790); a 16S rDNS 1435 nukleotid pozíciója alapján (neighbor-joining módszerrel szerkesztve, Kimura 2-paraméteres nukleotid szubsztitúciós modelljét alkalmazva, az 50% feletti bootstrap értékeket feltüntettük). Színes téglalapok: Robertson és mtsai. 2001, Crosbie és mtsai 2003a, Ivanikova és mtsai. 2007 által megalkotott kategóriák; zárójelben az Ernst és mtsai. 2003 által javasolt két szubalpin csoport. Az egyes Synechococcus és Cyanobium törzsekhez rendelt rövidített elnevezések magyarázatát ld. II/5. és II/6. táblázatok. A Prochlorococcus ökotípusok kétféle felosztása pirossal (Urbach és mtsai. 1998, Rocap és mtsai. 2002 szerint) és zölddel (Johnson és mtsai. 2006 szerint) jelölve. Piros körrel a fikoeritrin(PE)-, zölddel a fikocianin(PC)-pigment-dominanciájú izolátumokat jelöltük.


0,02
Prochlorococcus marinus ssp. pastoris MED4 (CCMP 1378) BX548174 eMED4 HLI
Prochlorococcus marinus MIT 9312 AF053398 eMIT9312 HLII
Prochlorococcus marinus NATL2A CP000095 eNATL2A
Prochlorococcus marinus ssp. marinus SS120 (CCMP 1375) AE017126 eSS120 LL
Prochlorococcus marinus MIT 9211 AF115270 eMIT9211
Prochlorococcus marinus MIT 9313 AF053399 eMIT9313
Prochloro-coccus
Synechococcus sp. WH 8020 AY172835
Synechococcus sp. Almo3 AY172800
Synechococcus sp. WH 7803 NC 009481 MC-A Syn5.1
Synechococcus sp. WH 7805 AF001478 MC-A Syn5.1
Synechococcus sp. WH 8018 AF311292 MC-A Syn5.1
Synechococcus sp. RS9920 AY172830
Synechococcus sp. Oli31 AY172810
Synechococcus sp. WH 8103 AF311293 MC-A Syn5.1
Synechococcus sp. WH 8102 BX569694 MC-A Syn5.1
Synechococcus sp. RS9912 AY172822
Synechococcus sp. CC9605 AY172802
Synechococcus sp. CC9902 CP000097
Synechococcus sp. RS9917 AY172827
Synechococcus sp. RS9914 AY172824
Synechococcus sp. WH 8101 AF001480 MC-B Syn5.2
Synechococcus sp. RS9916 AY172826
Synechococcus sp. RCC 307 NC 009482
Synechococcus sp. Minos11 AY172807
Synechococcus sp. Minos01 AY172806
I
V
VI
VII
III
II
IV
VIII
IX
X
Fuller és mtsai. 2003 alapján
Synechococcus
Ernst és mtsai. 2003 alapján
Synechococcus rubescens SAG 3.81 AM709629
Synechococcus sp. MW 4C3 AY151238
Synechococcus sp. BO 8807 AF317074
B csoport (szubalpin I)
Synechococcus sp. LBP1 AF330247
Synechococcus sp. MW 6C6 AY151243
H csoport
Cyanobium sp. LB03 AY183115
Cyanobium sp. JJ9-C6 AM710379 'LB03 csoport'
Cyanobium sp. PCC 7001 AB015058 MC-B Cbm2
Synechococcus sp. T7cc1 AF448061
Synechococcus sp. PS 838 AF448068
Synechococcus sp. PS 721 AF216954
Synechococcus sp. PS 717 AF216953
E csoport
Synechococcus sp. MH305 AY224198
MH 305 csoport
Cyanobium sp. PCC 7009 AF216945 CBM Cbm1
Cyanobium sp. PCC 8966 AF4488072 Cbm1
Synechococcus sp. PS 715 AF216952
Microcystis elabens NIES 42 AB001724
Cyanobium gracile PCC 6307 AF001477 CBM Cbm1
Cyanobium sp. PCC 6904 AF216944 Cbm1
A csoport (Cyanobium gracile)
Synechococcus-szerű törzs P211 AF098373
Synechococcus sp. MW 101C3 AY151249
I csoport
Synechococcus sp. WH 5701 AY172832 MC-B Syn5.2
Synechococcus sp. BO 8805 AF317073
Synechococcus sp. BO 0014 AF330251
(szubalpin II)
Cyanobium
Synechococcus-szerű törzs ABRAXAS AF098372
Synechococcus-szerű törzs PENDANT AF098371
Synechococcus-szerű törzs ACE AF098370
antarktiszi törzsek
Microcystis holsatica NIES 43 U40336
Synechococcus elongatus PCC 6301 AP008231 SYN Syn1.1
Synechococcus elongatus PCC 7942 AF132930 SYN Syn1.1
Synechococcus sp. PCC 7943 AF216949 SYN Syn1.1
F csoport
6b
Robertson és mtsai. 2001 alapján
6a
6c
pikofitoplankton klád
tengeri pikofitoplankton klád
Urbach és mtsai. 1998 alapján
Oscillatoria neglecta IAM M-82 AB003168
Leptolyngbya sp. PCC 7104 AB039012
Synechococcus sp. PCC 7335 AB015062 MC-C Syn4
Prochlorothrix hollandica PCC 9006 AM709625
Geitlerinema sp. PCC 7105 AB039010
Synechococcus sp. PCC 7117 AB015060 MC-C Syn3
Synechococcus sp. PCC 73109 AB015061 MC-C Syn3
Synechococcus sp. PCC 7002 AJ000716 MC-C Syn3
Synechococcus sp. PCC 7003 AB015059 MC-C Syn3
Cyanobacterium stanieri PCC 7202 AF132782 CYA
Spirulina sp. PCC 6313 X75045
Oscillatoria sp. IAM M-117 AB003163
Merismopedia glauca 0BB39S01 AJ781044
Synechocystis sp. PCC 6702 AB041936
Merismopedia glauca B1448-1 X94705
Woronichinia naegeliana 0LE35S01 AJ781043
Snowella litoralis 1LT47S05 AJ781041
Pleurocapsa sp. PCC 7314 AB074511
Zea mays X86563
Chlamydomonas reinhardtii J01395
Chlorella vulgaris SAG 211-11b X16579
PLASZTISZOK
Synechococcus sp. PCC 7502 AF448080 CYA
Phormidium mucicola IAM M-221 AB003165
Anabaena spiroides NIES 78 AF317627
Pseudanabaena sp. PCC 6903 AB039017
Tolypothrix sp. PCC 7504 AM230669
Nostoc sp. PCC 7120 AF317631
Stigonema ocellatum SAG 48.90 AJ544082
Aphanizomenon flos-aquae PCC 7905 AJ133154
Anabaena compacta 1403/24 AY701569
Chlorogloeopsis sp. PCC 7518 X68780
Fischerella muscicola SAG 2027 AJ544077
Synechococcus sp. PCC 7902 AF216946
Planktothrix sp. PCC 7811 GQ351564
Arthrospira sp. PCC 8005 X70769
Microcoleus chthonoplastes PCC 7420 X70770
Chroococcus minutus CCALA 055 GQ375047
Prochloron sp. X63141
Cyanothece sp. PCC 8801 NC 011726
Crocosphaera watsonii WH 8501 AY620237
Chroococcus sp. (Eucapsis sp.) JJCM AM710384
Microcystis aeruginosa PCC 7806 AF139299
Synechococcus sp. PCC 6312 AF448081 SYN Syn1.2
Thermosynechococcus elongatus BP-1 NC 004113
Synechococcus sp. PCC 6716 AF216942 SYN Syn2
Synechococcus sp. PCC 6717 AF216943 SYN Syn2
G csoport

A cianobaktériumok taxonómiájánál általános problémaként jelentkeznek a botanikai és bakteriológiai megközelítés szabályai közötti eltérések. Míg az előbbi környezeti gyűjtések morfológiai tulajdonságain alapul, addig az utóbbi tiszta tenyészetek vizsgálatán *(Oren 2004)*. Mivel a cianobaktériumok fotoszintetikus képességük miatt a botanikusok, prokarióta mivoltuk miatt pedig a mikrobiológusok vizsgálatainak alanyai egyaránt lehetnek, és a két nézőpont csak kivételes esetben találkozik, taxonómiájuk meglehetősen zavaros *(Castenholz és Norris 2005)*. A helyzetet tovább bonyolítja, hogy több törzs esetében kizárólag morfológiai információk állnak rendelkezésre, míg mások esetében csupán egy vagy két gén bázissorrendje, az egyéb tulajdonságokat pedig nem vizsgálták.

Morfológiai bélyegek

A sejtek általában gömb vagy (főként a pikocianobaktérium esetében) pálcika alakúak. A sejtek kis méretéből adódóan az alaktani változatosság igen szűkös. Pikocianobaktériumoknál jelentős morfológiai változásokat figyeltek meg eltérő tenyészkörülmények *(Jezberová és Komárková 2007a)* vagy predációs nyomás *(Jezberová és Komárková 2007b)* hatására. Hasonlóképpen a pikoeukarióta algáknál sok morfológiai bélyeg (kocsonyaburok, kolóniás/magányos sejtek *stb.*) olyan fenotípusos tulajdonságnak bizonyult, ami variábilis és bizonyos környezeti feltételekre (predációs nyomás, endoszimbiotikus vagy edafikus[F] életforma *stb.*) adott adaptív válaszként értelmezhető *(Fawley és mtsai. 2005, Luo és mtsai. 2010)*. Tehát a kevés alaktani jellemző nagy része nem állandó tulajdonsága az adott fajnak vagy nemzetségnek, így ezek nem megfelelő taxonómiai bélyegek.

Pigmentösszetétel

A cianobaktériumok és az eukarióta algák is rendelkeznek Chl *a*[2] pigmenttel, míg a Chl *b* a zöldalgákra (Chlorophyta) és a proklorofitákra jellemző. Az egyéb pigmentek aránya és eloszlása viszont igen változatos lehet *(Melléklet M/2. táblázata)*. Mindezek mellett a pikocianobaktériumok egy különleges fénygyűjtő komplexszel is rendelkeznek, a tilakoidok[F] felszínén elhelyezkedő *fikobiliszóma*val, amely kizárólag cianobaktériumokban és vörösmoszatokban[3] fordul elő. A II foto-

[2] a zsákállatok alsó részén epizoikus élőbevonatot alkotó *Acaryochloris* cianobaktérium fő fénygyűjtő pigmentje különös módon nem a Chl *a*, hanem a Chl *d*; az általa elfoglalt árnyékos, közeli infravörös fényben gazdag niche[F]-nek megfelelően *(Kühl és mtsai. 2005)*

[3] pontosabban a Rhodophyta, Cryptophyta és az újonnan felfedezett Picobiliphyta csoportoknál

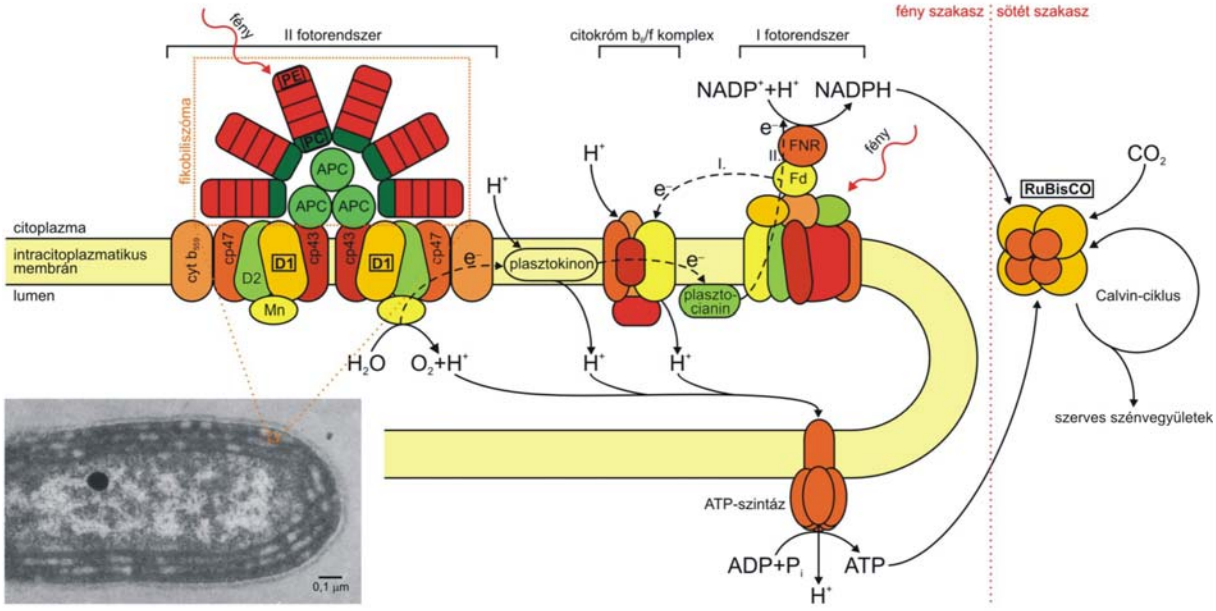
rendszerhez (PS II) kapcsolódó fotoszintetikus antennát *fikobiliproteine*k[F] és a hozzájuk kovalens kötéssel kapcsolódó *kromofór*ok[F] (*fikobilin*ek[4,F]) alkotják (*II/3. táblázat, II/2. ábra; ld. F1. Függelék*).

A vízalatti fényviszonyok (fényintenzitás és spektrális összetétel) erős szelekciós nyomással bírnak a sejtek pigmentösszetételére, így a fikobiliszóma abszorpciós tulajdonságára is a benne található pigmentek összetételén keresztül *(II/3. ábra)*, ugyanis a fikobiliszóma által „begyűjtött" fénysugarak azok, amelyek fotoszintetikus szempontból aktívnak tekinthetők. Megkü-

II/3. táblázat. A fikobiliproteinek típusai a hozzájuk jellemzően kapcsolódó kromofórokkal (fikobilinekkel) és azok abszorpciós maximumával
(Ting és mtsai. 2002, Six és mtsai. 2007 alapján)

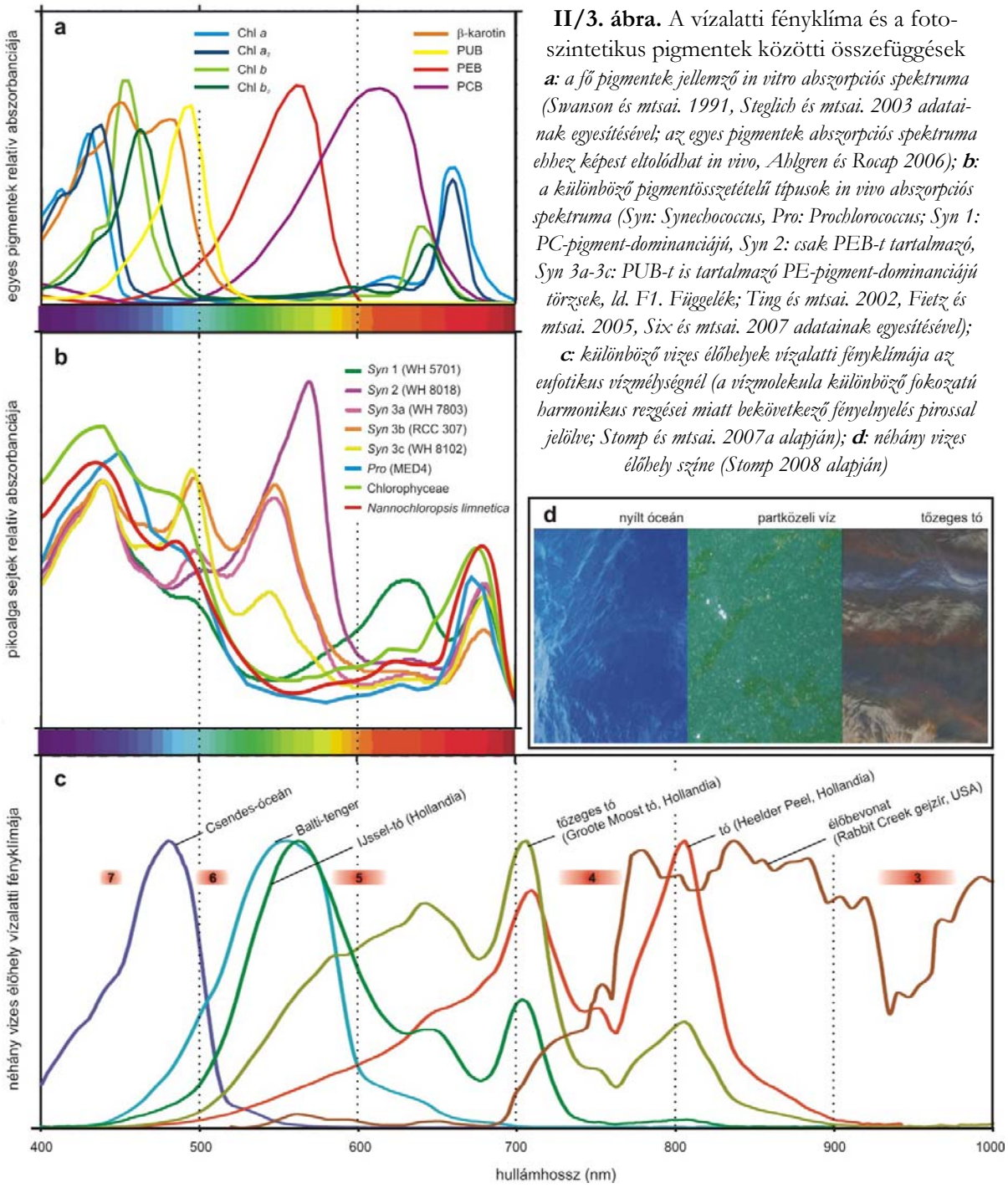
fikobiliprotein	***jellemző fikobilin***	***abszorpciós maximum***
allofikocianin[F] (APC)	fikocianobilin (PCB)	~620 nm
fikocianin[F] (PC)		
fikoeritrin[F] (PE)	fikoeritrobilin (PEB)	~550 nm
	fikourobilin (PUB)*	~495 nm

* csak tengeri *Synechococcus*oknál fordul elő



II/2. ábra. A fikobiliszómák helyzete és felépítése, valamint a fotoszintézis folyamatainak áttekintő ábrája *Synechococcus*ok esetében
(Láng 1998, Ting és mtsai. 2002, Overmann és Garcia-Pichel 2006 nyomán; a CCAIU 625 törzsről készült elektronmikroszkópos felvétel forrása: Wildman és Bowen 1974)
APC: allofikocianin, PC: fikocianin, PE: fikoeritrin, Fd: ferredoxin, FNR: ferredoxin-NADP+-reduktáz; D1 és D2: a reakciócentrum központi fehérjéi; cp43 és cp47: Chl a*-kötő fehérjék; cyt b_{559}: citokróm b_{559}; Mn: oxigénfejlesztő enzimkomplex. A II/11. táblázatban részletesen jellemzett gének által kódolt fehérjék vastagon, kerettel kiemelve.*

[4] a két fő fikobilin, a PCB és PEB kémiai szerkezetét tekintve csupán két kettős kötésben tér el egymástól *(Grossman és mtsai. 1993)*, ami jelzi, hogy egy új szintre történő evolúciós „hangolás" olykor mindössze néhány molekuláris lépést igényel *(Stomp 2008)*



II/3. ábra. A vízalatti fényklíma és a fotoszintetikus pigmentek közötti összefüggések
***a**: a fő pigmentek jellemző in vitro abszorpciós spektruma (Swanson és mtsai. 1991, Steglich és mtsai. 2003 adatainak egyesítésével; az egyes pigmentek abszorpciós spektruma ehhez képest eltolódhat in vivo, Ahlgren és Rocap 2006); **b**: a különböző pigmentösszetételű típusok in vivo abszorpciós spektruma (Syn: Synechococcus, Pro: Prochlorococcus; Syn 1: PC-pigment-dominanciájú, Syn 2: csak PEB-t tartalmazó, Syn 3a-3c: PUB-t is tartalmazó PE-pigment-dominanciájú törzsek, ld. F1. Függelék; Ting és mtsai. 2002, Fietz és mtsai. 2005, Six és mtsai. 2007 adatainak egyesítésével); **c**: különböző vizes élőhelyek vízalatti fényklímája az eufotikus vízmélységnél (a vízmolekula különböző fokozatú harmonikus rezgései miatt bekövetkező fényelnyelés pirossal jelölve; Stomp és mtsai. 2007a alapján); **d**: néhány vizes élőhely színe (Stomp 2008 alapján)*

lönböztetnek ezért PC- és PE-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumokat (*Synechococcus*okat), a fikoeritrineseken belül pedig PUB-vel rendelkező és PUB nélküli formákat *(ld. F1. Függelék)*. Egyes törzsek ezen pigmentek egymáshoz viszonyított arányát a környezet fényviszonyainak megfelelően módosítani tudják, ez az *ún.* kromatikus adaptáció[F] képessége *(ld. F2. Függelék)*.

A proklorofiták a zöld növényekhez hasonlóan nem rendelkeznek fikobiliszómákkal *(ld. F3. Függelék)*.

Molekuláris biológiai alapú filogenetika

A morfológiai egyöntetűség a pikoalgák valódi diverzitásának alulbecsléséhez vezetett *(Potter és mtsai. 1997, Robertson és mtsai. 2001, Luo és mtsai. 2010)*. Ez a felismerés és a taxonómiai revíziók szükségessége *(Castenholz és Norris 2005, Luo és mtsai. 2010)* egyaránt a nukleinsav alapú módszerekkel végzett vizsgálatok eredményeinek hozománya.

Az apró kokkoid sejtekkel rendelkező algacsoportok a pro- és eukarióták esetében egyaránt polifiletikusak és más, nagyobb vagy különleges morfológiájú sejtekkel rendelkező algák közeli rokonainak bizonyultak[5] *(Robertson és mtsai. 2001, Krienitz és mtsai. 2004, Luo és mtsai. 2010)*.

Monofiletikus ágat képez a valamennyi *Prochlorococcus* és *Cyanobium* törzset, *ill.* a *Synechococcus*ok többségét magában foglaló pikofitoplankton klád[6,F] a cianobaktériumok leszármazási vonalán belül *(Urbach és mtsai. 1998, II/1. ábra)*. Ezen belül egyes szerzők további csoportokat különítenek el *(Robertson és mtsai. 2001, Crosbie és mtsai. 2003a, Ernst és mtsai. 2003, II/1. ábra)*, de újabb nemzetség vagy faji szintű elnevezések nem születtek, hiszen számos, a taxonómiai kategóriák megalkotásához szükséges feltétel és adat (tiszta tenyészetek, genom G+C% érték, DNS-DNS hibridizáció, részletes fiziológiai vizsgálatok eredményei) a legtöbb törzs esetében nem áll rendelkezésre, csupán a 16S rRNS gén bázissorrendje. Mégis néhány javaslat született a továbblépésre. *Robertson és mtsai. (2001)* szerint a cianobaktériumok 6-os csoportján kívüli *Synechococcus*ok átnevezése szükséges, míg a 6a, 6b és 6c csoportok nemzetség, a 6b-n belüli alkategóriák pedig faji szintű egységeknek feleltethetők meg. *Ernst és mtsai. (2003)* a cianobaktériumok pikofitoplankton kládján belül négy nemzetség megalkotását javasolják, a *Prochlorococcus* és a *Cyanobium* mellett két különálló genust alkotna az tengeri és az antarktiszi *Synechococcus*ok csoportja. *Herdman és mtsai. (2001)* az általuk kijelölt *Synechococcus* klasztereket nemzetség, míg az alklasztereket ('subcluster') faji szintű kategóriának tartják (*ld.* később *II/6. táblázat*), de hangsúlyozzák, hogy kevés adat áll rendelkezésre és további vizsgálatok, valamint újabb törzsek bevonása szükséges a pontos taxonómiai egységek megalkotásához. Más szerzők viszont óvakodnak messzemenő következtetéseket levonni a molekuláris biológiai vizsgálatok eredményeiből[7] és egyértelműen csak a törzsek részletesebb (jö-

[5] igaz, ez utóbbiak extrém körülmények hatására elveszíthetik különleges alakjukat és akár le is gömbölyödhetnek *(Krienitz és mtsai. 2004)*; a kokkoid morfológiának tehát egyértelmű adaptív előnye van bizonyos környezeti feltételek mellett *(Potter és mtsai. 1997, Raven 1998)*

[6] a cianobaktériumok pikofitoplankton kládján belül (a PS 845 és az antarktiszi törzsek kivételével) 95% a legalacsonyabb páronkénti 16S rDNS hasonlóság *(Crosbie és mtsai. 2003a)*, ez az érték baktériumoknál általában a nemzetségek határát jelzi *(Ludwig és mtsai. 1997)*

[7] a baktériumoknál általában faji határvonalként alkalmazható 97-98%-os 16S rDNS páronkénti hasonlósági érték *(Stackebrandt és Goebel 1994)* a cianobaktériumnál túl nagy távolság a már definiált fajok elkülönítésére, azaz ez a bakteriológiában elterjedt irányelv itt nem alkalmazható *(Castenholz és Norris 2005)*; megjegyezzük azonban, hogy egy

vőbeni) ökofiziológiai vizsgálatainak tükrében tartják megalapozottnak a taxonómiai javaslatokat *(Crosbie és mtsai. 2003a, Castenholz és Norris 2005).*

Az eukarióta pikoalgáknál kicsit könnyebben adnak az egyes, 18S rRNS gén alapján elkülönülő csoportoknak nemzetségnevet *(pl. Krienitz és mtsai. 2004, Henley és mtsai. 2004)*, talán mert a pikoeukariótáknál nem ütköznek az algológia és bakteriológia taxonómiai szempontjai.

Pikocianobaktériumok

A 16S rDNS *(Roberson és mtsai. 2001; II/1. ábra)* és a más lassan evolválódó, *ún.* háztartási ('housekeeping') gének elemzésén alapuló filogenetikai vizsgálatok *(Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2005)* egyaránt alátámasztották, hogy a Cyanobacteria csoport legősibb leágazását (a *Gloeobacter*[8] követően) a pikocianobaktériumok képezik, pontosabban a *Prochlorococcus/Synechococcus/Cyanobium* nemzetségek csoportja. Ez egyben jelzi a kicsi sejtméret és a szabadon élő, planktonikus forma evolúciós szempontból ősi jellegét is. Vélhetőleg ebből az egyszerű cianobaktérium típusból alakult ki a többi, komplexebb forma[9] és tulajdonság (fonalas növekedés, nitrogén-fixáció, termofilia, hormogónium^F-, heterociszta^F- és akinéta^F-képzés). Ezt a hipotézist támasztja alá az is, hogy a *Synechococcus*-alak (és a taxonómiai szempontból máig nem revideált elnevezés) a törzsfa több leszármazási vonalán is megtalálható, azaz a nemzetség polifiletikus *(Honda és mtsai. 1999, Robertson és mtsai. 2001; II/1. ábra).*

Cyanobium és Synechococcus

Általában ezzel a két nemzetségnévvel találkozhatunk a *Prochlorococcus* mellett, ha pikocianobaktériumokról olvasunk *(II/4. táblázat, II/1. és II/4. ábra).* A klasszikus felosztás definiálja is jellemzőiket *(II/5. táblázat)*, viszont az egyéb csoportokkal való átfedések miatt nehéz egyértelműen eldönteni olykor a törzsek hovatartozását. A molekuláris biológiai vizsgálatok eredményei pe-

újabb vizsgálat alapján a baktériumnál a faji határt a 16S rDNS alapján a legtöbb esetben feljebb, 98,7-99,0% fölött valószínűsítik *(Stackebrandt és Ebers 2006)*

[8] a *Gloeobacter violaceus* egyedi a cianobaktériumok között, hiszen nem találhatók benne tilakoidok és a fikobiliszómák felépítése is sajátos *(Guglielmi és mtsai. 1981, Herdman és mtsai. 2001)*, filogenetikai pozíciója alapi a cianobaktériumokon belül *(Giovannoni és mtsai. 1988, Turner és mtsai. 1999, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2005)*

[9] a rendkívül nagymértékű morfológiai diverzitás viszonylag rövid idő alatt alakult ki a cianobaktérium/plasztisz leszármazási vonalon belül, amit jelez az, hogy az evolúciós távolságok nem nagyok, a hatékony fotoszintézis képességének megszerzését követően vélhetőleg gyors adaptív radiáció zajlott le *(Giovannoni és mtsai. 1988)*

dig teljesen felborították a korábbi rendszertant. Kiderült, hogy a *Synechococcus* nemzetség valójában polifiletikus *(Honda és mtsai. 1999, Turner és mtsai. 1999, Roberston és mtsai. 2001; II/1. ábra)*. A cianobaktériumok egy elkülönülő csoportját, ami a *piko* méretű izolátumok nagy részét tartalmazta, pikofitoplankton kládnak nevezték el *(Urbach és mtsai. 1998; II/1. ábra)*. Az egyik monofiletikus csoport (ahová az édesvízi izolátumok döntő többsége az akkori állapot szerint tartozott) pedig megkapta a *Cyanobium gracile* nevet *(Ernst és mtsai. 2003; II/1. ábra)*.

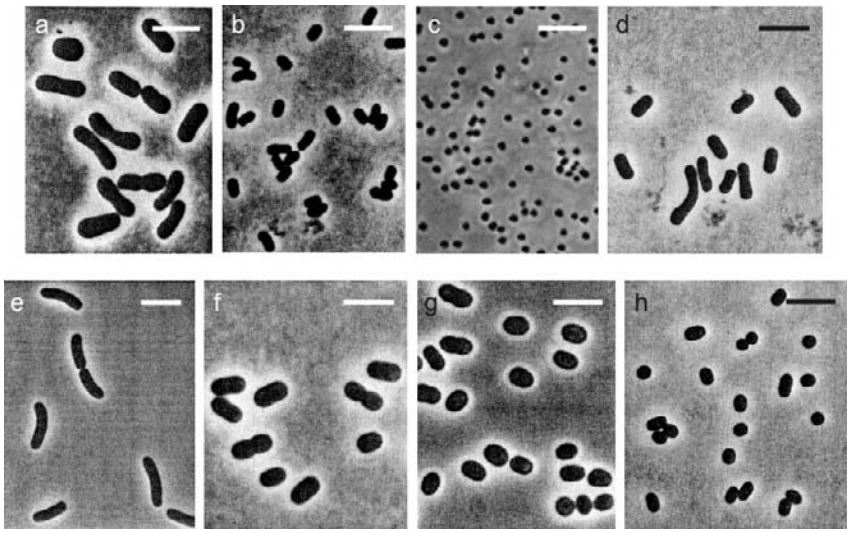
A klasszikus *(II/5. táblázat)* és az újabb bakteriológiai irányelvek alapján megalkotott rendszernek *(II/6. táblázat)* is egyik központi eleme a sejtek fő fénygyűjtő pigmentjének típusa. Újabb törzsek bevonása a vizsgálatokba azonban igazolta, hogy mindkét nemzetségben egyaránt előfordulhatnak PE- és PC-pigment-dominanciájú sejtek is *(Fuller és mtsai. 2003, Chen és mtsai. 2004, Chen és mtsai. 2006)*.

Az alacsonyabb rendszertani kategóriák közötti eligazodást jelentősen nehezíti, hogy az egyes csoportok molekuláris biológiai vizsgálatok alapján történő kijelölése esetenként nem azonos gén vagy régió vizsgálata alapján történik (*pl.* a C és D csoportba tartozó törzseknek csak a fikocianin operonja, míg a XV és XVI csoportok törzseinél kizárólag ITS szekvenciák állnak rendelkezésre és a legelterjedtebben alkalmazott 16S rDNS vizsgálati eredményei hiányoznak; *Robertson és mtsai. 2001, Ahlgren és Rocap 2006)*.

II/4. táblázat. A *piko* mérettartományba eső, vizes élőhelyeken előforduló főbb cianobaktérium nemzetségek és jellemzőik
(Herdman és mtsai. 2001 alapján)
A táblázatban a piko kategória tágan értelmezve (< 3 µm-es sejtek megléte az adott nemzetségen belül).

nemzetség	***méret (µm)***	***sejttípus***	***morfológia***	***osztódás***	***mozgás-képesség***	***élőhely***	***fotoheterotróf növekedés***	***egyéb jellemző***
Cyanobacterium	1,7-2,3	egysejtű	gömb-pálca	kettéosztódás	nincs	alkalikus tavak	nincs	sejtet teljesen kitöltő tilakoidok
*Cyanobium**	0,8-1,4	egysejtű	gömb-pálca	kettéosztódás	nincs	édes-, brakk-, tengervíz	általában nincs	perifériális tilakoidok
Prochlorococcus	0,5-1,6	egysejtű	gömb-ovoid	kettéosztódás	nincs	tengerek, óceánok	*n.a.*	fikobiliszóma nincs, Chl *b*, a_2, b_2
*Synechococcus***	0,6-2,1	egysejtű, néha aggregátumok	gömb-pálca	kettéosztódás	lehet	édes-, brakk-, tengervíz	változó	perifériális tilakoidok, nincs tok
*Synechocystis****	2-6	egysejtű, néha aggregátumok	gömb	kettéosztódás	*n.a.*	szárazföld, édes-, brakk-, sós víz	lehet	-

Az adott nemzetségbe tartozó törzsek között korábban előforduló vagy a botanikai szakirodalomban jelenleg is használt nemzetségnevek: **Anacystis, Cocochloris, Microcystis, Synechococcus*; ***Agmenellum, Anacystis, Cocochloris, Merismopedia*; ****Aphanocapsa, Eucapsis, Microcystis, Synechococcus*; *n.a.* – nincs adat.



II/4. ábra. Néhány pikocianobaktérium izolátum mikroszkópos képe
(a-b és d-h: Herdman és mtsai. 2001; c: Rippka és mtsai. 2000)
***a:** Cyanobacterium stanieri PCC 7202, **b:** Cyanobium gracile PCC 6307, **c:** Prochlorococcus marinus PCC 9511, **d:** Synechococcus sp. PCC 6301, **e:** Synechococcus sp. PCC 6716, **f:** Synechococcus sp. PCC 7002, **g:** Synechococcus sp. PCC 7335, **h:** Synechococcus sp. WH 5701; méretvonal: 5 µm.*

II/5. táblázat. A *Synechococcus*-csoport klasszikus felosztása
(Waterbury és Rippka 1989 alapján)
Az egyes alcsoportok jellemzésénél zárójelben szereplő adatok a csoportban található egy törzs kiugró értéke/tulajdonsága, amely a többi izolátumra általánosan nem jellemző; a klasszikus felosztásban szereplő törzseket ld. II/1. ábra.

alcsoport neve	***élőhely***	***méret (µm)***	***mozgás-képesség***	***fő fénygyűjtő pigment***	***genom G+C%***
Cyanobacterium (CYA)	szikes tó, tőzegláp	1,7-2,3	nincs	PC	39-40
Synechococcus (SYN)	édesvíz, mélytengeri hőforrás	1-2 (3)	nincs (vagy van)	PC	48-56
tengeri A (MC-A)	parti és nyílt óceán	0,6-1,7	van vagy nincs	PE	55-62
tengeri B (MC-B)	parti óceán	0,8-1,4	nincs	PC	63-69
tengeri C (MC-C)	parti óceán, brakkvíz	1,2-2	nincs	PC (PE)	47-50
Cyanobium (CBM)	édesvíz (brakkvíz)	0,8-1,4	nincs	PC	66-71

a. Nem tengeri, Synechococcus-típusú pikocianobaktériumok

A hagyományos megközelítés szerint a *Cyanobacterium* nemzetség (alátámasztva a molekuláris vizsgálatok eredményeit) morfológiai-biokémiai tulajdonságait tekintve (tilakoidok helyzete, karotinoid-összetétel, genom G+C% *stb.*) is határozottan különbözik a *Cyanobium*/*Synechococcus* nemzetségektől *(Komárek és mtsai. 1999; II/4. és II/5. táblázat)*. Ez utóbbi két nemzetség klasszikus elkülönítése viszont azon alapult, hogy a *Cyanobium*ok konstans sejtmérettel rendelkeznek, míg a „valódi" *Synechococcus*ok sejtjei extrém körülmények között megnyúlnak és szabálytalanul osztód-

nak *(Komárek és mtsai. 1999, Jezberová és Komárková 2007b)*. Az izolátumok között különbségek találhatók *pl.* a külső membránjuk szerkezetében, karotinoid tartalmukban, fénystressz toleranciájukban, tápanyaghiányra adott válaszukban és a sejtfelszíni struktúrákban *(Ernst és mtsai. 1996, Postius és Ernst 1999, Moser és mtsai. 2009)*. A legjellemzőbb eltérést az egyes sejttípusok között, mint azt korábban említettük, azonban a fő fénygyűjtő pigment típusa (PE vagy PC) adta és ez a tulajdonság jól megkülönböztethető volt a környezeti minták legáltalánosabban használt vizsgálati módszereivel (epifluoreszcens mikroszkópia, áramlási citometria) is.

A nukleinsav alapú vizsgálatok eredményei viszont nemcsak a korábban megalkotott nemzetségek létjogosultságát kérdőjelezték meg, hanem rávilágítottak arra is, hogy kis genetikai eltérés olykor jelentős fiziológiai-ökológiai különbségekkel párosulhat *(pl. Ernst és mtsai. 2003)* és, hogy a fotoszintézissel kapcsolatos ökofiziológiai jellemzők (*pl.* pigmenttípus) nem mindig kapcsolhatók össze a filogenetikai pozícióval[10] *(Crosbie és mtsai. 2003a, Ernst és mtsai. 2003, Chen és mtsai. 2004, Everroad és Wood 2006)*.

II/6. táblázat. A *Synechococcus*ok és *Cyanobium*ok felosztása a prokarióta taxonómia irányelvei alapján *(Herdman és mtsai. 2001 alapján)*
Az egyes csoportokhoz tartozó törzseket ld. II/1. ábra; vö. II/5. táblázat.

csoport	***méret (µm)***	***mozgás-képesség***	***genom G+C%***	***élőhely***	***egyéb jellemző***
Cyanobium (Cbm)					
'cluster 1'	*n.a.*	nincs	*n.a.*	édesvíz, brakkvíz	nem képesek tengeri tápközegben növekedni, SM-1 cianofág gazdái*
'cluster 2'	*n.a.*	nincs	70	édesvíz, brakkvíz	képesek tengeri tápközegben növekedni
Synechococcus (Syn)					
'cluster 1'	1,0-1,5	nincs	50-56	édesvíz	nincs C-PE, alacsony sótolerancia
'subcl. 1.1'	1,0-1,2	nincs	55-56	édesvíz	AS-1M cianofág gazdái
'subcl. 1.2'	1,3-1,5	nincs	50	édesvíz	AS-1M cianofág nem képes fertőzni
'cluster 2'	1,2-1,4	nincs	52-54	hőforrások	nincs C-PE, alacsony sótolerancia, termofilek**
'cluster 3'	1,2-2,0	nincs	49	tengerek	nincs C-PE, körülbelül a korábbi MC-C csoportnak felel meg***
'cluster 4'	1,9-2,1	*n.a.*	47	tengerek	obligát magas sótartalom, CA III; nitrogenáz szintézis anaerob környezetben
'cluster 5'	0,6-1,7	lehet	55-66	tengerek	a korábbi MC-A és MC-B csoportok
'subcl. 5.1'	0,6-1,7	lehet	55-62	tengerek	körülbelül a korábbi MC-A csoportnak felel meg, PUB is lehet, magas sótartalom igény
'subcl. 5.2'	0,9-1,4	nincs	63-66	tengerek	nincs C-PE

* kivéve *Cyanobium* sp. PCC 6710, PCC 7009, ** T_{opt}>53 °C, *** kivéve *Synechococcus* sp. PCC 7335; *n.a.* - nincs adat, egyéb rövidítéseket *ld. II/5.* és *F/1. táblázat.*

[10] általában az egyes csoportokra ugyanaz a pigment jellemző (PC vagy PE), de némelyik csoportnál (*pl.* A csoport, *II/4. ábra*) vegyesen fordulnak elő *(Crosbie és mtsai. 2003a)*; erre két eltérő magyarázat született *(i)* az ősi sejtek PC-t és PE-t egyaránt tartalmaztak, *(ii)* egyes csoportok tagjai a környezeti feltételekhez adaptálódva horizontális géntranszfer vagy mutáció révén jutottak hozzá az adott környezetben hatékony pigment-kombinációhoz *(Ernst és mtsai. 2003)*

Három fő rendszerezési stratégia látott napvilágot a molekuláris biológiai vizsgálatok eredményeinek tükrében: *(i)* a *Synechococcus*-csoport integrálása a prokarióta rendszertanba a baktériumokra jellemző kulcsfontosságú bélyegek (*pl.* sejtméret, genom G+C%, sótolerancia) alapján *(Herdman és mtsai. 2001; II/6. táblázat)*; *(ii)* az egyes filogenetikai csoportok elnevezése az izolátumok földrajzi előfordulása alapján *(Ernst és mtsai. 2003; II/1. ábra)* és *(iii)* ezen csoportok szám, *ill.* betűkódokkal történő ellátása *(Robertson és mtsai. 2001, Crosbie és mtsai. 2003a; II/1. ábra)*. Közös vonás mindhárom megközelítésben, hogy a faji elnevezéseket mellőzni igyekszenek (kivétel a *Cyanobium gracile, Ernst és mtsai. 2003*). Újabb törzsek jellemzése azonban a harmadik és egyben legvisszafogottabb rendszerezési megközelítés gyakorlati használhatóságát látszik igazolni. A cianobaktériumok pikofitoplankton kládján belül ugyanis számos kozmopolita csoport fordul elő, széles földrajzi elterjedéssel[11], bár néhánynál korlátozott előfordulás, endemizmus is tapasztalható *(Crosbie és mtsai. 2003a, Ivanikova és mtsai. 2007, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008)*. Kérdés persze, hogy ez utóbbi mennyire tekinthető az alulmintázottság megnyilvánulásának *(Pollock és mtsai. 2002, Crosbie és mtsai. 2003a)*, hiszen a részletes, közösségi DNS kivonáson alapuló pikofitoplankton vizsgálatok csupán néhány víztérre korlátozódtak[12]. Tovább bonyolítja a helyzetet, hogy a cianobaktériumok pikofitoplankton kládjának nem-tengeri ágain belül érdekes módon tengeri izolátumok is előfordulnak *(Everroad és Wood 2006)*.

b. Tengeri Synechococcusok

A cianobaktériumok tengeri pikofitoplankton kládja *(Urbach és mtsai. 1998)* egy monofiletikus csoport[13] valamennyi *Prochlorococcus* és a legtöbb obligát tengeri *Synechococcus* izolátummal *(II/1. ábra)*.

Újabban a tengeri *Synechococcus*ok csoportjait a riboszómális operon régióinak (16S rDNS és ITS) összehasonlító vizsgálata alapján jelölik ki és római számokkal látják el őket *(Fuller és mtsai. 2003, Ahlgren és Rocap 2006; II/1. ábra)*. Megtartva a korábbi szokást és figyelembe véve a taxonok eltérő tulajdonságainak meglétét, az így megalkotott csoportokhoz is igyekeznek egyedi jellegeket

[11] *Crosbie és mtsai. (2003a)* szerint a szabadon élő mikrobák többségének elterjedését a sejtek kis mérete és nagy abundanciája miatt kevéssé korlátozzák földrajzi határok és a legtöbb pikocianobaktérium csoport globális elterjedtsége mellett foglalnak állást

[12] érdekes tendencia, hogy az idő előrehaladtával (és újabb élőhelyek vizsgálatával) hogyan módosul a korábban korlátozott földrajzi elterjedéssel jellemzett csoportok helyzete, *pl.* a szubalpin I csoportról *(Ernst és mtsai. 2003; II/1. ábra)* már a névadás és a publikáció megjelenésének évében kiderült, hogy nemcsak közép-európai tavakból származó izolátumokat tartalmaz *(Crosbie és mtsai. 2003a)*; hasonlóan az E csoporthoz *(Robertson és mtsai. 2001; II/1. ábra)* tartozó pikocianobaktériumok kizárólag japán tavakból voltak ismertek egészen 2007-ig *(Ivanikova és mtsai. 2007, Haverkamp és mtsai. 2008, Haverkamp és mtsai. 2009)*; egy-egy újabb mintavételi hely (Felső-tó, Balti-tenger) bevonása a vizsgálatokba azonban újabb, eddig még nem kimutatott csoportok felfedezésével járhat *(Ivanikova és mtsai. 2007, Haverkamp és mtsai. 2008)*, amik talán csak ideiglenesen képviselnek az adott víztestre vonatkozó egyedi jelleget; új primerek alkalmazásával szintén új csoportok kerülhetnek elő *(Haverkamp és mtsai. 2008, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008)*

[13] 16S rDNS alapon a távolság 3%-nál kevesebb *(Moore és mtsai. 1998, Johnson és mtsai. 2006)*

kapcsolni, *pl.* a II csoport kötődését a felszíni vízrétegekhez *(Toledo és Palenik 2003)*, mozgásképességet[14] a III csoporthoz *(Toledo és mtsai. 1999, Fuller és mtsai. 2003)*, a PUB meglétét a VI csoporthoz *(Fuller és mtsai. 2006a)* vagy a kromatikus adaptáció képességét a XV csoporthoz *(Ahlgren és Rocap 2006)*. Olykor ezen tulajdonságok kizárólagos előfordulását az adott csoporton belül a későbbi kutatási eredmények felülírják, mint ahogy az a mozgásképesség esetében is történt *(Chen és mtsai. 2004)*.

A Prochlorococcus nemzetség[15]

A *Synechococcus*októl eltérően a *Prochlorococcus* nemzetség monofiletikus és kizárólag óceánokban és tengerekben fordul elő[16]. Képviselőik az ismert legkisebb sejt- és genomméretű fotoszintetikus szervezetek[17] *(Partensky és mtsai. 1999, Rocap és mtsai. 2003)*.

A sejtek egyszerű felépítése (kis sejtméret, fikobiliszómák hiánya *stb.*) meghatározó szerepet játszhat a *Prochlorococcus* nemzetség nagyfokú ökológiai sikerességében és elterjedésében tápanyagban szegény környezetetekben, így az oligotróf óceánok nyíltvízi régióiban *(Partensky és mtsai. 1999; ld.* még *F3. Függelék)*. Legnagyobb mennyiségben a felszínhez közeli, rétegzett és tápanyagokban szegény vízben fordulnak elő *(Olson és mtsai. 1990b, Campbell és mtsai. 1997, DuRand és mtsai. 2001, Johnson és mtsai. 2006)*. Mennyiségük a hőmérséklettel pozitívan, míg például a nitrát koncentrációjával negatívan korrelál, a sarki vizekből hiányoznak és csak alacsonyabb számban fordulnak elő a tápanyagban gazdagabb mélyebb régiókban *(Partensky és mtsai. 1999, Johnson és mtsai. 2006)*. Bár 16S rDNS alapon kevesebb, mint 3% különbség van a nemzetség tagjai között

[14] néhány tengeri *Synechococcus* képes a mozgás egy speciális formájára, ami bármi látható mozgató organellum nélkül valósul meg *(Waterbury és mtsai. 1985)*; ezeknek a sejteknek adaptív előnye származhat abból, hogy kemotaktikus választ adnak különféle nitrogénformák iránt, amelyek limitáló forrásként szerepelhetnek az oligotróf óceánokban *(Willey és Waterbury 1989; Toledo és mtsai. 1999)*; hasonló szerepe lehet a mozgásnak egyéb mikrokörnyezetek felderítésében is *(Toledo és mtsai. 1999)*, és nagy szedimentációs rátával jellemezhető helyeken, ahol az eltemetődés után a felszín felé mozgás (fényforrás) előnyös lehet *(Stal 1995)*

[15] a *Prochlorococcus* abban különbözik a többi proklorofitától, hogy divinil Chl *a* és *b* is megtalálható a sejtekben, míg a *Prochloron*nál és *Prochlorothrix*nél nem *(Chisholm és mtsai. 1988)*

[16] Prochlorococcus-szerű lények édesvízi előfordulásáról mindössze egy tanulmány számolt be egy eutróf délspanyolországi víztározóban *(Corzó és mtsai. 1999)*, a partikulumok azonban valószínűleg az áramlási citométer által detektált apró élettelen szemcsék lehettek *(Thomas Weisse, szóbeli közlés)*; az izraeli Kinneret-tóban (másnéven Galileai-tenger, Tiberias-tó, a Bibliában Genezáreti-tó) tenyésztéstől független molekuláris biológiai módszerekkel a tengeri *Synechococcus/Prochlorococcus* kládhoz nagyon közeli klónokat találtak, amik ősei valószínűleg abból a tengervízből származnak, amellyel a tó kapcsolatba került a földtörténeti múltban *(Junier és mtsai. 2007)*

[17] vélhetőleg annak köszönhetően, hogy a nyílt óceán relatíve állandó környezet biztosít és a génexpresszió szabályozásához nincs szükség regulációs rendszerre *(Palenik és mtsai. 2003, Rocap és mtsai. 2003)*; a kis genomméret valószínűleg a sejtek energia- és anyagforgalmi igényeinek gazdaságosabbá tételét szolgálja; ezt példázza a genom GC-arányának csökkenése is, ugyanis egy AT bázispár eggyel kevesebb nitrogénatomot tartalmaz, mint egy GC *(Dufresne és mtsai. 2005)*.

(Moore és mtsai. 1998, Urbach és mtsai. 1998), fiziológiai szempontból több eltérő csoport, *ún.* ökotípus[F] található közöttük *(Moore és mtsai. 1998, West és Scanlan 1999, West és mtsai. 2001)*. Ezek jelentősen különböznek fényintenzitási optimumukban, pigment-összetételükben, fénygyűjtő hatékonyságukban, nitrogén-hasznosítási képességükben és cianofág-specifitásukban is, és ennek megfelelően különböző niche-eket foglalnak el az óceánokban és tengerekben horizontálisan és a vízmélység szerint *(pl. West és Scanlan 1999, Johnson és mtsai. 2006, Zwirglmaier és mtsai. 2008)*.

A kisebb Chl b/a_2 aránnyal rendelkező törzsek nagyobb fényintenzitás mellett képesek növekedni, ahol a nagyobb Chl b/a_2 arányú *Prochlorococcus*ok viszont nem *(Moore és mtsai. 1998)*. Ennek alapján különítik el a felszínhez közeli, általában tápanyagokban szegényebb vízrétegekre jellemző HL ('high light-adapted', azaz erős fényhez) és az alsóbb, tápanyagokban gazdagabb rétegekben előforduló LL ('low light-adapted', azaz gyenge fényhez adaptálódott) ökotípusokat[18] *(Moore és mtsai. 1998, West és Scanlan 1999, West és mtsai. 2001, Fuller és mtsai. 2005, Fuller és mtsai. 2006a)*. Ebben az esetben a filogenetika és a fenotípus is jól összekapcsolható *(II/1. ábra)*, abból pedig, hogy az LL ökotípus para-, míg a HL monofiletikus *(Moore és mtsai. 1998, Rocap és mtsai. 2002)* egyes szerzők evolúciós folyamatokra is következtetnek[19]. Míg a kétféle típusú *Prochlorococcus* a nemzetség elterjedési területén belül szinte mindenhol előfordul, a HL ökotípus két csoportja (HL I és HL II) esetében geográfiai szeparáció figyelhető meg *(West és mtsai. 2001, Zwirglmaier és mtsai. 2008)*. Más szerzők ezzel szemben hat ökotípust különítenek el a *Prochlorococcus*okon belül *(Rocap és mtsai. 2002, Johnson és mtsai. 2006; II/1. ábra)*.

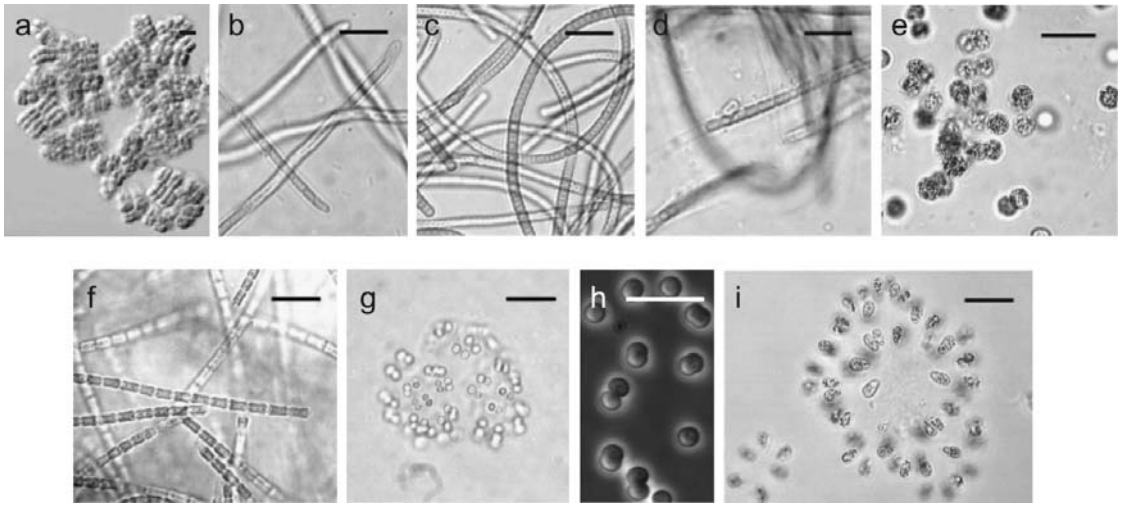
Egyéb nemzetségek

A korábban bemutatott, legjelentősebb nemzetségek mellett talán a *Synechococcus*nál nagyobb méretű (2-5 μm) *Synechocystis limnetica* nevével találkozhatunk a leggyakrabban *(Swanson és mtsai. 1991)*. Mivel újabban a pikoalga nemcsak egysejtű formákat jelöl (a kolóniaképzésről *ld. F4. Függelék*), és a kolóniákról leszakadhatnak morfológiai tekintetben a *Synecho-* és *Prochlorococcus*okhoz sok esetben nagyon hasonló sejtek, előfordulhat, hogy ezeket az egyedeket is beleszámolják a pikocianobaktériumok abundanciájába.

[18] felkeverő hatások következtében mindkettő ökotípus előfordulhat ugyanazon vízmélységben vagy akár a teljes vízoszlopban is *(Ferris és Palenik 1998, Moore és mtsai. 1998, West és mtsai. 2001, Zeidner és Béjà 2004, Fuller és mtsai. 2005)*

[19] miután az ősi *Prochlorococcus* típus megszerezte a Chl a_2 és b_2 szintézisének tulajdonságát, képessé vált az óceánok mélyebb vízrétegeinek kolonizálására (LL ökotípus), ahol a tápanyagokért folytatott versengés kevésbé volt kifejezett, majd további módosulások eredményeként túlélése biztosítottá vált nagyobb fényintenzitások mellett is (HL ökotípus) *(Rocap és mtsai. 2002, Dufresne és mtsai. 2005)*

Édesvizek planktonikus, olykor *piko* méretű sejtekkel is rendelkező, de jellemzően nem a pikocianobaktériumok közé sorolt képviselői lehetnek még az egysejtű *Cyanothece* és a kolóniás *Aphanocapsa, Aphanothece, Chroococcus, Cyanodictyon, Merismopedia, Microcystis*, *Snowella* és *Woronichinia* nemzetségek *(Callieri és Stockner 2002, Rajaniemi-Wacklin és mtsai. 2005, Willame és mtsai. 2006)*. Megemlíthetjük továbbá, hogy a *Geitlerinema*, *Komvophoron*, *Leptolyngbya* és *Pseudanabaena* fonalak sejtjei is lehetnek 2 µm-nél kisebbek *(Rajaniemi-Wacklin és mtsai. 2005, Willame és mtsai. 2006)*. Az itt említett nemzetségek *(II/5. ábra)* jelentős részének taxonómiája azonban a *Synechococcus*okhoz hasonlóan problémás, revíziót igényel *(Robertson és mtsai. 2001, Komárková és mtsai. 2010; II/1. ábra)*.



II/5. ábra. Olykor *piko* méretű sejtekkel is rendelkező, de jellemzően nem a pikocianobaktériumok közé sorolt nemzetségek tagjainak mikroszkópos képe
(a: Komárková és mtsai. 2010; b-g és i: Willame és mtsai. 2006; h: Marbouty és mtsai. 2009 alapján)
***a:** Chroococcus sp. JJCM, **b:** Geitlerinema sp. 0BU40S1, **c:** Komvophoron sp. 0RO36S1, **d:** Leptolyngbya sp. 1ES25S1, **e:** Microcystis sp. 7JL33S1, **f:** Pseudanabaena sp. 02036S2, **g:** Snowella litoralis 1ES42S2, **h:** Synechocystis sp. PCC 6803, **i:** Woronichinia naegeliana 1ES42S1; méretvonal 10 µm.*

Pikoeukarióta algák

Az apró, gömb alakú zöldalgákat (Chlorophyta) leginkább *Chlorella* vagy Chlorella-szerű, *ill. Nannochloris* és Nannochloris-szerű algaként említették *(Stockner 1991)*. Mára a korábban több mint 100, édes-, tengervízből és talajból izolált, *ill.* endoszimbionta[20] fajt magában foglaló, az alapkutatásban és az alkalmazott tudományok területén egyaránt jelentős *Chlorella* nemzetség mindössze három fajra szűkült (*Chlorella lobophora*, *C. sorokiniana* és *C. vulgaris*). Számos korábban ide tartozó faj molekuláris biológiai vizsgálatok (genom G+C%, 18S rDNS és ITS régiók bázissor-

[20] az endoszimbionta fajokat eredetileg *Zoochlorella*nak nevezték *(Luo és mtsai. 2010)*

rend elemzése) alapján más (sokszor új) nemzetségbe került át[21] *(Huss és mtsai. 1999, Krienitz és mtsai. 2004; Melléklet M/3. táblázata)*. Hasonlóképpen a *Nannochloris* nemzetségről is bebizonyosodott polifiletikus volta *(Yamamoto és mtsai. 2003, Henley és mtsai. 2004; Melléklet M/3. táblázata)*. Sőt, megállapították, hogy édesvízben inkább a *Choricystis*, *Mychonastes* és *Pseudodictyosphaerium* nemzetségek képviselői alkotják döntően az eukarióta pikofitoplanktont *(Padisák és mtsai. 1997, Hepperle és Krienitz 2001, Hepperle és Schlegel 2002, Fawley és mtsai. 2004, Fawley és mtsai. 2005, Somogyi és mtsai. 2009a)*, és a *Chlorella* fajok csak a tágabban értelmezett *piko* méret-kategória (≤ 3 μm) felső határán találhatók, bár az autospórák mérete lehet 2 μm-nél is kisebb *(Callieri 2008; II/7. táblázat)*.

Megdőlni látszik az az általánosan elfogadott nézet is, amely szerint az édesvízi eukarióta pikofitoplanktont kizárólag a Chlorophyta csoport tagjai alkotják. Ugyanis az utóbbi években több kontinensről leírták az (előzőektől epifluoreszcens mikroszkópiával nem megkülönböztethető) *Nannochloropsis limnetica* (Heterokontophyta) előfordulását édesvizekben *(Krienitz és mtsai. 2000, Fietz és mtsai. 2005, Fawley és Fawley 2007)*, amely akár tömegprodukciót ('bloom') is okozhat *(Krienitz és mtsai. 2000)*. Egyes apró kovaalgák (Bacillariophyceae) sejtjei (*Cyclotella* és *Stephanodiscus* nemzetségek) is elérhetik a piko méretkategória felső határát (2-3 μm) *(Callieri és Stockner 2002)*.

Az édesvízi eukarióta pikofitoplankton meglehetős morfológiai *(II/6. ábra)* és taxonómiai szegénységétől *(II/7. és Melléklet M/1. ábra)* eltérően a tengeri pikoeukarióta algáknak mintegy 70 faját különböztetik meg, amelyek számos magasabb rendű taxon között oszlanak el, lényegesen nagyobb morfológiai és genetikai diverzitást képviselve (*Vaulot és mtsai. 2008; Melléklet M/4. táblázata)*. A kép azonban korántsem teljes, évente több új tengeri csoport felfedezéséről számolnak be[22].

3. A planktonikus pikoalgákat befolyásoló környezeti hatások

A pikofitoplankton mennyiségének és összetételének idő- és térbeli szerkezetét számos abiotikus (fény, hőmérséklet, tápanyagok mennyisége, pH *stb.*) és biotikus hatás (predáció, virális lízis *stb.*) befolyásolhatja. Ezek a hatások sokszor nagyon intim kapcsolatban vannak, és olykor nem is az a változó magyarázza a megfigyelt jelenséget, amiről azt először gondolnánk; *pl.* a sejtek aggregálódhatnak egymáshoz és szerves partikulumokhoz *(Simon és mtsai. 2002)*, majd lesüllyedve az afotikus zónában látszólagos tömegprodukciót okozhatnak *(Budinoff és Hollibaugh 2007)*.

[21] a legújabb vizsgálatok nagyszámú törzs bevonásával további kriptikus, leírásra váró fajok jelenlétét valószínűsítik a nemzetségen belül *(Müller és mtsai. 2005, Luo és mtsai. 2010)*

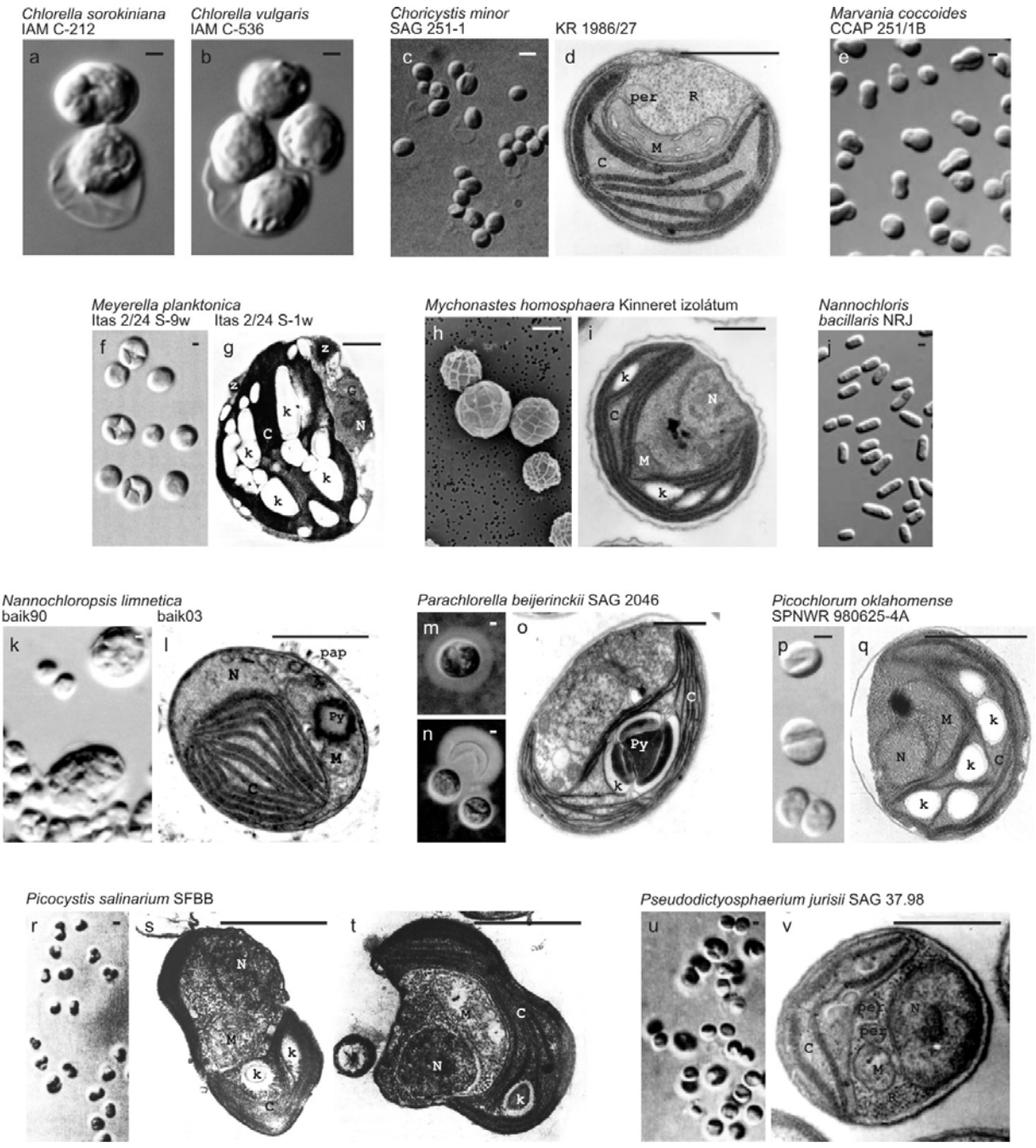
[22] *pl.* a nemrég felfedezett tengeri pikoalga csoport, az egysejtű pikobilifiták (~2-6 μm), amelyek vélhetőleg másodlagos endoszimbiózissal szerezték meg plasztiszukat és a fikobilineket *(Not és mtsai. 2007)*

II/7. táblázat. A leggyakoribb, kontinentális vizekben előforduló egysejtű pikoeukarióta algák (≤ 3 µm-es legkisebb átmérőjű sejtekkel rendelkező fajok) és főbb jellemzőik

(Krienitz és mtsai. 1996, Hanagata és mtsai. 1999, Krienitz és mtsai. 2000, Lewin és mtsai. 2000, Hepperle és Krienitz 2001, Hepperle és Schlegel 2002, Roesler és mtsai. 2002, Yamamoto és mtsai. 2003, Henley és mtsai. 2004, Krienitz és mtsai. 2004, Yamamoto és mtsai. 2004, Fawley és mtsai. 2005, Fietz és mtsai. 2005, Fawley és Fawley 2007, Yamamoto és mtsai. 2007, Vaulot és mtsai. 2008, Luo és mtsai. 2010 adatai alapján)

nemzetség	***faj***	***méret* (µm)***	***alak***	***jellemző tulajdonság***
Chlorophyta, Chlorophyceae				
Mychonastes	*homosphaera*	1,5-4,5 (5)	gömb, ovális	osztódás autospóra képzéssel[F] (2, 4 vagy 8), bordázott sejtfal, csésze alakú plasztisz pirenoid[F] nélkül, plasztoglobulus[F] előfordulhat, sejtjei összetapadhatnak
*Pseudodictyosphaerium***	*jurisii*	2,3-4,5	gömb	osztódás autospóra képzéssel; általában laza szerkezetű, kocsonyás mátrixba ágyazott, szálakkal egymáshoz kapcsolt kolóniás forma, ami széteshet magányos sejtekre; plasztisz pirenoid nélkül
Chlorophyta, Trebouxiophyceae				
*Chlorella****	*'minutissima* C-1.1.9' *sorokiniana vulgaris*	2,5-5 (6-8)	gömb	osztódás autospóra képzéssel (2 vagy 4), sima sejtfal, nincs kocsonyaburok, pirenoid van
*Choricystis****	*minor*	1,5-3	gömb, ovális	osztódás autospóra képzéssel (2), sima sejtfal, szalag alakú plasztisz pirenoid nélkül, olykor kolóniát képez kocsonyás burokkal
*Marvania****	*coccoides*	2-3	gömb	bimbózásos osztódás[F]
Meyerella	*planktonica*	1,8-5,0 (~ 6)	gömb, ovális	osztódás autospóra képzéssel (2 vagy 4), szalag alakú plasztisz pirenoid nélkül számos keményítőszemcsével, zsírcseppek gyakoriak
Nannochloris	*bacillaris*	1-1,5 × 3-5	pálcika	kettéosztódás[F]
*Parachlorella****	*beijerinckii*	2,5-8	gömb, ovális	osztódás autospóra képzéssel (2, 4 vagy 8), olykor kocsonyaburok jellemző
Picochlorum	*oklahomense*	2	gömb, ovális	osztódás autospóra képzéssel (2), keményítőszemcsék előfordulhatnak, hiperszalin környezetekben fordul elő
Chlorophyta, Prasinophyceae				
Picocystis	*salinarum* ML törzs*****	1-3	gömb, három-karéjú	autosporuláció, a sejtfal fő komponense poliarabinóz******, különleges karotinoid összetétel, széles pH- és sótolerancia, alacsony fényviszonyokat és anoxikus körülményeket is jól tolerál, kizárólag sós tavakban fordul elő
Heterokontophyta, Eustigmatophyceae				
*Nannochloropsis****	*limnetica*	1,5-6	gömb, ovális, szív, csepp	autosporuláció, 1-8 plasztisz, óriássejtek is (akár 10 µm), sejtfal papilla, bimbózásos osztódás, hideg időszakokhoz adaptált, nagy mennyiségű ω3-telítetlen zsírsav

* kizárólag a megnevezett fajokra vonatkozó adatok, zárójelben az autosporangium mérete; ** eredetileg *Dictyosphaeropsis*; *** ezekben a nemzetségekben egyéb, *piko* méretűnél nagyobb sejtekkel rendelkező planktonikus fajok is előfordulnak, *pl. Marvania geminata* (3,5-3,8 µm), *Parachlorella kessleri* (5-8 µm) és számos *Choricystis* faj (3-15 µm); **** feltehetőleg a *Picocystis salinarum*mal nem azonos fajt képvisel, taxonómiai leírása eddig nem történt meg; ***** a többi klorofitánál glükóz, mannóz és glükózamin polimer a szálas sejtfalalkotó



II/6. ábra. Kisméretű, kontinentális vizekben előforduló planktonikus eukarióta algák

(a és b: Yamamoto és mtsai. 2003; c és d: Krienitz és mtsai. 1996; e: Yamamoto és mtsai. 2007; f és g: Fawley és mtsai. 2005; h és i: Hanagata és mtsai. 1999; j: Yamamoto és mtsai. 2007; k és l: Fietz és mtsai. 2005; m, n és o: Krienitz és mtsai. 2004; p és q: Henley és mtsai. 2004; r, s és t: Lewin és mtsai. 2000; u és v: Krienitz és mtsai. 1999 alapján)

Méretvonal: 1µm; C: kloroplasztisz, G: Golgi-test (diktioszóma), k: keményítőszemcse, M: mitokondrium, N: nukleusz, per: peroxiszóma, pap: sejtfal papilla, Py: pirenoid/pirenoid-szerű test, R: riboszómák, z: elektrondenz zárványok; ld. még Melléklet M/2. ábra.

Fény

A vízalatti fényklímát[F] (a fény intenzitását és spektrális összetételét) döntően befolyásolja a vízmolekulák fényabszorpciója (510, 600 és 740 nm környékén, *II/3.c. ábra*), ami a különböző vibrációs mozgásokhoz szükséges energiát fedezi *(Stomp és mtsai. 2007a)*. Az így létrejövő elkülönülő spektrális niche-ek megfeleltethetők a bolygónkon található főbb fotoszintetikus pigmentek abszorpciós spektrumával, vagyis a fototróf[F] szervezetek képesek voltak pigmentjeik révén a bolygónkon hozzáférhető „fénykínálathoz" alkalmazkodni *(Stomp és mtsai. 2007a; II/3. ábra)*.

A tiszta víz főként vörös és infravörös tartományban abszorbeál, a vörös fény *kb.* 10 méter mélyen már szinte teljesen eltűnik a spektrumból. Ez eredményezi az óceánok kék színét *(II/3.c-d. ábra)*. A vízmolekulán kívül azonban különböző oldott és lebegőanyagok szintén jelentős meghatározói a vízalatti fényklímának, ezek jellemzően a spektrum kék tartományában nyelnek el. Így ezen anyagok növekvő mennyiségével a vízalatti fény spektrális összetételének meghatározója a zöld, majd a vörös fény lesz *(II/3.c. ábra)*, létrehozva az *ún.* vörös eltolódás ('red shift') jelenségét. Harmadik tényezőként magának a fitoplanktonnak az abszorpciója szerepelhet, annak pigmentösszetételtől függő specifikus elnyelésével. Hazai sekély tavaink vízalatti fényklímájára a vörös és zöld fény dominanciája jellemző.

Bár a fénnyel kapcsolatos kutatások eredményei egyértelművé tették, hogy a pikofitoplankton mennyiségi és minőségi viszonyainak meghatározásában a vízalatti fényklíma fontos szerepet játszik *(Pick 1991, Callieri és mtsai. 1996, Vörös és mtsai. 1998, Stomp és mtsai. 2007a, Stomp és mtsai. 2007b)*, az egyszerűség kedvéért sokszor a fénykioltás mértékét megadó *vertikális extinkciós koefficienssel*[F] keresnek összefüggéseket[23] *(Pick 1991, Vörös és mtsai. 1998)*. Mivel maga a víz is specifikus hullámhosszon eredményez fénykioltást, a víz mélysége, a fényintenzitás és a spektrális összetétel szoros kapcsolatban van egymással.

A vízalatti fényklíma alapvetően meghatározza a pigmenttípusok eloszlását. A főként vörös fényt abszorbeáló PC-gazdag (zöldeskék színű) pikocianobaktérium sejtek sekély, eutróf és „színes" vizekre jellemzőek általánosságban; míg a kék fényt hasznosító PE-pigment-dominanciájú (vörös) törzsek a mély, oligotróf és mezotróf tavaknak, valamint az óceánok és tengerek nyíltvízi régióinak domináns tagjai *(Pick 1991, Vörös és mtsai. 1991, Vörös és mtsai. 1998, Wood és mtsai. 1998, Stomp és mtsai. 2007b)*. Más cianobaktériumoktól eltérően azonban a vízalatti fényklíma meg-

[23] kimutatták, hogy a vertikális extinkciós koefficiens 0,25 m^{-1} alatti értékei esetén a jellemzően a kék és zöld fény, míg 2,25 m^{-1} feletti értékei esetében a vörös fény hatol legmélyebbre *(Vörös és mtsai. 1998)*

változásához nem képesek a PE és PC kiegészítő szintézisével adaptálódni (*Grossman és mtsai. 1993; F2. Függelék)*, ezért a fényviszonyok megváltozása az édesvízi *Synechococcus*ok esetében döntően kihat a genotípusok eloszlására is *(pl. Crosbie és mtsai. 2003a)*.

A fényklíma és a taxonómiai determináltság másik érdekes példáját adja a tengeri pikocianobaktériumok eloszlása. A *Prochlorococcus* nemzetség tagjainak fénygyűjtő antennája alkalmasabbá teszi őket a kék tartományban történő fényabszorpcióra, mint a zöldére *(Morel és mtsai. 1993, Moore és mtsai. 1995, Ting és mtsai. 2002; II/3. ábra)*; ezért az óceánok nyíltvízi régióiban a *Prochlorococcus*ok dominanciája a mélyebb régiókra (~30 m alatt) jellemző *(Olson és mtsai. 1990b, Partensky és mtsai. 1997, Ting és mtsai. 2002)*, ahol a kék fény az uralkodó *(Kirk 1994)*. Ellentétben a felszínhez közeli rétegekkel, ahol a kék és zöld fény a *Synechococcus*ok szaporodásának kedvez, köszönhetően a fikobiliszómáikban megtalálható pigmenteknek *(Morel és mtsai. 1993, Moore és mtsai. 1995; II/3. ábra)*. Az óceánok parti régióiban viszont hiányoznak a *Prochlorococcus* nemzetség tagjai még a mélyebb rétegekből is, és kizárólagosan a *Synechococcus*ok képviselik a pikocianobaktérium frakciót *(Carr és Mann 1994, Partensky és mtsai. 1997)*, itt ugyanis az óceán vizének összetétele (huminanyagok és a fitoplankton magas koncentrációja) miatt szintén a zöld fény az uralkodó *(Kirk 1994)*.

A fény spektrális összetétele mellett a vízalatti fényklíma másik fő meghatározója a fényintenzitás. Alacsony fényintenzitási viszonyok pedig a pikoalgák elterjedésének kedveznek *(II/2. táblázat)*. Az intracelluláris pigment-koncentráció csökken a növekvő sejttérfogattal *(Bricaud és mtsai. 1988)* megakadályozva a pigmentek miatt bekövetkező sejten belüli fénykioltás hatásának erősödését. Részben ezzel magyarázható, hogy a kisebb méretű sejtek több fényt abszorbeálnak sejttérfogatukhoz képest, mint a nagyobb méretűek és jobb kompetítorok fényszegény viszonyok mellett[24] *(Agustí 1991)*. Édesvízben pozitív korrelációt találtak a fényextinkciós koefficiens és az eukarióta pikoalgák a pikoplankton biomasszájához viszonyított aránya között *(Pick és Agbeti 1991)*, és negatív összefüggést a pikocianobaktériumok sejtszáma és a fénykioltás, *ill.* a PE-pigment-dominanciájú sejtek aránya és a fénykioltás között *(Pick 1991, Stomp és mtsai. 2007b)*.

A pikoalgák akár a felszíni fény kevesebb, mint 0,1%-a mellett is képesek növekedni *(Roesler és mtsai. 2002)*. A mélyebben fellelhető pikoalga sejtek erősebb autofluoreszcenciát mutatnak, mint a felszín közelében levők *(Li és Wood 1988, Olson és mtsai. 1990a, Padisák és mtsai. 1997)*. A *Synechococcus*ok alacsony fényviszonyokhoz történő adaptációjuk során megnövelik a Chl/sejt *(Malinsky-Rushansky és mtsai. 2002)* és a fikobiliszóma/Chl *a* arányukat *(Kana és Glibert 1987)* a fényabszorpció hatékonyabbá tétele érdekében. Erőteljes megvilágítás esetén viszont a PE/Chl

[24] a mérsékelt övi tavak mélyebb rétegeiben is dominánsak lehetnek *(Malinsky-Rushansky és mtsai. 1997)*, a *mélységi Chl maximum* ('deep chlorophyll maxima') jelentős hányadáért több esetben pikocianobaktériumok a felelősek alacsony fényviszonyok mellett vagy akár a termoklin alatt *(Fahnenstiel és Carrick 1992, Padisák és mtsai. 2003, Becker és mtsai. 2007)*

arány csökkentésével védekeznek a fény károsító hatása ellen *(Postius és mtsai. 1995)*. A fikobiliszómával nem rendelkező *Prochlorococcus* és az eukarióta pikoalga *Picocystis* az alacsony fényviszonyokhoz történő alkalmazkodást Chl-tartalmának és Chl *b*/*a* arányának növelésével éri el[25] *(Roesler és mtsai. 2002)*. *Callieri és mtsai. (2007a)* az oligotróf, mély Maggiore-tóban a felszínhez közelebb kisebb és produktívabb, de fotoszintetikusan kevésbé hatékony *Synechococcus* sejteket figyelt meg a mélyebb régióhoz képest.

A fényintenzitás is, a spektrális összetételhez hasonlóan kihathat a genotípusok eloszlására, amit jól példáz a HL és LL *Prochlorococcus* ökotípusok már korábban említett esete. A *Synechococcus* nemzetségnél is megfigyelték, hogy eltérő típusok találhatók vertikálisan a vízoszlopon belül, ami részben legalábbis a különböző fényviszonyokhoz történő adaptációval magyarázható *(Malinsky-Rushansky és mtsai. 2002, Toledo és Palenik 2003)*.

Hőmérséklet

Az édes- és tengervízben általános jelenség, hogy a pikoeukarióta algák inkább a hidegebb időszakban, míg a pikocianobaktériumok a melegebb időszakokban dominálnak *(Weisse 1993, Malinsky-Rushansky és mtsai. 1995, Mózes és mtsai. 2006, Callieri 2008, Somogyi és mtsai. 2009b)*. Óceánokban a két fő pikocianobaktérium csoport is eltérő hőmérsékleti preferenciát mutat, a *Prochlorococcus*ok a melegebb régiókra jellemzőek, míg a *Synechococcus*ok hidegtűrőbbek *(Lindell és Post 1995, Fuller és mtsai. 2005, Fuller és mtsai. 2006a)*. A *Synechococcus*ok előfordulása egyébként meglehetősen széles hőmérsékleti skálán figyelhető meg, a sarki folyók 0 °C körüli vizétől *(Waleron és mtsai. 2007)* a hőforrások vizéig, ahol akár a fotoszintetikus élet felső határán (73 °C, *Brock 1967*) is képesek meg-(vagy túl)élni *(Miller és Castenholz 2000)*.

A hőmérsékleti szélsőségekhez történő alkalmazkodás azonban jelentős evolúciós költségekkel jár. Termotoleráns *Synechococcus* törzseknél alacsonyabb növekedési rátát, szűkebb szaporodási hőmérséklet-tartományt, valamint a fagyással és kiszáradással szembeni nagyobb érzékenységet figyeltek meg a kevésbé hőtűrő törzsekhez képest *(Miller és Castenholz 2000)*. Izolált törzsekkel végzett kísérletek során szintén megerősítették, hogy a pikocianobaktériumok magasabb hőmérsékleti tartományt kedvelnek, mint a pikoeukarióta algák *(Malinsky-Rushansky és mtsai. 2002, Somogyi és mtsai. 2009b)*. Ennek magyarázatát adhatja, hogy a CO_2 oldhatósága és hozzáférhetősége csökken a hőmérséklet emelkedésével és a cianobaktériumok nagyobb CO_2-affinitással bírnak *(Shapiro 1990, Badger és Price 2003)*. Az egyes tengeri *Synechococcus* és *Prochlorococcus* genotípusok

[25] *ld.* még HL és LL *Prochlorococcus* ökotípusok pigment összetételét (22. oldal)

globális térbeli eloszlásában is meghatározó szerepe van ezen csoportok hőmérsékleti optimumának *(Zwirglmaier és mtsai. 2008)*.

Nemcsak a pikofitoplankton összetételét, hanem a mennyiségi viszonyokat is döntően meghatározza a hőmérséklet *(Weisse 1993, Agawin és mtsai. 2000, Jing és mtsai. 2009)*, ezt azonban (hasonlóan a többi környezeti változóhoz) egyéb hatások (predáció, tápanyag-limitáció *stb.*) jelentősen torzíthatják.

Tápanyagok[26]

Mint azt korábban már említettük, oligotróf környezetekben a pikofitoplankton tagjai kis sejtméretüknek köszönhetően nagyobb hatásfokkal képesek felvenni a tápanyagokat a nagyobb méretű sejtekkel rendelkező algákhoz képest *(Weisse 1993, Raven 1998; II/2. táblázat)*. A mérsékelt övi tavakban a tavaszi tömegprodukciót követően megfigyelhető hanyatlás is többnyire a tápanyag-limitációnak tudható be *(Weisse 1993, Callieri 2008)*, viszont ha nincs ilyen jellegű korlátozás, akkor a pikoplankton mennyiségének csökkenése is elmarad[27] *(Vörös és mtsai. 1991)*.

Általánosságban elmondható, hogy az oligotróf óceánokban a nitrogén és vas *(Mills és mtsai. 2004)*, míg édesvízben elsősorban a foszfor az elsődleges termelést leginkább korlátozó tápanyag *(Schindler 2006)*[28]. Természetesen a limitáló tápanyag milyensége döntő befolyással lehet a pikoplankton mennyiségi és minőségi eloszlására.

A pikocianobaktériumoknak kisebb a metabolikus költsége a sejtek fenntartására, mint az eukariótáknak, az egyszerűbb felépítés miatt (belső membránok, DNS mennyisége *stb.*; *Weisse 1993)*. Sőt, megdőlni látszik a klasszikus nézet, amely szerint a cianobaktériumok a növényekhez hasonlóan kizárólag szervetlen tápanyagformákat képesek hasznosítani *(Zehr és Ward 2002)*. Ezt újabban a genomvizsgálatok is megerősítettek *(Palenik és mtsai. 2003, Rocap és mtsai. 2003)*.

[26] mivel a dolgozat diszkussziójában a tápanyagokkal kapcsolatos fejtegetések a pikocianobaktériumokra vonatkoznak, az irodalmi áttekintésben is főként erre a csoportra vonatkozó kutatási eredményeket tekintjük át

[27] eutróf tavakban a tápanyagkínálat mértékénél valószínűleg jelentősebb hatás tulajdonítható a predáció általi kontrollnak *(Weisse 1993, Agawin és mtsai. 2000)*

[28] kivételek persze vannak; *pl.* az utóbbi néhány évtizedben bizonyos óceáni régiókban a nitrogén-limitáltság felől a foszforhiány felé történt eltolódás *(Moore és mtsai. 2005)*; egyes patagóniai ultraoligotróf tavakban a nitrogén limitáló szerepe fontosabbnak bizonyult a foszforéhoz képest *(Diaz és mtsai. 2007)*

Nitrogén

A különböző pikocianobaktérium törzsek eltérő nitrogénformákat (ammónium, nitrát, urea) preferálnak *(Toledo és Palenik 1997)*, és eltérően reagálnak a N-hiányos körülményekre *(Postius és Böger 1998)*. *Prochlorococcus*ok *pl.* nem képesek nitrátot hasznosítani, kizárólag ammóniumot, ureát és/vagy nitritet[29], míg néhány tengeri *Synechococcus* törzs kizárólag ammóniumon képes nőni *(Moore és mtsai. 2002, Fuller és mtsai. 2003)*, megfelelően az élőhelyükön fellelhető formáknak *(Melléklet M/3. ábra)*. Ezzel magyarázható az a jelenség, hogy az óceánokban az időszakos feláramlás következtében (ami nitrátot juttat a felsőbb vízrétegekbe) *Synechococcus* vízvirágzás figyelhető meg *(Lindell és Post 1995, DuRand és mtsai. 2001)*. Bizonyos *Synechococcus* és *Prochlorococcus* törzsek képesek aminosavakat hasznosítani *(Willey és Waterbury 1989, Moore és mtsai. 2002, Zubkov és mtsai. 2003)*, sőt akár cianátot is *(Palenik és mtsai. 2003)*. A *Synechococcus*oknak viszonylag nagy a N-igényük a fikobiliszómák jelentős N-tartalma miatt *(Moore és mtsai. 2002)*.

Az egysejtű, 3 μm körüli méretű *Cyanothece* és *Crocosphaera* nemzetség tengerekben élő tagjai[30] képesek légköri nitrogén megkötésére *(Zehr és mtsai. 2001, Mazard és mtsai 2004)*. Számos édesvízi egysejtű cianobaktérium is képes diazotróf[F] anyagcserére (*Aphanothece, Gloeocapsa, Gloeothece stb.*), de ezek nem tartoznak a *piko* méret-kategóriába (> 3 μm, *Herdman és mtsai. 2001*). *Synechococcus*ok nitrogén-fixációját mutatták ki viszont mélytengeri hőforrások élőbevonatában, ahol napi ritmust mutatott és az éjszakai anoxikus körülmények között volt megfigyelhető *(Steunou és mtsai. 2006)*. A legújabb kutatási eredmények szerint planktonikus egysejtű pikocianobaktérium formák (0,7-1,5 μm átmérőjű sejtek) között is előfordulhatnak az óceánokban diazotróf szervezetek, sőt olykor jelentős arányban *(Biegala és Raimbault 2008, Le Moal és Biegala 2009, Bonnet és mtsai. 2009)*. Édesvízi pikocianobaktériumok nitrogén-fixációját mindeddig azonban nem igazolták.

A hozzáférhető N-formáknak hatása lehet a kolóniaképződésre is. *Mózes és mtsai. (2006)* szoros negatív korrelációt találtak az (ammónium+nitrát+urea)-koncentráció és a kolóniás pikoplankton formák száma között. Néhány, a cianobaktériumok pikofitoplankton kládján kívüli

[29] a HL *Prochlorococcus*ok elvesztették a nitrát és nitrit hasznosításának képességét, ami vélhetőleg összefügg azzal, hogy ez az ökotípus az óceánok felszíni rétegeiben gyakori, ahol kevés az oxidált nitrogénforma, míg az LL ökotípusok az eufotikus zóna alján gyakran fellelhető nitritet is képesek hasznosítani, szintén összhangban természetben megfigyelt eloszlásukkal *(Moore és mtsai. 2002, Scanlan és West 2002; Melléklet M/3. ábra)*

[30] korábban egyszerű morfológiájuk miatt több publikációban is *Synechococcus*ként vagy *Synechocystis*ként szerepelnek *(pl. Grobbelaar és mtsai. 1986, Turner és mtsai. 2001, Zehr és mtsai. 2001)*, bár filogenetikailag egyértelműen különálló csoportot képviselnek *(Mazard és mtsai. 2004; II/1. ábra)*

filogenetikai helyzetű *Synechococcus* képes cianoficin[31] (intracelluláris granulumok formájában előforduló nitrogén-raktározó vegyület) felhalmozására is *(Wingard és mtsai. 2002)*.

Foszfor

Óceánokban a foszfor-koncentráció csökkenésével párhuzamosan a *Synechococcus*ok száma lecsökken, míg a *Prochlorococcus*oké változatlan marad vagy növekszik, vélhetőleg ez utóbbi csoport jobb tápanyag-felvételi hatékonysága miatt, ami a kisebb sejttérfogat kedvezőbb felület/térfogat arányából következik *(Fuller és mtsai. 2005, Mühling és mtsai. 2005)*. A *Synechococcus*ok egyébként előszeretettel hasznosítják az ortofoszfát formát, és nagyobb affinitással veszik fel, mint a baktériumok vagy más, nagyobb méretű algák *(Vadstein 2000, Moutin és mtsai. 2002)*. Sőt, egyes képviselőik foszfonáton[32], mint egyedüli foszfor-forráson is képesek növekedni *(Palenik és mtsai. 2003)*, és a genomszekvenálás eredményei arra utalnak, hogy egyes törzsek más szerves foszfor-formákat is képesek hasznosítani *(Palenik és mtsai. 2003)*.

A tápanyag-limitáció hatásai

A fitoplankton elemösszetétele az *ún.* Redfield-arányok szerint C:N:P átlagosan 106:16:1 *(Goldman 1986)*, ami jelentősen eltér a heterotróf baktériumoknál tapasztalt tipikus értékektől (50:10:1, *Fagerbakke és mtsai. 1996*). A pikofitoplankton alacsony tápanyag-koncentrációk melletti túlélésének magyarázatára számos mechanizmus ismert *(Callieri 2008)*: *(i)* szűkös ortofoszfát hozzáférés mellett extracelluláris foszfatázokkal szerves foszfátokat hidrolizálhatnak, hogy az így felszabaduló ortofoszfátot aztán felvegyék *(Jansson és mtsai. 1988)*; *(ii) Prochlorococcus*ok képesek olyan lipidek (sulfokinovozil-diacilglicerol) előállítására, amelyek foszfát helyett ként és cukrot tartalmaznak *(Van Mooy és mtsai. 2006)*; *(iii)* a fikobiliszómák nitrogén-raktárként szolgálhatnak nitrogénhiány esetében *(Wyman és mtsai. 1985, Postius és Böger 1998, Postius és Ernst 1999)*, ugyanis a sejt oldékony fehérjéinek akár 50-60% százalékát kitevő fikobiliproteinek tápanyag-limitációnál gyorsan degradálódnak és a keletkező aminosavak a tápanyagstressz átvészeléséhez elengedhetetlenül szükséges fehérjék szintéziséhez felhasználhatóak *(Grossman és mtsai. 1993) stb.*

[31] multi-L-arginil-poli-(L-aszparaginsav)

[32] C-P kötéssel rendelkező vegyületek, amelyek a tengervíz teljes foszfortartalmának jelentős részét adhatják *(Clark és mtsai. 1998)*

Az, hogy az egyes pikoalgák hogyan képesek tolerálni bizonyos tápanyagok limitáló koncentrációját akár közeli rokon törzsek esetében is eltérő lehet, amire egyértelműen utalnak a *Prochlorococcus*ok foszfor-anyagcsere génjeinek előfordulásában tapasztalt jelentős különbségek *(Moore és mtsai. 2005)*. A tápanyagok koncentrációjának változása azonban nemcsak az egyes genotípusok/ökotípusok mennyiségére lehet hatással, hanem azok morfológiai jellemzőit is befolyásolhatja *(Ernst 1991, Lewin és mtsai. 2000)*. Ez magyarázatként szolgálhat arra a megfigyelésre, hogy a tavak különböző pontjain (ahol eltérő tápanyag-ellátottság van), az eltérő morfológiájú sejtek számában térbeli és időbeli eltérések tapasztalhatók *(Weisse és Kenter 1991, Malinsky-Rushansky és mtsai. 1995, Padisák és mtsai. 1997, Callieri és Piscia 2002)*.

A víztér hidrogeológiai jellemzői és a trofitás

A tó morfológiai jellemzői és rétegzettsége *(Melléklet M/4. ábra)*, *ill.* ez utóbbi stabilitása nagymértékben befolyásolhatja a pikofitoplankton mennyiségét *(Weisse és Kenter 1991, Padisák és mtsai. 1997, Gaedke és Weisse 1998, Camacho és mtsai. 2003, Callieri 2008)*. A hőrétegzettség gátat szab a felső rétegben termelődött oxigén lejutásának is, az algák CO_2 felvétele pedig pH-t növelő hatású a felsőbb rétegekben, ezért a hőmérséklet, oldott oxigén és pH sokszor egymással korreláló változók és szinkronban változnak a mélység szerint *(Wang és mtsai. 2008)*. A rétegzettség során kialakuló sűrűséggradiens megakadályozza a sejtek kiülepedését, a markáns termoklinnél pikoplankton maximumot hozhat létre, ami sokszor mélységi Chl maximumot[33] is jelent egyben *(Callieri és Piscia 2002, Camacho és mtsai. 2003, Callieri 2008)*. Az a jelenség, hogy a pikoalgák maximuma sok tónál nem a termoklinnél figyelhető meg *(Callieri 2008)*, jól példázza azt, hogy a rétegzettség és felkeveredés[34] mellett számos egyéb tényező is szerepet játszik a pikoplankton eloszlásában[35]. Sekély tavaknál a kiülepedett sejtek a szél üledéket felkeverő hatása révén lehetnek befolyással a víztestben található pikoalgák mennyiségi és minőségi viszonyaira *(Bell és Kalff 2001)*.

Mivel a vízalatti fényklímát számos tényező (vízmélység, oldott és lebegőanyagok koncentrációja, fitoplankton fénykioltása) befolyásolja, az adott víztér hidrogeológiai jellemzői és trofikus állapota, valamint a pikoalgák számára hasznosítható fény spektrális összetétele között nagyon intim kapcsolat van *(Vörös és mtsai. 1998)*. A vízoszlop mélysége (amely általában inverz

[33] általában a Chl molekulák által jól hasznosítható kék fény és a tápanyagdúsabb környezet kombinációja okozza

[34] a gyenge rétegzettség és a mély felkeveredés hozzájárulhat a tavaszi pikocianobaktérium csúcs elmaradásához, míg a kifejezett rétegzettség jelentős abundanciacsúcsok előidézője lehet *(Gaedke és Weisse 1998, Crosbie és mtsai. 2003c)*

[35] olyan állóvizek esetében, ahol jelentős befolyás és kifolyás (folyók, patakok) van, számításba kell venni a fitoplankton kimosódásának lehetőségét is *(Katano és mtsai. 2005)*; nagy hidraulikus retenciós idő pedig stabil rétegzettséget eredményezhet, ami a tápanyagok kimerüléséhez vezethet az epilimnionban, a tápanyagokban gazdagabb metalimnion viszont jelentős pikoalga populációt tartalmazhat *(Camacho és mtsai. 2003)*

összefüggésben van a tó trofikus állapotával) jelentősen meghatározhatja a pikofitoplankton mennyiségi és minőségi viszonyait. A pikoalgák abundanciája sekély tavakban általában nagyobb, mint mély tavakban, ez utóbbiakban pedig nagyobb, mint a tengerekben *(Bell és Kalff 2001, Mózes és mtsai. 2007, Mózes 2008)*. Ennek magyarázatát adhatja, hogy a vízmélység csökkenésével párhuzamosan általában a szervetlen lebegőanyagok koncentrációja növekszik, a sekélyebb tavak tehát fényben szegényebb vízeknek tekinthetők *(Mózes 2008)*. Mély, oligotróf tavakra tipikusan a PE-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok jellemzőek a PC-pigment-dominanciájúak és pikoeukarióták alacsony számával *(Weisse 1993, Vörös és mtsai. 1998, Camacho és mtsai. 2003, Callieri 2008*). A tavak partközeli, zavaros, tápanyagokban gazdagabb littorális[F] régióiban, az óceánokhoz hasonlóan *(Waterbury és mtsai. 1986)* viszont fordított a helyzet *(Katano és mtsai. 2005, Becker és mtsai. 2007, Katano és mtsai. 2008)*. Sekély tavak[36] pikofitoplanktonjának jellemzőit a *II/8. táblázat* összegzi.

II/8. táblázat. A sekély tavak felosztása Callieri szerint
(Callieri 2008 alapján)

típus	***jellemző***
sekély, tiszta vizű oligotróf tavak (általában hegyi tavak)	jellemzően kevés pikoplankton található bennük, ha mégis akkor főként eukarióták alkotják; vizének szegénysége a pikocianobaktériumok erős fényintenzitással és UV-sugárzással szemben mutatott érzékenységével és a tavak általában alacsony pH-jával magyarázható
sekély, turbid eutróf tavak (*pl.* Balaton)	az oldott és lebegőanyagok koncentrációja által döntően befolyásolt vízalatti fényklíma a PE- és PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok és pikoeukarióta algák mennyiségi viszonyainak és arányának fő meghatározója
sekély tavak sok huminanyaggal (*pl.* szikesek)	elviekben ideális környezetet biztosítanak a pikoalgák növekedéséhez, mégis az abundanciára és összetételre vonatkozó általános megállapítások nem tehetők, ugyanis azt egyéb környezeti faktorok döntően befolyásolhatják (fény és hőmérséklet, oldott szervesanyag-koncentráció, kompetíció baktériumokkal és mixotróf flagellátákkal, pH *stb.*)

A trofikus állapotra vonatkozólag általános trendek állapíthatók meg mind édesvizek *(Vörös 1989, Vörös és mtsai. 1998, Agawin és mtsai. 2000, Bell és Kalff 2001, Callieri és mtsai. 2007b)*, mind óceánok esetében *(Waterbury és mtsai. 1979, Bell és Kalff 2001)*. Pozitív korreláció figyelhető meg a pikocianobaktérium sejtek száma és a trofitás között. A pikocianobaktériumok hozzájárulása a teljes fitoplankton biomasszájához a trofitással csökken, bár ez a megállapítás nem minden víztér esetben állja meg a helyét[37] (*Hepperle és Krienitz 2001, ld.* még a hazai szikesek esetét később).

[36] a sekély tó újabb definíció szerint nem abszolút mélységi kategória, hanem inkább a tó ökológiai „viselkedése" alapján határozható meg; így sekély tónak tekinthető a határozott rétegződést nem mutató, szél által könnyen felkeveredő víztest, ahol a szediment réteg nincs valamilyen határoló réteggel elkülönítve a fölöttes vízrétegtől (ami abszolút értelemben *kb.* 5 m-es vízmélység-határral definiálható) *(Padisák és Reynolds 2003)*

[37] az a tény, hogy általános érvényű trendek sokszor nem alkothatók meg a hasonló vízi környezetekben élő fotoautotróf pikoplanktonra vonatkozólag, magyarázható azzal, hogy bizonyos lokális tényezőknek olykor döntő szerepe lehet *(Stockner és mtsai. 2000)*

Valójában a pikofitoplankton sejtszáma is növekszik a trofitás növekedésével, de kisebb mértékben, mint a nagyobb algák esetében, vélhetőleg a megnövekedett veszteség (*pl.* predációs veszteség) miatt *(Agawin és mtsai. 2000)*.

pH

A pikocianobaktériumok pH 6 alatt csak csekély mértékben járulnak hozzá a pikofitoplankton mennyiségéhez *(Stockner és Shortreed 1991)* és inkább az enyhén lúgos pH-t kedvelik *(Szigeti 2003)*. A pikoeukarióta algák viszont széles pH-toleranciával rendelkeznek[38], ezért alacsonyabb pH értékeknél a pikofitoplankton közösségben az eukarióták válhatnak dominánssá *(Weisse 1993)*. Fontos megjegyeznünk, hogy a pH nemcsak a citoplazmatikus pH-t és a sejtfolyamatokat befolyásolja, hanem döntően meghatározza az egyes anyagok kemizmusát is (*pl.* toxicitást, biológiai hozzáférhetőséget).

Szalinitás

Édesvizekben, tengerekben és óceánokban egyaránt megtalálhatók a prokarióta és eukarióta pikoalgák *(Callieri 2008, Vaulot és mtsai. 2008)* széles szalinitási skálát átölelve. Kontinentális sós vizekben 8,5% sótartalomig is előfordulnak természetes körülmények között az eukarióta *Picocystis salinarum* és a cianobaktériumok nem-tengeri pikofitoplankton kládjának egyes képviselői *(Budinoff és Hollibaugh 2007)*. 5% sótartalom fölött már azonban az algaközösség diverzitása jelentősen visszaesik, ami szélső esetben egy pikocianobaktérium és/vagy egy pikoeukarióta faj dominanciájához vezethet *(Roesler és mtsai. 2002, Budinoff és Hollibaugh 2007)*.

A különböző törzsek nagymértékben eltérő szalinitási optimummal rendelkeznek, attól függően honnan kerültek izolálásra *(Vanyovszki és mtsai. 2008)*, de általánosságban elmondható, hogy a pikoalgák jelentős része széles szalinitás spektrumot képes tolerálni[39] *(Henley és mtsai. 2004, Paoli és mtsai. 2007)*. A nagy sókoncentráció morfológiai változásokat is indukálhat, *pl.* a *Picocytis* sp. ML törzs sejtjei gömb alak helyett háromkaréjúvá válnak *(Roesler és mtsai. 2002; II/6.t. ábra)*.

[38] *pl.* a *Picocystis* sp. ML törzs pH 4-től 12-ig képes növekedni *(Roesler és mtsai. 2002)*

[39] a sós Mono-tóból (Kalifornia, USA) származó izolátumokkal végzett vizsgálatok szerint a pikocianobaktérium törzs 10, míg az eukarióta *Picocystis* akár 26%-os sótartalom mellett is képes volt növekedni *(Roesler és mtsai. 2002, Budinoff és Hollibaugh 2007)*.

Predáció

A pikofitoplankton predációjában legjelentősebbek a heterotróf nanoflagelláták és a kisebb csillós egysejtűek *(Stockner és Antia 1986, Bird és Kalff 1987, Sanders és mtsai. 1989, Weisse és mtsai. 1990, Weisse 1993, Christoffersen 1994, Šimek és mtsai. 1995, Pernthaler és mtsai. 1996; II/9. táblázat, II/7. és II/8. ábra)*. A protista közösség összetétele döntően befolyásolhatja a predáció jelentőségét, és fordítva, a planktonikus pikoalga közösség összetétele is meghatározza az őket fogyasztó közösség összetételét, köszönhetően egyes protisták eltérő táplálék-preferenciájának *(Weisse 1993, Postius és Ernst 1999, Guillou és mtsai. 2001, Christaki és mtsai. 2005)*. A pikoalgák sejtfelszíni tulajdonságai szintén befolyásolhatják a predációs rátát[40] és predációs hatásra kolóniaképződés is indukálódhat (*Jezberová és Komárková 2007a)*.

A protisták mellett másik meghatározó csoportot képeznek a szűrögető táplálkozású élőlények. Ezek nem tudnak egyedi részecskéket szelektálni, és megválni is csak az egész megszűrt részecsketömegtől tudnak *(Sommer és Sommer 2006)*. A kerekesférgek és a *Daphnia* fajok átlagosan 1-30 μm-es részecskéket szűrögetnek, míg a kizárólag tengervízben előforduló zsákállatok akár 0,5 μm-nél kisebb sejteket is képesek kiszűrni *(Sommer és Sommer 2006)*[41]. A szűrögető fajok tehát jelentős kompetítoraik lehetnek táplálkozási szempontból a protozoonoknak *(Sommer és Sommer 2006; II/8. ábra)*.

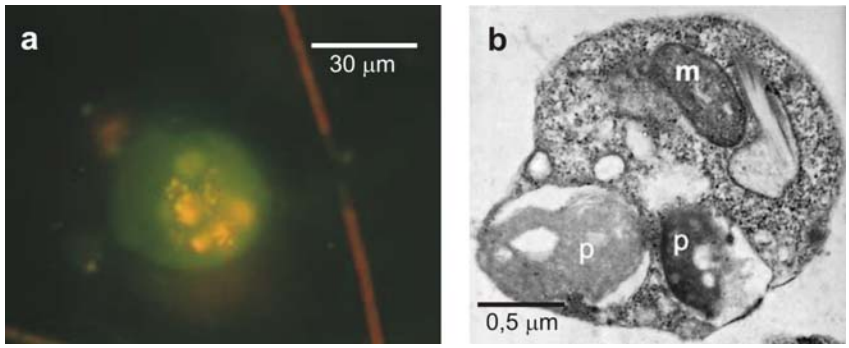
II/9. táblázat. Pikoalgákat fogyasztó élőlénycsoportok
(Stockner 1988, Vörös és mtsai. 1991, Weisse 1993, Müller 1996, Šimek és mtsai. 1996, Postius és Ernst 1999, Guillou és mtsai. 2001, Roesler és mtsai. 2002, Jezberová és Komárková 2007a, Callieri 2008)

magasabb rendszertani csoport	***jellemző nemzetség***
ostoros egysejtűek („Flagellata")	*Dinobryon, Ochromonas, Paraphysomonas, Picophagus*
csillós egysejtűek (Ciliata)	*Vorticella*, *Halteria*, *Cyclidium*, *Strobilidium*, *Urotricha*, *Balanion*, *Ophrydium*
ágascsápú rákok (Cladocera)	*Daphnia*, *Bosmina*, *Eubosmina*, *Ceriodaphnia*
kerekesférgek (Rotifera)	*Keratella, Brachionus*
farkos zsákállatok (Appendicularia)	*Oikopleura*
evezőlábú (Copepoda) és egyéb rákok, kagylók, csigák és egyéb gerinctelenek*	*Artemia*

* számos nemzetség legtöbb esetben lárva állapotban

[40] *Synechococcus*oknál figyelték meg glikozilált felszíni fehérjeburok ('S-layer') meglétét *(Ernst és mtsai. 1996*), amely akár a sejtek teljes fehérjetartalmának 15%-át is kiteheti *(Šmarda és mtsai. 2002)*, és vélhetőleg védő szerepet tölt be predátorokkal szemben *(Müller 1996, Becker és mtsai. 2002, Becker és mtsai. 2007)*

[41] Copepoda fajok kifejlett állapotban általában az 5-10 μm-es, nagyobb méretű fitoplankton sejteket fogyasztják *(Sommer és Sommer 2006)*



II/7. ábra. Pikoalga predátorok
(a: Callieri 2008; b: Guillou és mtsai. 2001 alapján)
a: *Vorticella sp. pikocianobaktériumokkal a vakuólumok belsejében,*
b: *Picophagus flagellatus Prochlorococcusokkal az emésztő-vezikulumaiban*
Rövidítések: m – mitokondrium, p – részlegesen emésztett Prochlorococcus sejtek.

II/8. ábra. A táplálkozási lánc alsó része óceánok és édesvizek esetében a fitoplankton egyes méretfrakcióinak feltüntetésével
(Opaliński és mtsai. 1997, Sommer és Sommer 2006 alapján)
*Piros nyíllal a negatív hatások jelölve; * regionálisan a parti vizekre, ** regionálisan a sarkvidékekre jellemző élőlénycsoport.*

Nem elhanyagolható tényező továbbá a táplálékláncfelsőbb részeinek negatív visszacsatoló hatása, *pl.* a Marcali-víztározóba betelepített fehér busa a pikoplankton fő predátorait, a Crustacea és Rotifera fajokat szinte teljesen eliminálta a víztérből, így csökkentve a pikoplanktonra irányuló predációs nyomást *(Vörös 1991, Vörös és mtsai. 1991).*

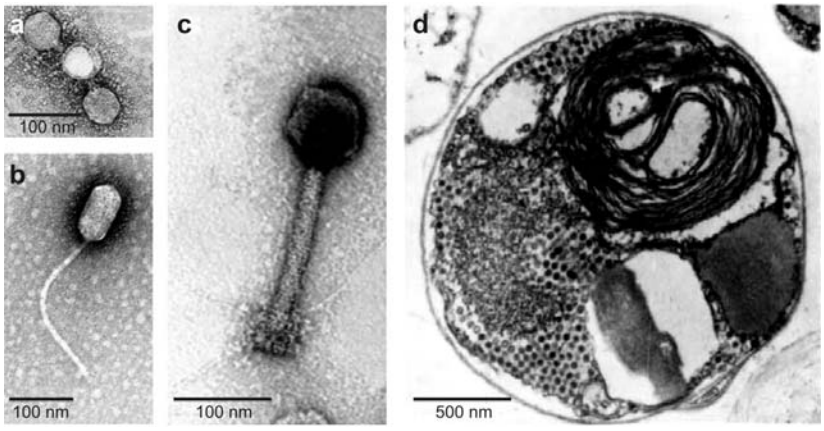
A hagyományos elképzelés szerint a zooplankton csillapítja a fitoplankton tápanyaglimitációját, oldott tápanyagok kiválasztása és a tápanyagot igénylő fitoplankton biomasszájának csökkentése révén *(Sterner 1986, Callieri 2008).* Az utóbbi évtized kutatási eredményei (*pl.* a fitoplankton *Daphnia* által okozott foszfor-limitációja) felhívták a figyelmet arra, hogy a predációs hatás és a tápanyagok hozzáférhetősége között sokkal bonyolultabb kapcsolatrendszer van, és bizonyos esetekben a zooplankton visszatarthatja a tápanyagokat *(Sommer és Sommer 2006).*

Tovább árnyalja a predátorokról alkotott képet az a felfedezés, amely szerint az oligotróf óceánok pikofitoplanktonjának fogyasztói között jelentős számban fordulnak elő mixotróf élőlények is (Prymnesiophyceae, *Bolidomonas*, Dinoflagellata) *(Frias-Lopez és mtsai. 2009)*, *ill.* hogy esetenként a predátorok belében és féceszében emésztetlenül figyelhetők meg a pikoalga sejtek *(Stockner 1988, Weisse 1993)*.

Virális lízis

A *győztes elpusztítása elv* ('killing the winner concept', *Thingstad és Lignell 1997*) szerint a vírusok a legjobb kompetítort (a domináns közösségalkotókat) szorítják ki az élettérből, ezáltal hozzásegíthetik a kevésbé jó kompetítorokat az elszaporodáshoz, növelvén így a diverzitást. Ennek ellentmondani látszanak azok a kutatási eredmények, amelyek szerint a pikoalga törzseket fertőző vírusok *(II/9. ábra)* között gazdaspecifitás figyelhető meg *(Dillon és Parry 2008)*.

A vírusok egyébként nemcsak mennyiségi szempontból lehetnek meghatározói a pikoalga populációknak, hanem a horizontális géntranszfer vektoraiként minőségi tulajdonságokat is átadhatnak az egyes törzsek/populációk között. Horizontális géntranszfer útján pikocianobaktériumoktól szerzett fotoszintetikus gének (D1 protein, plasztocianin, ferredoxin gének *stb.*) jelenléte egyes cianofágokban és kifejeződése a gazdasejtben a fotoszintetikus aktivitás, valamint az energiaszerző folyamatok fenntartásával és a virális replikáció megnövekedett energiaigényének biztosításával függhet össze *(Mann és mtsai. 2003, Millard és mtsai. 2004)*. Hasonló genetikai alapú virális effektust a fotoinhibíció megakadályozására az eukarióta *Chlorella*knál is megfigyeltek *(Seaton és mtsai. 1996)*.



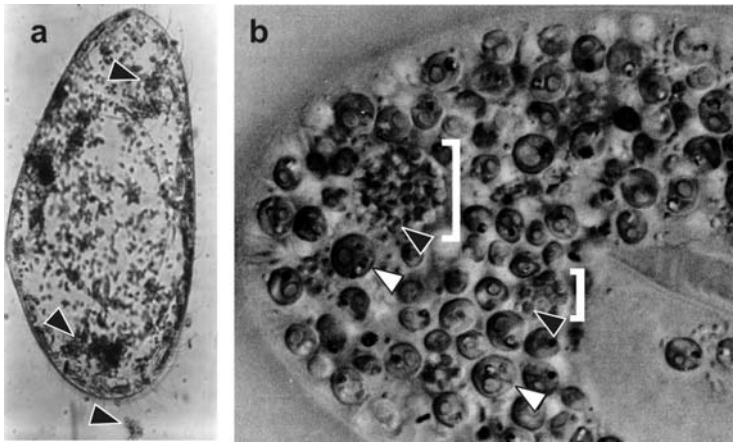
II/9. ábra. Pikoalgákat fertőző vírusok
(a-c: Fuhrman 2003; d: Krienitz és mtsai. 2000 alapján)
a-c: *Prochlorococcusokból izolált különböző cianofágok (a: podovírus, b: szifovírus, c: miovírus),*
d: *Nannochloropsis limnetica sejtje poligonális vírusokkal*

Szimbiotikus kapcsolatok

Bár a pikofitoplankton mennyiségi és minőségi meghatározásakor nem veszik figyelembe a heterotróf eukarióták sejtjein belül élő pikoalgákat, ugyanis azok nem tekinthetők planktonikus formáknak, mégis a teljesség igénye miatt a szimbiotikus kapcsolatokat is röviden áttekintjük, hiszen *pl.* egy vízminta teljes DNS kivonáson alapuló vizsgálata során a gazdaszervezet sejtjein belül élő pikoalgák DNS-e is megkülönböztethetetlenül a kivont nukleinsav részét fogja képezni a planktonikus formákkal egyetemben.

A *piko* méret-kategória felső régióját megközelítő *Chlorella* nemzetség tagjai már több mint száz éve ismeretesek voltak hidra, szivacs és protista gazdaszervezetek édesvízi szimbiontáiként; és ezeknek a kapcsolatoknak a gazdaspecifitása és környezeti faktoroktól való függése (*pl.* UV védelem) is ismertté vált *(Summerer és mtsai. 2008)*. Az azonban csak az utóbbi néhány év kutatásai során bizonyosodott be, hogy valódi pikoeukarióta algák (<2 μm) is alkothatnak szimbiotikus kapcsolatokat. Az édesvízi csillós *Paramecium bursaria*ban endoszimbionta *Choricystis minor* sejteket figyeltek meg *(Nakahara és mtsai. 2004, Zidarova és mtsai. 2009)*, sőt előfordulhat kettős szimbiózis is, *Chlorella* és *Choricystis* sejtekkel egyazon élőlényen belül is *(Nakahara és mtsai. 2004) (II/10. ábra).*

Tengeri pikocianobaktériumoknál is leírtak újabban nem fotoszintetizáló eukariótákkal szimbiotikus kapcsolatokat *(Foster és mtsai. 2006a, Foster és mtsai. 2006b). Prochlorococcus*ok és *Synechococcus*ok csillósokkal (*Codonella* sp.), amőbákkal (*Dictyocoryne* sp.) és dinoflagellátákkal (*Citharistes* sp., *Histioneis* sp., *Ornithocercus* sp.) is alkothatnak változatos asszociációkat, és akár egy gazdaszervezeten belül több eltérő pikocianobaktérium genotípus is megtalálható *(Foster és mtsai. 2006b).*



II/10. ábra. Pikoeukarióta algák szimbiózisa *Paramecium bursaria*val
(a: Zidarova és mtsai. 2009; b: Nakahara és mtsai. 2004)
Fekete nyilak: Choricystis minor, fehér nyilak: Chlorella sejtek; a perialgális vakuólumokba zárt Choricystis sejteket szögletes zárójel jelzi.

Ezekben a kapcsolatokban vélhetőleg a szimbionta partner szén- (és nitrogén)forrást biztosít a gazdaszervezet számára, bár ez az anyagtranszport pikoalgák esetén nem igazán nyert bizonyítást, egyéb megfigyelések (*pl.* a keményítő- vagy glikogénszemcsékkel kapcsolatosan) viszont a szoros fiziológiai kapcsolat bizonyítékainak tűnnek *(Nakahara és mtsai. 2004, Foster és mtsai. 2006a).*

4. A planktonikus pikoalgák térbeli és időbeli viszonyai

Az előzőekben ismertetett környezeti hatások jól tükröződnek a pikofitoplankton különböző csoportjainak térbeli és időbeli mintázatában. Mivel az egyes típusok mélység szerinti eloszlását és a vízalatti fényklímával való szoros kapcsolatát a dolgozat korábbi részeiben már ismertettük, itt ezekre az összefüggésekre nem térünk ki.

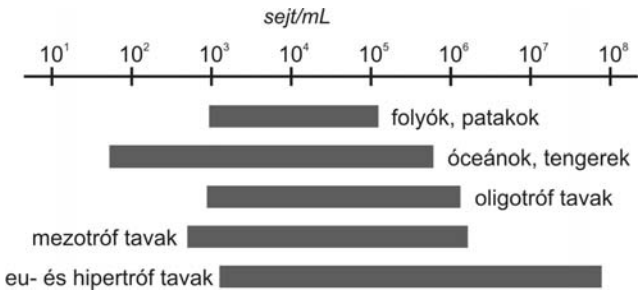
Óceánok, tengerek, tavak, folyók és patakok

Alapvető különbség, hogy a *Prochlorococcus*ok kizárólag tengerekben és óceánokban fordulnak elő *(Partensky és mtsai. 1999)*, a *Synechococcus*ok viszont édesvízben is megtalálhatók és akár nagyon közeli rokonok is származhatnak eltérő típusú élőhelyekről. Pikoeukarióta algák esetében édesvizekben a Chlorophyta fajok a meghatározóak, míg tengerekben és óceánokban számos más csoport képviselői is megtalálhatók *(vö. II/7. és a Melléklet M/4. táblázata).* A kolóniás pikofitoplankton formák viszont inkább édesvízben gyakoriak és tengerekben, óceánokban csak elvétve fordulnak elő *(MacIsaac és Stockner 1993).*

Tavakban 1,5-3,5-szer több pikoalga található, mint az ugyanolyan trofitású óceáni vízben *(Bell és Kalff 2001; II/11. ábra)*, amit magyarázhatnak a két víztípus morfometriájából adódó különbségek[42] és a sejtszámcsökkenéshez vezető folyamatok (predáció, virális lízis) eltérő jelentősége is. A folyókban szintén kevesebb planktonikus pikoalga található, mint a tavakban *(Szelag-Wasielewska 2004, Mózes és mtsai. 2007, Mózes 2008).* Az általános trendeket természetesen egyedi esetek módosíthatják és az élesen elválasztott típusok között számos átmeneti jellegű víztér is előfordul; *pl.* folyók és tavak közötti átmenet képviselnek a folyók mellékágai *(Mózes 2008, Mózes*

[42] az óceánok (még a parti régiók esetében is) mélyebbek és sokkal szélesebb keveredő réteggel rendelkeznek, mint az általában sekélyebb édesvízi tavak, ez utóbbiaknál a kiülepedés és a szél hatására történő reszuszpendálódás is jelentősen befolyásolhatja a planktonikus élőlények mennyiségét *(Bell és Kalff 2001)*

és mtsai. 2009) és a víztározók[43] *(Wang és mtsai. 2008)*, a Balti-tengerben pedig brakkvizes jellege miatt megtalálhatók édesvízi és tengeri *Synechococcus*ok is *(Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008)*.



II/11. ábra. Különböző vízterekre jellemző pikofitoplankton abundancia értékek
(Weisse 1993, Vörös és mtsai. 1998, Pérez és Carillo 2005, Callieri 2008, Mózes 2008 adatai alapján)

Pikoalga biogeográfia

Az óceánokban a növekvő szélességi fokokkal csökkenő pikocianobaktérium sejtszám párosul *(Murphy és Haugen 1985, Marchant és mtsai. 1987, Legendre és mtsai. 1993)* és a sarkvidéki óceáni régiókban már általános és feltűnő cianobaktérium „szegénység" figyelhető meg *(Vincent és mtsai. 2000)*. Ennek valószínűsíthető oka az alacsony hőmérséklettel járó mérsékelt növekedési ráta, amire ráadásul még a predációs nyomás is hathat *(Tang és mtsai. 1997, Vincent és mtsai. 2000)*. A *Prochlorococcus*ok északi 48. szélességi kör fölött és déli 40. szélességi kör alatt hiányoznak az óceánok vizéből *(Partensky és mtsai. 1999, Zwirglmaier és mtsai. 2008)*, ezzel szemben a *Synechococcus*ok óceánokban sokkal szélesebb tartományban fordulnak elő, az északi 70-től a déli 50. szélességi körig *(Zubkov és mtsai. 2000)*. A pikoeukarióta algák viszont az óceánokban mindenhol megtalálhatók *(Veldhuis és mtsai. 2005)*, így a hideg óceánokban főként ők képezik a pikofitoplanktont *(Hamilton és mtsai. 2008)*.

Furcsa módon, a nyíltvízi régiókkal ellentétben cianobaktériumok a sarkvidéki tavakban extrém magas sejtszámban fordulnak elő *(Rankin és mtsai. 1997, Vincent és mtsai. 2000)*, akár 80%-os pikocianobaktérium dominanciával *(Bergeron és Vincent 1997, Vézina és Vincent 1997)*. Egyedi filogenetikai pozícióval rendelkező *Synechococcus*ok, amiknek mindezidáig csak sarkvidéki előfordulásáról számoltak be, szintén izolálásra kerültek ezekről az élőhelyekről *(Vincent és mtsai. 2000; II/1. ábra)*.

[43] a tavakba beömlő folyók a tápanyag-koncentráció és a zavarosság növekedését idézhetik elő, csökkentve a planktonikus pikoalgák arányát vagy eltolódást idézve elő a PE- felől a PC-pigment-dominancia felé *(Mózes és mtsai. 2006, Duleba és mtsai. 2008, Katano és mtsai. 2008)*

Hasonló jelentős pikocianobaktérium előfordulást figyeltek meg sarkvidéki folyók esetében is (a szaporodásuknak kedvezhet az enyhébb, de még 4 °C alatti hőmérséklet), ez ráadásul meghatározó allochton pikoalga tömeget hozhat létre a sarkvidékek partközeli óceáni régióiban *(Waleron és mtsai. 2007)*. Az ilyen allochton hatások azonban egyéb folyótorkolatoknál is érvényesülhetnek (*pl.* a Mississippi folyó és a Mexikói-öböl pikoalgáinak esetében *ld. Wawrik és mtsai. 2003*) és a tengeráramlások szintén létrehozhatnak hasonló jelenségeket *(Gradinger és Lenz 1995, Hamilton és mtsai. 2008)*. A hidrológiai és áramlási viszonyok tehát döntően befolyásolhatják a planktonikus pikoalgák mennyiségét és diverzitását egy adott pontján Földünknek.

Alapvető jelentősége van az egyes típusok eloszlásánál a fényviszonyoknak és a tápanyagok mennyiségének. A PUB-nélküli fikoeritrines *Synechococcus*ok a partközeli régiókban, míg a PUB-vel rendelkezők a nyíltvízben dominálnak *(Olson és mtsai. 1990a, Wood és mtsai. 1998)*, hasonlóképpen a PC-pigment-dominanciájú formák a zavarosabb vizű partközeli régiókra jellemzők *(Waterbury és mtsai. 1985, Weisse 1993)*. Az egyes genotípusok eloszlásában is körvonalazódnak trendek *(Zwirglmaier és mtsai. 2008)*[44].

Kontinentális vizekben a kevés rendelkezésre álló adat (alulmintázottság) miatt csak mérsékelt következtetések tehetők az egyes pikocianobaktérium genotípusok térbeli eloszlására vonatkozólag. Számos csoport kozmopolitának tűnik *(Crosbie és mtsai. 2003a)*, bár, mint azt korábban már említettük, itt is előfordulnak egy-egy adott tóra nézve endemikusnak tűnő csoportok (Felső-tó: *Ivanikova és mtsai. 2007*, angliai tavak: *Sánchez-Baracaldó és mtsai. 2008*).

A pikoeukarióta algák különböző csoportjainak eloszlása tekintetében főként óceánokban és tengerekben körvonalazódnak trendek *(Vaulot és mtsai. 2008)*.

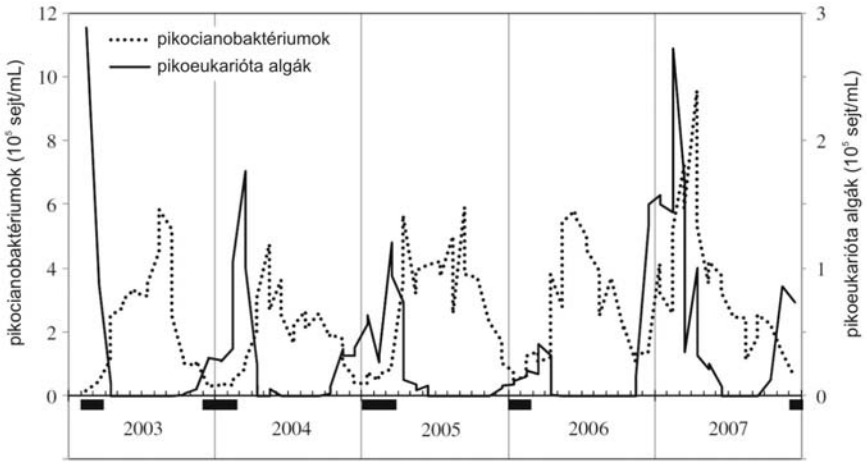
Szezonális változások

Óceánokban és tengerekben a *Prochlorococcus*ok leginkább a melegebb időszakokban, nyáron és ősszel jellemzőek, télre mennyiségük lecsökken, ekkor a *Synechococcus*ok és eukarióta algák válnak a pikofitoplankton meghatározó tagjaivá *(Olson és mtsai. 1990b, Campbell és mtsai. 1997, DuRand és mtsai. 2001, Johnson és mtsai. 2006)*.

A mérsékelt övi tavak planktonjának szukcesszióját az *ún.* PEG modell ('plankton ecology group', *plankton ökológiai csoport, Sommer és mtsai. 1986*) írja le, ami, bár a pikofitoplanktont nem

[44] a tengeri *Synechococcus*ok II csoportja a trópusi/szubtrópusi óceánok parti zónájában fordul elő, az I és IV csoportok tagjai pedig a 30. szélességi körök fölötti, hidegebb óceáni vizek parti régióira jellemzők; a *Prochlorococcus* nemzetség LL ökotípusánál relatív egyenletes eloszlás figyelhető meg, ezzel szemben a HLI genotípus inkább a mérsékeltebb, a HLII pedig a trópusi és szubtrópusi óceáni területekre jellemző *(Zwirglmaier és mtsai. 2008)*

foglalja magában, mégis ahhoz nagyon hasonló időbeli lefutást jósol *(Gaedke és Weisse 1998, Postius és Ernst 1999, Ernst és mtsai. 2000, Callieri és Stockner 2002, Becker és mtsai. 2007)*, jellemzően két mennyiségi maximummal (bifázikus eloszlás). A modell szerint az éves ciklus egy tavaszi-nyári tömegtermeléssel kezdődik (mély tavakban a vízoszlop stabil hőrétegzettségének kialakulása után), ezt pedig egy *tiszta vizű fázis* ('clear water phase') követi a zooplankton predációs, a rétegzettség destabilizációja vagy a tápanyagok kimerülésének hatására *(Weisse 1993, Callieri és Stockner 2002)*, és ősszel újabb hanyatlás figyelhető meg. A pikofitoplankton bifázikus eloszlása alól vannak azért kivételek[45] *(pl. Søndergaard 1991, Meada és mtsai. 1992)*. Az egyes évek között megfigyelhető eltérésekben az időjárásbeli különbségeknek van döntő szerepe *(Gaedke és Weisse 1998)*. A nyári időszakra a pikocianobaktériumok dominanciája jellemző, míg télen, az óceánokhoz hasonlóan, az eukarióta pikoalgák jellemzők *(pl. Postius és Ernst 1999, Mózes és mtsai. 2006, Vörös és mtsai 2009a; II/12. ábra)*. Vélhetőleg a hideg és a gyenge fényviszonyok miatt dominálnak a pikoeukarióták télen *(Somogyi és mtsai. 2009b)*. A földrajzi és éghajlati különbségek ellenére a pikoeukarióta algák megjelenése 15 °C alatti hőmérsékletű vizekben általános érvényűnek tekinthető.



II/12. ábra. A pikofitoplankton szezonális dinamikája a Keszthelyi-medencében (Balaton)
(Vörös és mtsai. 2009a alapján)
A vízszintes sávok a jéggel borított időszakokat jelzik.

Az egyes genotípusok szezonális változásaival kapcsolatosan lényegesen kevesebb adat látott napvilágot és az ilyen jellegű kutatások leginkább kontinentális vizek pikocianobaktériumaira vonatkoznak. A tanulmányok egy része pusztán a változások tényét nyugtázza, *pl.* a pikociano-

[45] a mérsékelt övi és sarkvidékekhez közeli tavaktól eltérően (ahol a pikofitoplankton mennyiségének éves maximuma tavasszal és nyáron figyelhető meg egy vagy két mennyiségi maximummal) a trópusi tavak (*pl.* az afrikai Kivu- és Tanganyika-tó) egész évben állandóan nagy fotoszintetikus pikoplankton sejtszámmal rendelkeznek *(Sarmento és mtsai. 2008)*

baktérium közösség molekuláris ujjlenyomata (DGGE[46]) alapján *(Casamayor és mtsai. 2002, Becker és mtsai. 2002)*. A közlemények másik része egy-két kiemelt genotípus mennyiségének időbeli alakulását követi (kvantitatív PCR[46]), a közösség többi tagjának azonosítása és szezonalitásuk felderítése viszont általában elmarad *(Becker és mtsai. 2004, Becker és mtsai. 2007, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008)*. Ahol viszont részletes felbontású képet alkotnak a planktonikus pikocianobaktériumok taxonómiai összetételéről (klónozás és szekvenálás[46]), ott az időbeli felbontás csekély (két-három időpont) *(Ivanikova és mtsai. 2007)*.

Tengerek és óceánok pikofitoplankton közösségét vizsgálva is csupán néhány ilyen jellegű tanulmány született (pikocianobaktériumok: *Fuller és mtsai. 2005, Penno és mtsai. 2006, Jing és mtsai. 2009, Tai és Palenik 2009*; pikoeukarióta algák: *Romari és Vaulot 2004, Countway és Caron 2006*), hasonló módszereket alkalmazva (kvantitatív PCR, klónozás és szekvenálás, 'dot blot' hibridizáció[46]). Ezeknél a környezeteknél inkább a térbeli struktúrák feltárása áll a kutatások homlokterében *(Vaulot és mtsai. 2008, Zwirglmaier és mtsai. 2008)*.

5. A pikoalgák diverzitásának és azonosításának vizsgálati módszerei

A pikoalga közösségek taxonómiai jellemzésére és diverzitásuk vizsgálatára használt módszerek között egyaránt megtaláljuk a klasszikus algológiai (mikroszkópos megfigyelés, pigment-összetétel) és molekuláris mikrobiológiai szemlélet (genetikai változatosság) eszköztárát is *(II/10. táblázat)*. Az alábbiakban ezen módszerek elvének részletes taglalása helyett elterjedtségüknek és alkalmazhatóságuknak kritikai értékelése kerül ismertetésre a planktonikus pikoalgák vizsgálatának speciális esetében.

Minta előkészítés

A minden vizsgálatot (és későbbi alkalmazandó módszert) megelőző minta előkészítés során a megfelelő méretkategória leválasztásának legegyszerűbb módja a szűrőkkel történő elkülönítés. Ez esetben jelentkezhet az a probléma, hogy *piko* méretűnél nagyobb sejtek is átjuthatnak a pórusokon, és kisebbek is maradhatnak a szűrő felszínén, még akár vákuum-mentes eljárásnál is *(Li 1990, Vörös 1991, Becker és mtsai. 2002)*. Sejtszám meghatározásánál minta típusától

[46] az említett módszerek részletes jellemzését *ld. II/10. táblázat*

II/10. táblázat. A pikoalgák azonosításánál és diverzitás-vizsgálatánál leggyakrabban használt módszerek *(Vaulot és mtsai. 2008, Felföldi és mtsai. 2010 alapján)*

módszer neve	***módszer elve***
tenyésztéses módszerek és a törzsek jellemzése	
törzsek izolálása	tiszta tenyészetek előállítása
transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM)	az áthaladó elektronnyaláb az ultravékony mintával kölcsönhatva teremti meg a képalkotás alapját, felfedve a mintaszelet finomszerkezetét
pigment analízis	az adott törzsben előforduló fő pigmentek mennyiségi és minőségi meghatározása
direkt szekvencia analízis*	adott DNS szakasz(ok) bázissorrendjének összehasonlító vizsgálata
restrikciós fragmentumhossz polimorfizmus (RFLP)*	a DNS restrikciós endonukleázokkal történő hasításával kapott mintázatok összehasonlítása
a sejtek fluoreszcencia tulajdonságain alapuló módszerek	
epifluoreszcens mikroszkópia	különböző hullámhosszú fénnyel történő gerjesztés segítségével a sejtek pigmentösszetételére lehet következtetni azok autofluoreszcenciája miatt
áramlási citometria	a folyadékáramlatban haladó sejtek mennyiségének meghatározása és osztályozása méret, fluoreszcens tulajdonság *stb.* alapján
szerológiai módszerek	
immunfluoreszcens technika	fluoreszcens festékek hozzákapcsolása bizonyos sejtfelszíni molekulákhoz (antigénekhez)
nukleinsav alapú molekuláris biológiai módszerek	
fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH)	a sejtek RNS-éhez *in situ* fluoreszcens festékkel jelölt taxon-specifikus oligonukleotidok (vagy azok analógjainak) kötése
'dot blot' hibridizáció	PCR segítségével amplifikált DNS hibridizáltatása taxon-specifikus DNS próbákkal
kvantitatív ('real time') PCR	a PCR során keletkező termék mennyiségének folyamatos nyomon követésével az amplifikált gén mintában előforduló mennyisége meghatározható
klónozás és a klónok összehasonlító bázissorrend elemzése	a közösségi DNS (multitemplát PCR termék) szétválasztása rekombináns vektor-kompetens sejt rendszer segítségével
denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE)	eltérő GC-tartalmú (és emiatt különböző olvadási tulajdonsággal rendelkező), de azonos hosszúságú DNS szakaszok elválasztása növekvő denaturáló koncentrációt tartalmazó poliakrilamid gélben

* valójában nukleinsav alapú molekuláris biológiai módszerek, amelyeket jellemzően pikoalga izolátumok vizsgálatakor alkalmaznak

függő korrekciós faktor alkalmazásával *(Vörös 1991)*, egyéb esetben pedig ellenőrző vizsgálatokkal (*pl.* a tenyészetek sejtméretének ellenőrzése) vagy egy - ezt a jelenséget is figyelembe vevő - mértéktartó diszkusszióval kezelhető a probléma.

A minta előkészítésének és a méret meghatározásának másik hibájaként jelentkezhet, hogy a fixáló anyagok (*pl.* glutáraldehid és Lugol-oldat) és az esetleges szárítási lépések a sejtek zsugorodását idézhetik elő, torzítva a valódi natív méretet *(Vaulot és mtsai. 2008)*.

Tenyésztéses eljárások

A tenyésztés szelektivitásával folytatott, a mikroszervezetek esetében általánosnak tekinthető küzdelem a pikoalgák esetében kiegészül azzal, hogy meglehetősen nehéz axenikus tenyészeteket előállítani *(ld. F5. Függelék)*. A gyakorlatban használt, egyféle algát tartalmazó ('unialgal' vagy unicianobakteriális) tenyészetekben az algák mellett növő baktériumok (és más mikrobák) befolyásolhatják a kultúrák fiziológiai vizsgálatainak eredményeit, megnehezítve az egzakt fajok megalkotását. A klasszikus módszerekkel a pikoalga törzsek azonosítása meglehetősen nehézkes. Mind az prokarióta, mind az eukarióta képviselőik esetében az utóbbi évtizedben döntő szerephez jutottak a taxonok elkülönítésénél és kijelölésénél a molekuláris biológiai módszerek *(Huss és mtsai. 1999, Robertson és mtsai. 2001, Crosbie és mtsai. 2003a, Fuller és mtsai. 2003, Henley és mtsai. 2004, Krienitz és mtsai. 2004, Haverkamp és mtsai. 2009)*. A kemotaxonómiai vizsgálatok, bár kevésbé elterjedtek, olykor nagyon érdekes eredményeket hoznak (*pl.* a *Picocystis* többi klorofitától eltérő sejtfal összetétele, *Lewin és mtsai. 2000*; vagy a Pinguiophyceae tengeri pikoalga különös zsírsavprofilja, *Kawachi és mtsai. 2002*).

Klasszikus mikroszkópos vizsgálatok

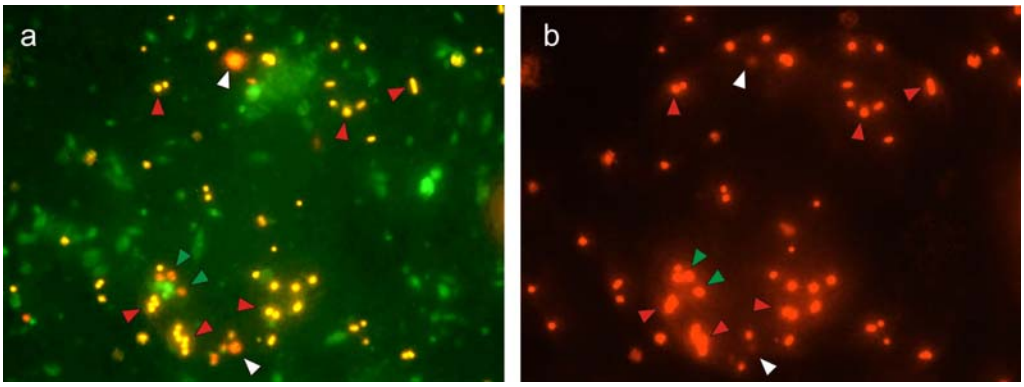
Sajnos a sejtek részletes vizsgálatával sem fedhető fel kellő számú, taxonómiai jelentőségű morfológiai különbség a pikocianobaktériumok esetében *(Leppard és mtsai. 1987, Castenholz és Norris 2005)*. A pikoeukarióta algáknál azonban kicsit kedvezőbb a helyzet, és némely taxonhoz egyedi morfológiai bélyegek kapcsolhatók, *pl.* a *Parachlorella* különleges szerkezetű sejtfala *(Yamamoto és mtsai. 2005)*, a *Nannochloris bacillaris* pálcika alakú sejtjei *(Naumann 1921, Yamamoto és mtsai. 2007) (II/6. és Melléklet M/2. ábra)*. A tengeri pikoeukarióta algák taxonómiai gazdagságával *(Melléklet M/4. táblázata)* az előbb említett édesvízi példákénál még nagyobb mértékű morfológiai változatosság párosul *(Vaulot és mtsai. 2008)*. Szintén az eukarióta pikoalgák esetében van taxonómiai jelentősége a különböző osztódási típusoknak (autosporuláció, kettéosztódás és bimbózás, *Melléklet M/2. ábra*), amelyek megfigyelését a részletgazdag TEM felvételek[47] mellett fluoreszcens mikroszkópos eljárások (kloroplasztisz autofluoreszcenciája, a sejtfalhoz és a sejtmag DNS-éhez specifikusan kötődő festékek alkalmazása) tehetnek még pontosabbá *(pl. Yamamoto és mtsai. 2007)*. Sajnos több morfológiai tulajdonság tenyészkörülményektől függően változhat; *pl.* a *Picocystis*

[47] a SEM (pásztázó elektronmikroszkópos – 'scanning electron microscopy') felvételek a sejtek felszíni struktúráinak hiánya miatt kevésbé használhatók (kivétel *pl. Mychonastes homosphaera; ld. II/6.h. ábra*)

salinarum gömb alakú sejtjei öreg, tápanyagszegény kultúrákban háromkaréjúvá válnak *(Lewin és mtsai. 2000; II/6.t. ábra)*; a pikocianobaktériumok kolóniaképzése indukálható (*ld. F4. Függelék*), ami különös körültekintést igényel a szűkös morfológiai jellemzők taxonómiai jelentőségének megállapításánál *(Luo és mtsai. 2010)*.

A sejtek fluoreszcencia tulajdonságain alapuló módszerek

Az epifluoreszcens mikroszkópia és az áramlási citometria módszere egymással párhuzamosan a pikofitoplankton jelentőségének felfedezésében döntő szerephez jutott *(Johnson és Sieburth 1979, Waterbury és mtsai. 1979, Chisholm és mtsai. 1988, Li és Wood 1988, Courties és mtsai. 1994)*, és azóta is szinte egyedüli módszerek a pikoalgák abundanciájának meghatározásában. A sejtekben előforduló pigmentek autofluoreszcenciájának köszönthetően mindkét módszerrel három csoport különböztethető meg: a PE-, a PC-pigment-dominanciájú[48] pikocianobaktériumok és az eukarióta pikoalgák[49] (kékesibolya gerjesztőfénnyel az eukarióta sejtek Chl *a* tartalmuk miatt erős vörös autofluoreszcenciát mutatnak, míg a PE-gazdagok sárgás-narancsos, a PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok pedig gyenge vörös fényűek; zöld gerjesztéssel csak a fikobiliproteines sejtek fluoreszkálnak erős vörös fénnyel, míg ezzel a gerjesztéssel az eukarióta algák nem vagy csak alig láthatóak; *MacIsaac és Stockner 1993*; *II/13. ábra*).



II/13. ábra. A pikofitoplankton három fő típusának megkülönböztetése a sejtek autofluoreszcenciája alapján epifluoreszcens mikroszkóppal
(Somogyi Boglárka felvételei)
***a:** kékesibolya gerjesztőfény; **b:** zöld gerjesztőfény*
Fehér nyilak: pikoeukarióta algasejtek, zöld nyilak: PC-, piros nyilak: PE-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok.

[48] a korai publikációkban a kék gerjesztés egyedüli alkalmazásával nem számolták a PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumokat *(Pick 1991, Maeda és mtsai. 1992)*, ezért ezek mennyisége bizonyos vízterekben egy ideig rejtve maradt a kutatók előtt

[49] a Cryptophyta algák szintén tartalmaznak fikoeritrint, de édesvízi *piko* méretű képviselőik nincsenek

Áramlási citometriával bizonyos esetekben az epifluoreszcens mikroszkópban megkülönböztethetetlen pikoalga típusok is elválaszthatók[50] *(Crosbie és mtsai. 2003c)*, de a kolóniás formák ennél a technikánál problémát okozhatnak. Mindkét módszer továbbfejleszthető immunológiai vagy molekuláris próbák felhasználásával, bár ez utóbbi kapcsolása az áramlási citometriával a meglehetősen bonyolult protokollok miatt nem terjedt el igazán *(Biegala és mtsai. 2003, Vaulot és mtsai. 2008)*.

Szerológiai módszerek

Az 1980-as években több, tengeri pikocianobaktériumokat immunfluoreszcens technikával vizsgáló közlemény is napvilágot látott *(Campbell és mtsai. 1983, Campbell és Carpenter 1987, Campbell és Iturriaga 1988)*. Ám az akkor talán ígéretesnek mutatkozó módszert később teljesen felváltották a közvetlen filogenetikai információt szolgáltató nukleinsav alapú technikák, és azóta csak kevés immunfluoreszcens technikát alkalmazó publikáció született. Igaz, néhány alkalmazott antiszérum esetében nagyfokú specifitásról számoltak be és a technika mozgásképes *Synechococcus*okra adaptált változatának használhatóságával is kecsegtettek[51] *(Toledo és Palenik 2003)*. Sikeresen alkalmaztak viszont szerológiai módszert a foszfor stresszt jelző PstS fehérje környezeti előfordulásának vizsgálatára pikocianobaktériumoknál *(Scanlan és mtsai. 1997, Fuller és mtsai. 2005)*.

Nukleinsav alapú molekuláris biológiai módszerek

Napjainkban a sejtek csekély morfológiai változatossága miatt a pikoalgák taxonómiai vizsgálatában és azonosításában meghatározó szerep jut a molekuláris biológiai, különösen a PCR alapú módszereknek. A pikoeukarióta algák körében több taxon megalkotása szinte kizárólag a 18S rDNS hasonlósági értékein alapul *(Krienitz és mtsai. 2004, Henley és mtsai. 2004)*.

A fluoreszcens jelet nukleinsav alapú taxon-specifikus detektálással kombináló, a mikrobiális ökológiában elterjedten alkalmazott FISH technika, a pikofitoplankton vizsgálatánál kezdetben nem bizonyult elég hatékony módszernek, ugyanis a sejtek autofluoreszcenciája sok esetben

[50] a fotoszintézis hatására bekövetkező lúgosodás és a sejtek „gócképző" pontokként működése miatt azok felszínén kalcit ($CaCO_3$) rakódódhat le, ami befolyásolhatja elválasztási tulajdonságaikat *(Thompson és mtsai. 1997, Crosbie és mtsai. 2003c)*; a precipitációs folyamat különösen keményvizű oligotróf tavakban lehet jelentős, és úgy tűnik az eu- és prokarióta pikoplankton eltérő kristálytípusok kialakulását eredményezi *(Dittrich és mtsai. 2004)*

[51] a mozgásképes törzsek sejtfelszínén nagy mennyiségben jelenlévő *SwmA* fehérjét *(Brahamsha 1996)*, mint lehetséges antigént megcélozva

erős háttérzajként elnyomta a próbához kapcsolt fluorokróm jelét *(Schönhuber és mtsai. 1999)*. Ez ráadásul a sejtek alacsony rRNS tartalmával is párosulhat, tovább gyengítve a jel erősségét *(Worden és mtsai. 2000)*. A probléma megoldására három lehetőség adódik: *(i)* az enzimatikus jelerősítés[52], amelynél a próbához kötött torma-peroxidáz a célsejten belül szubsztrátjával reagálva fluoreszcensen aktív terméket hoz létre *(Amann és mtsai. 1992, Schönhuber és mtsai. 1999)*; *(ii)* DNS helyett erősebb fluoreszcens jelet adó peptid-nukleinsav (PNS[53]) próbák alkalmazása, amelyek nagyobb specifitással rendelkeznek és kevésbé gátlódik a célhely-felismerésük, mint a velük analóg DNS próbáké *(Worden és mtsai. 2000)*; *(iii)* a sejtek elszíntelenítése (*pl.* hőkezeléssel, *Scanlan és mtsai. 1997*); igaz ez utóbbi nem terjedt el igazán, és megmaradt az elméleti lehetőségek szintjén. A hibridizáció másik módszere, amikor PCR-amplifikált termékekhez kapcsolódnak a próbák ('dot blot' hibridizáció), szintén népszerű technika *(pl. Fuller és mtsai. 2003, Fuller és mtsai. 2005, Zwirglmaier és mtsai. 2008)* a kvantitatív ('real time') PCR *(pl. Becker és mtsai. 2002, Becker és mtsai. 2004, Becker és mtsai. 2007, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008)* mellett a tér- és időbeli struktúrák feltárásánál, hasonlóan a mikrobiális ökológiai vizsgálatokban is elterjedten alkalmazott klónozás és szekvenálás, *ill.* a DGGE technikához. Ezeknél azonban nemcsak az általánosan előforduló 16S/18S rRNS gének szerepelhetnek célpontként, hanem akár más, kizárólag (piko)algákra jellemző régiók is. Az utóbbi egy-két évben különösen ajánlják az olyan molekuláris módszertant, zömében a széles csoportot célzó vizsgálatok (*pl.* az univerzális 16S/18S rDNS alapúak) nagy torzítása miatt, ahol inkább egy szűkebb csoportra (vagy több ilyen csoportra külön-külön) specifikus a módszer *(Vaulot és mtsai. 2008)*.

A PCR alapú módszerekkel legelterjedtebben vizsgált gének és régiók

A legáltalánosabban használt molekuláris kronométerek[F] a riboszómális RNS-t kódoló gének (rDNS-ek) *(II/11. táblázat)*. Az összehasonlító bázissorrend elemzésükre alapozott filogenetikai vizsgálatok a pikoalgák molekuláris biológiai alapú jellemzését és csoportosítását tették lehetővé (ami sokszor a már meglévő taxonok létjogosultságának megkérdőjelezésével járt), és alapként szolgáltak a környezeti populációk tagjainak azonosításához.

A pikoalgák molekuláris azonosításakor kihívást jelent, hogy (nem megfelelően specifikus PCR primerek hiányában) a nem-axenikus tenyészetekben az algasejtek mellett előforduló heterotróf baktériumok vagy protisták rDNS-e ugyanúgy, vagy rosszabb esetben, az algákéhoz

[52] egyes szakirodalmi forrásokban CARD('catalyzed reporter deposition' - katalizált jelzőmolekula-lerakódás)-FISH-ként említik

[53] ahol a DNS cukorfoszfát váza töltés nélküli, strukturálisan homomorf pszeudopeptiddel van helyettesítve

II/11. táblázat. A pikoalgák azonosításánál és diverzitásuk meghatározásánál leggyakrabban vizsgált gének és régiók
(Felföldi és mtsai. 2009b alapján)

	régió	***kódolt gén***	***főbb jellemzők***
riboszómális operon	16S/18S rDNS*	a riboszómális RNS kis alegysége	*előny:* univerzálisan előfordul, jelentős adatbázis *hátrány:* mérsékelten variábilis
	ITS	nem kódoló régió	*előny:* variábilis, univerzálisan előfordul *hátrány:* mérsékelt adatbázis *egyéb:* jelentős hosszpolimorfizmus
fotoszintetikus gének**	*cpeB(A)*	fikoeritrin gének	*előny:* variábilis *hátrány:* csak cianobaktériumokban[54] és vörösmoszatokban fordul elő, csekély adatbázis
	cpcBA-IGS	fikocianin operon	*előny:* variábilis *hátrány:* csak cianobaktériumokban és vörösmoszatokban fordul elő, proklorofitákban hiányzik, mérsékelt adatbázis *egyéb:* jelentős hosszpolimorfizmus
	psbA	a PS II D1 fehérjéje	*előny:* variábilis *hátrány:* egyes cianomiovírusokban is megtalálható; laterális géntranszfer valószínűsíthető *Synechococcus* és *Prochlorococcus* populációk között virális közvetítéssel; néhány algában több, egymástól eltérő kópiában; csekély adatbázis
	rbcL	a RuBisCO nagy alegységét kódoló gén	*előny:* variábilis *hátrány:* nemcsak algákban fordul elő (magasabb rendű növények, kemoautotróf baktériumok), laterális géntranszfer, csekély adatbázis
egyéb	*rpoC1*	DNS-függő RNS polimeráz egyik génje	*előny:* variábilis, prokariótákban csak egy kópiában *hátrány:* nemcsak algákban fordul elő, csekély adatbázis

* prokarióták esetében 16S, eukariótáknál 18S; ** *ld.* még *II/2. ábra*

képest nagyobb mértékben amplifikálódhat *(Felföldi és mtsai. 2009b)*. A probléma még kifejezettebb lehet környezeti minták tenyésztéstől független diverzitás-vizsgálatakor *(Felföldi és mtsai. 2009b)*. Ilyenkor megoldást jelenthet olyan génszakaszok használata a (piko)algák azonosítására, amelyek kizárólag csak az ő génállományukban találhatók meg, mint például a fotoszintetikus folyamatokban részt vevő fehérjéket kódoló, *ún.* fotoszintetikus gének *(II/11. táblázat)*. Közeli rokon csoportok elválasztására szintén alkalmasak lehetnek, hiszen a genetikai kódszótár degeneráltsága miatt (ugyanazt az aminosavat többféle triplet is kódolhatja) a fehérjekódoló gének a nem kódoló régiókhoz (ITS, IGS) hasonlóan nagyobb variabilitással rendelkeznek, mint az rRNS gének *(Ernst és mtsai. 2003, Budinoff és Hollibaugh 2007, Haverkamp és mtsai. 2008)*.

A 16S/18S rRNS és egyéb gének vagy régiók alapján szerkesztett filogenetikai fák összehasonlítását azonban nagyban nehezíti, hogy számos törzsnél csak az egyik gén szekvenciája áll rendelkezésre. Fehérjekódoló gének esetében problémaként jelentkezhet, hogy olykor több kópiá-

[54] bár fikobiliszómákkal nem rendelkeznek, a *Prochlorococcus*ok evolúciósan ősibbnek tekinthető (LL) csoportja aktív fikoeritrin génekkel rendelkezik *(Hess és mtsai. 1999)*, amik konkrét funkciója azonban ismeretlen; az evolúciós szempontból fiatalabb (HL) *Prochlorococcus*okban csak a β-alegységét kódoló *cpeB* gén fordul elő *(Steglich és mtsai. 2003)*

ban, kedvezőtlen esetben eltérő szekvenciával található meg az adott gén (*pl. psbA*, fikoeritrin[55] és fikocianin operon[56]), ami környezeti minták vizsgálatakor az egyes csoportok arányát és diverzitást torzíthatja. Korlátozó tényező lehet, hogy bizonyos gének nem találhatóak meg minden pikoalgában (*pl.* fikobiliproteineken alapuló molekuláris filogenetikai vizsgálatokat édesvízi pikoeukarióta algák körében nem végezhetünk), *ill.* laterális géntranszfer előfordulása esetén (*pl. psbA* és *rbcL*) az adott gén csak azon csoportokon belüli vizsgálatokra alkalmas, ahol a csoport tagjai között nem történt géntranszfer.

Speciális kombináció a *cpcBA*-IGS régió, amely a fikocianin két alegységét kódoló géneket (*cpcB* és *cpcA*) és a köztük lévő nem kódoló, és emiatt jelentős hosszpolimorfizmussal rendelkező szakaszt (IGS-t) tartalmazza. A pikocianobaktériumoknál (jellemzően a *Synechococcus*ok nem-tengeri képviselőinél) összefüggést találtak az IGS hossza és a filogenetikai csoportok között, és a vizsgálatok alapján ez a régió a konzerváltabb 16S rDNS-nél jobban definiált csoportokat adott *(Robertson és mtsai. 2001, Crosbie és mtsai. 2003a).*

6. A pikofitoplankton vizsgálata hazánkban

Hazai vizeink planktonikus pikoalgáinak vizsgálata az 1980-as években kezdődött Vörös Lajos kutatásaival *(Vörös 1987-88, Vörös 1989)*, és központjaként mindmáig megmaradt a Magyar Tudományos Akadémia Balatoni Limnológiai Kutatóintézete. A sejtek fluoreszcens tulajdonságain alapuló epifluoreszcens mikroszkópos vizsgálatok (mennyiségi viszonyok, összefüggések a vízalatti fényklímával) nemzetközi szinten is meghatározó jelentőségű eredményeket hoztak *(Vörös és mtsai. 1991, Vörös és mtsai. 1998, Stomp és mtsai. 2007b).*

Az utóbbi évtizedben a hazai pikoalga vizsgálatoknak a téli pikoeukarióta tömegprodukció *(Mózes és Vörös 2004, Mózes és mtsai. 2005, Mózes és mtsai. 2006, Somogyi és mtsai. 2009b)* és a turbid szikes vizeinkben megfigyelhető extrém magas pikofitoplankton abundancia értékek felfedezése *(Schmidt és Fehér 2001, Vörös és V-Balogh 2003, Vörös és mtsai. 2005, Somogyi és mtsai. 2009b)* adott új lendületet. Ennek szerves kiegészítését képezik a molekuláris biológiai alapú diverzitás- *(Duleba és mtsai. 2008, Felföldi és mtsai. 2008, Felföldi és mtsai. 2009ab, Somogyi és mtsai. 2009a, Somogyi és mtsai*

[55] valamennyi *Synechococcus*ban egy kópiában (*cpeBA*) található a fikoeritrin operon, de a PUB-t is tartalmazó PE-gazdag törzseknél két példányban (*cpeBA* és *mpeBA*) fordul elő *(Everroad és Wood 2006, Six és mtsai. 2007)*

[56] a PE-gazdag törzsekben egy, míg a PC-pigment-dominanciával rendelkező pikocianobaktériumok genomjában két kópiában található meg *(Six és mtsai. 2007)*

2010a) és az izolált törzsekkel végzett ökofiziológiai vizsgálatok *(Somogyi és mtsai. 2007, Vanyovszki és mtsai. 2008, Somogyi és mtsai. 2009b).*

A vizsgált vízterek tekintetében a Balaton és a kiskunsági szikesek mellett kiemelt érdeklődést kapott a Fertő tó *(Padisák és Dokulil 1994, Somogyi és mtsai. 2010a)* és a folyóvizek. Ez utóbbiak esetében a kutatások kezdetben a Dunára fókuszáltak *(Vörös és mtsai. 2000, Feid 2002)*, majd számos egyéb mintavételi hely planktonikus pikoalga közösségének felmérésével egészültek ki az elmúlt néhány évben *(Mózes és mtsai. 2007, Mózes 2008, Mózes és mtsai. 2009).*

A hazai (és hazai közreműködéssel létrejött), referált tudományos folyóiratban megjelent publikációkat és az elért eredményeket a *Melléklet M/5. táblázata* részletezi.

III. fejezet

CÉLKITŰZÉSEK

Hazánkban nagy hagyományai vannak a pikofitoplankton kutatásoknak, a magyarországi vizek pikoalga közösségeinek valódi diverzitása azonban mindeddig rejtve maradt. Ez a kérdéskör nemcsak hazai jelentőséggel bír, hiszen a kiskunsági szikesekben regisztrálták a valaha észlelt legnagyobb pikofitoplankton sejtszámokat. Munkánk célkitűzéseit és irányvonalait így az alábbi pontokban foglalhatjuk össze:

(i) A Kárpát-medencében található hipertróf, turbid és olykor extrém pikoalga tömegprodukcióval jellemezhető szikes tavak pikofitoplanktonjának genetikai diverzitását kívántuk felmérni. Ezen belül részletesebb elemzést céloztunk végezni a legintenzívebben kutatott hazai szikes tavunk, a Fertő tó planktonikus pikoalgáit illetően.

(ii) Magyarország legnagyobb és algológiai szempontból (beleértve a pikoalgákat is) legteljesebb mértékben jellemzett sekély tava, a Balaton esetében nem pusztán a pikoalgák genetikai diverzitását kívántuk feltárni, hanem az egyes genotípusok időbeli változásait, *ill.* ezek kapcsolatát a fizikokémiai paraméterekkel is szerettük volna megismerni.

(iii) Munkánk során szem előtt tartottuk, hogy kontinentális vizek esetében a diverzitásvizsgálatok nem pusztán a 16S rRNS génjére korlátozódtak, és egyes filogenetikai csoportok esetében csak a fikocianin operon alapján állnak rendelkezésünkre információk. Ezért több esetben mindkét régió együttes elemzésével kívántunk pontosabb képet alkotni a pikocianobaktériumok filogenetikai hovatartozásáról.

(iv) Az alkalmazott módszerek megválasztásánál igyekeztük figyelembe venni a korábbi vizsgálatokkal való összehasonlíthatóság mellett az esetleges módszertani fejlesztések lehetőségét is, a gyors és olcsó kivitelezhetőséget nagyobb számú minták feldolgozása esetén.

IV. fejezet

ANYAG ÉS MÓDSZER

1. A vizsgált vízterek általános jellemzése

Szikes tavak

Hazánk Európa szikes vizekben leggazdagabb területe[57]. Ezek a vízterek geológiai, hidrológiai, ökológiai és természetvédelmi szempontból egyaránt speciális élőhelyeknek tekinthetők, hazánkban külön törvényi védettséget élveznek[58] *(Vörös és mtsai. 2006b)*. Kialakulásuk előfeltétele speciális hidrometeorológiai és talajtani adottságok együttes megléte. A viszonylag kevés csapadék hőséggel, nagy lehetséges párolgással és a talajfelszín közelében lévő kapilláris zónában rendelkezésre álló vízkészlettel párosulva intenzív sómozgást és -felhalmozódást idéz elő *(Kákonyi 2009)*.

A szikes tavak[59] két fő típusát különbözetik meg, a lebegő kolloidanyagoktól zavaros[60], szürkésfehér színű fehér vizű szikeseket és a fenékig átlátszó sötét vizű fekete tavakat. A kétféle típus főként a lebegőanyagok mennyiségének tekintetében tér el egymástól; a fehér szikesek vize is barna[61], csak a döntően szervetlen anyagokból álló lebegő anyagok elfedik a barna színt *(Vörös és mtsai. 2006b, V-Balogh és mtsai. 2009)*. A típusok differenciálódásában fontos szerepe lehet a

[57] Szerbiában, a Havasalföldön, Ukrajnában, valamint az Ibériai-félszigeten találhatunk még Európában szikes vizeket; Európán kívül az eurázsiai sztyeppövezet bizonyos térségeiben (Mongólia, Kazahsztán, Kína, Oroszország és Törökország területén), valamint Afrikában (Kenya, Tanzánia, Csád), Észak-Amerika bizonyos területein és Ausztráliában találhatók szódás szikes tavak *(Boros 2009)*

[58] az 1996. évi LIII. törvény alapján (*ld.* még az Európai Unió 92/43/EEC élőhelyvédelmi irányelve I. függelék/1530 kódszám)

[59] a legtöbb ilyen sekély víztér tudományos értelemben nem nevezhető igazi tónak, ugyanis ezeknél általában mélységileg nem különül el a parti zóna a nyílt víztől *(Boros 2009)*

[60] a karbonátok (és egyéb felszíni negatív töltésű O^- csoporttal rendelkező molekulák), a Na^+ ionokkal a turbiditás stabilizálódását előidéző kettős réteget alkothatnak; az így létrejött szervetlen lebegő részecskék felszínéhez szerves anyagok adszorbeálódhatnak, szuszpendált formában tartva őket ('folyékony üledék koncepció', *Eiler és mtsai. 2003*); a hazai szikes tavak az oldott és partikulált szerves és szervetlen anyagok extrém (maximális) koncentrációjának köszönhetően világviszonylatban is különleges élőhelyeknek számítanak *(Vörös és mtsai. 2006b)*

[61] a szín úgy keletkezik, hogy a vízben oldott sziksó a tó fenekén halmozódó humuszt elfolyósítja és lebegő állapotban tartja

szélnek való kitettségnek, amit a növényzet is befolyásolhat. A víz turbulenciájának csökkenésével ugyanis a lebegőanyagok kiülepedhetnek, így akár egy tavon belül is kialakulhatnak fehér és fekete vizű tájak *(Vörös és mtsai. 2006b)*, mint *pl.* a Fertő tó esetében. A legutóbbi időben viszont ismertté váltak kristálytiszta, átlátszó vizű szikes tavak is a Sárvíz-völgyében (Fejér-megye) *(Vörös és mtsai. 2009b).*

Kiskunsági és vajdasági szikesek

Mivel nagyon sekélyek, érzékenyek az időjárás változásaira. Vízkészletük nagyobb részét a felszíni csapadék mellett a felszín alatti talaj- és rétegvizek adják. Többségük időszakosan kiszáradó élőhely. Ásványi anyaguk tekintetében meghatározó a nátrium-hidrogén-karbonát (szóda, sziksó), amely lúgos kémhatást okoz *(Boros 2009; IV/1. táblázat).* A meder alját legtöbbször borító karbonát mésziszap vízzáró réteget képez és megakadályozza a víz lefelé szivárgását (*Kákonyi 2009).* Korábban ezek a vizek jelentős gazdasági (szappanfőzés) és gyógyászati értéket képviseltek (bőr- és nemi betegségek, reumatikus és csontritkulásos megbetegedések kezelése). Szerepük azonban időszakos voltuk[62] (és a termálfürdők térhódítása), valamint a szintetikus szódagyártás miatt az utóbbi évtizedekben jelentősen csökkent *(Boros 2009, Vörös és mtsai. 2009b).*

Maximális telítettségüket a tavaszi hóolvadás után érik el, és az időjárástól függően nyár végén, ősszel kiszáradnak és a medret borító karbonát iszap kőkeménnyé válik, „kivirágzik a szikső" *(Kákonyi 2009).* Ezzel párhuzamosan a fajlagos elektromos vezetőképesség is jellegzetes évszakos változást mutat, általában tavaszi minimum és őszi maximum értékkel[63] *(Schmidt és Fehér 2001, Vörös és mtsai. 2006b).* Ez utóbbi értékek alapján valamennyi tó a hipo- és mezoszalin kategóriába sorolható *(Hammer 1986, Schmidt és Fehér 2001, Schmidt 2003).* Szintén sekély mivoltuknak köszönhetően, hasonló extremitások jellemzőek napi viszonylatban is, akár 20 °C hőingadozással és szélsőséges O_2 viszonyokkal (éjszaka O_2 hiány, nappal akár 500%-os telítettség; *Vörös Lajos, szóbeli közlés*). A tápelemek szempontjából az oldott szervetlen szénformák (HCO_3^- és CO_3^{2-}) „korlátlan" hozzáférhetősége, bőséges foszfor és mérsékelt nitrogén túlkínálat jellemzi ezeket a víztereket *(Vörös és mtsai. 2006b),* ami valószínűleg az itt előforduló költöző vízi madarak

[62] időszakos voltuk mellett létük is veszélyeztetett: a XX. század síkvidéki lecsapoló belvízrendezése (és korábban a reformkor folyószabályozási munkálatai) a mezőgazdasági termelés növelése céljából jelentősen csökkentették az alföldi szikes tavak létét meghatározó felszín alatti vízszintet; az ezzel párosuló érdemi vízgazdálkodás hiánya és az időjárási viszonyok hátrányos változása a Duna-Tisza köze vízkészletének erőteljes fogyásához vezetett, aminek következtében a szikesedés folyamata megszűnt; a szélkifúvás és csapadékbemosás hatására megindult a sziktelenedés, több helyen a fejlődés a gyepesedés és a mezőségi talajok irányába mozdult el *(Kákonyi 2009)*

[63] a párolgás és csapadékviszonyok nemcsak a szervetlen ionok, hanem az oldott szervesanyagok koncentrációját is befolyásolják, eltérően más vízterektől *(V-Balogh és mtsai. 2009)*

(elsősorban vadludak és darvak) nagy számának köszönhető *(Boros és mtsai. 2008)*. A szintén hozzájuk kapcsolható nagymértékű allochton szervesanyag-terhelés okozza azt az egyébként szokatlan jelenséget, hogy hipertróf állapotuk ellenére nettó heterotróf víztereknek tekinthetők *(Vörös és mtsai. 2008, V-Balogh és mtsai. 2009, Vörös és mtsai. 2009b)*. Az általunk vizsgált tavak többsége[64] jellegzetes fehér vizű, turbid szikes tó volt. (A kiskunsági szikesekről *ld.* még *F6. Függelék*)

IV/1. táblázat. A vizsgált vízterek fizikai-kémiai jellemzői
(Schmidt 2003, Dinka és Ágoston-Szabó 2004, Dinka és mtsai. 2004, Vörös és mtsai. 2006b, Dinka és mtsai. 2009, Felföldi és mtsai. 2009a, Somogyi és mtsai. 2009b, V-Balogh és mtsai. 2009, Somogyi és mtsai. 2010a alapján)

paraméter	***Balaton***		***Fertő tó***			***vajdasági szikesek***	
	Keszthely	***Tihany***	***nyílt víz***	***belső tavak***	***csatornák***	***nádas víz***	***Sóskopó****	***Ruszanda****
vízfelszín (km^2)	594				309		1,04	1,70
vízmélység, átlagos (cm)	300-350	350-400	30-140	30-120	30-110	0-70	30	20
Secchi-átlátszóság[≡] (cm)	22-110	38-111	2,5-30	10-50	10-100	*n.a.*	2	4
pH	8,1-8,7	8,3-8,8	8,8-9,2	8,3-9,2	7,4-9,5	8,3-8,8	8,9	9,3
vezetőképesség (µS/cm)	670-804	710-860	2200-3000	2000-3900	850-2800	2800-3300	3200	10 500
jellemző anion	HCO_3^-			$HCO_3^- > SO_4^{2-}$			$Cl^- > SO_4^{2-} > HCO_3^-$	$SO_4^{2-} > HCO_3^- > Cl^-$
jellemző kation	$Ca^{2+} > Mg^{2+}$			$Na^+ > Mg^{2+}$			Na^+	Na^+

paraméter	***kiskunsági szikesek***						
	Kis-Sós-tó*	***Kastély-tó***	***Kelemen-szék***	***Böddi-szék***	***Büdös-szék***	***Fehér-tó***	***Zab-szék***
vízfelszín (km^2)	0,10	0,01	1,20	1,17	0,50	0,70	1,00
vízmélység, átlagos (cm)	22	60-100	<50	<50	<50	<50	<50
Secchi-átlátszóság (cm)	5	17-35	1-5	1-5	1-5	1-5	1-5
pH	9,1	9,0-9,9	8,7-9,7	8,8-9,8	8,5-9,7	8,8-9,7	8,8-9,8
vezetőképesség (µS/cm)	1000-2000	1000-6000	1000-30 000	2000-16 500	1000-19 000	1000-7000	1000-41 000
jellemző anion	HCO_3^-	$HCO_3^- > Cl^-$	$HCO_3^- > Cl^-$	$HCO_3^- > Cl^-$	HCO_3^-	$HCO_3^- > Cl^-$	$HCO_3^- > Cl^-$
jellemző kation	Na^+	Na^+	Na^+	Na^+	Na^+	Na^+	Na^+

* ezeknél a tavaknál a mintavétel időpontjában regisztrált értékek vannak feltűntetve; *n.a.* - nincs adat

Fertő tó

A Fertő tó[65] a magyar-osztrák határon

[64] a Kastély-tó egy mesterséges sekély tó, ami kis felülete és viszonylagos nagy vízmélysége *(IV/1. táblázat)* miatt a többi vizsgált szikes tótól eltérően nem rendelkezik tipikus turbid, fehér színű vízzel

[65] 1979-től a Világörökség része

elhelyezkedő szikes tó, Eurázsia legnyugatabbra fekvő sztyepptava. A magyar tórész 75 km^2 nagyságú, amelynek 85%-át nádas borítja. A hetvenes évek elején a megnövekedett turizmus és a mezőgazdasági termelési módszerek átalakulása miatt a tóban erős eutrofizálódás indult meg, a későbbi beavatkozások következtében (szennyvíztisztító művek *stb.*) azonban a tó állapota javult[66] *(Dokulil és Padisák 1994)*.

A nádasba zárt belső tavakat és a nyílt vizet mesterségesen kialakított csatornahálózat köti össze. A tó vízszintjének ingadozása jelentős[67], a szelek felkavaró hatása az életfeltételeket jelentősen befolyásolja, alacsony vízállás esetén a vízfelszín feldarabolódik, a belső tavak izolálódnak a nyílt víztől *(Padisák és Dokulil 1994, Dinka és mtsai. 2004)*. A gyakori szélfúvásnak köszönhetően a tó állandóan felkevert állapotban van, a szediment részecskék miatt a nyílt víz zavaros; a vertikális rétegződés emiatt meglehetősen ritka, inkább horizontális variabilitásról beszélhetünk *(Dokulil és Padisák 1994)*. A belső tavak és csatornák lebegőanyag-tartalma a nyílt vízéhez képest kevesebb, a nagy huminanyag tartalom miatt a fény azonban itt is limitál *(Dinka és mtsai. 2009, Somogyi és mtsai. 2010a; IV/1. táblázat)*. A nagyfokú inhomogenitás tehát térben és időben egyaránt jellemző, ami változatos és változékony élőhelyeket eredményez *(Dinka és mtsai. 2004)*.

Balaton

A Balaton[68] Közép-Európa legnagyobb sekély tava, a tó és vidéke egyben az ország turisztikailag egyik leglátogatottabb területe (strandolás, gyógyfürdők, borvidék, vitorlázás és kirándulás).

A Balatonban az 1960-70-es években gyors eutrofizációs folyamat zajlott, nyugatról kelet felé csökkenő trofikus gradienssel *(Herodek 1984)*. Az 1980-as évektől helyreállítási program indult meg, amely magában foglalta a szennyvíz-elhelyezési és -tisztítási technológiák korszerűsítését, valamint a Kis-Balaton kiépítését. Ezek kezdeti eredményeként a Keszthelyi-medence foszfortartalmának jelentős csökkenése volt megfigyelhető *(Padisák és Istvánovics 1997)*. Az eutrofizációs és helyreállítási folyamatokra a cianobaktériumok érzékenyebben reagáltak, számos új trópusi és szubtrópusi eredetű faj jelent meg az eutrofizációval párhuzamosan *(Padisák és Reynolds 1998)*.

---

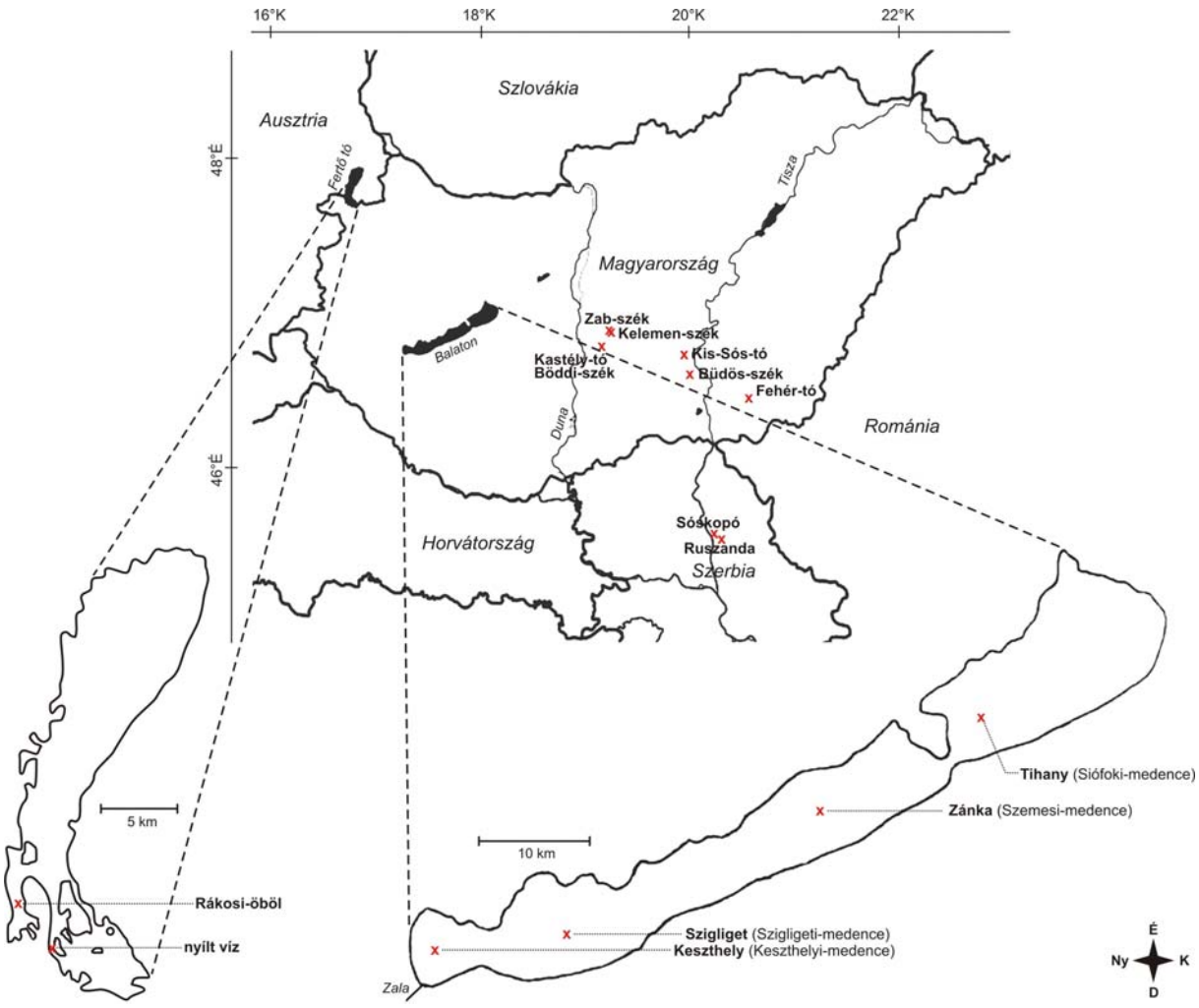
[66] 1980-ra a tó hipertrófiává vált, korábban oligo-mezotróf volt, jelenleg mezo-eutróf jellegű *(Dokulil és Padisák 1994, Somogyi és mtsai. 2010a)*

[67] a tó felületéhez viszonyítva kis vízgyűjtő területtel rendelkezik, ezért vízellátása kiegyensúlyozatlan és a kifolyás szabályozásával nem pufferelhető a csapadék által szolgáltatott víz hatása *(Dinka és mtsai. 2004)*

[68] neve a szláv *blato* (jelentése: sár, mocsár, láp) szóból ered; latin neve, a *Lacus Pelso* magyarul 'sekély tavat' jelent, hasonlóan német elnevezéséhez (*Plattensee*, szó szerint: 'lapos tó')

2. Mintavételi helyek és időpontok

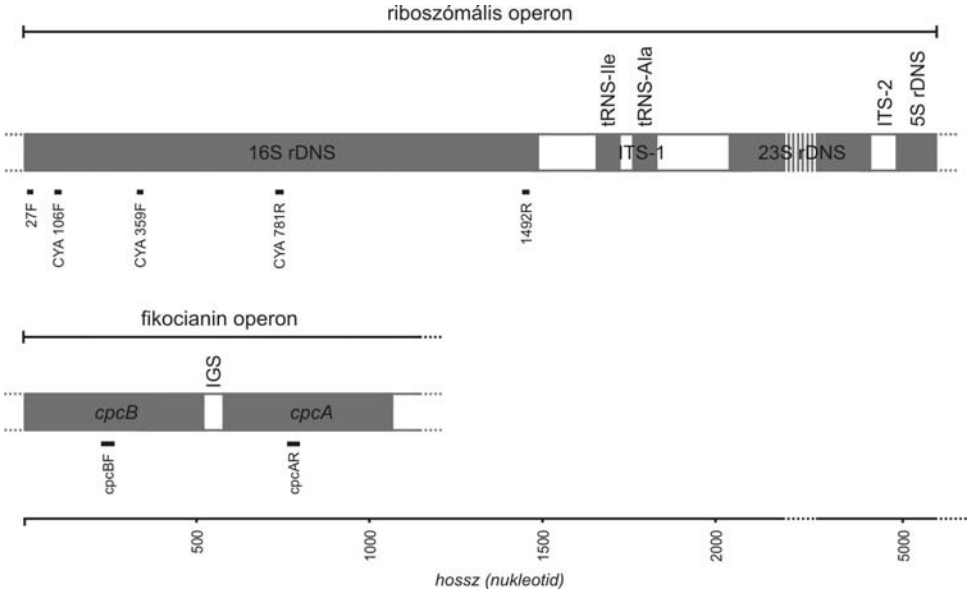
Mintáink kilenc sekély szikes tóból (hét a Kiskunság területén, kettő pedig a Vajdaságban található), a Fertő tóból és a Balaton négy pontjáról származtak *(IV/1. ábra, Melléklet M/6. táblázata)*. Az egyazon tóból, *ill.* helyről származó, különböző időpontban vett mintákkal az adott víztérben esetlegesen megfigyelhető szezonális változások követését céloztuk (a pontos mintavételi időpontokat *ld. Melléklet M/7. táblázata*). Összesen 47 mintát vizsgáltunk különböző módszerekkel.



IV/1. ábra. A mintavételi pontok földrajzi helyzete
A mintavételi helyek pirossal jelölve, a hozzájuk tartozó földrajzi koordinátákat ld. Melléklet M/6. táblázata.

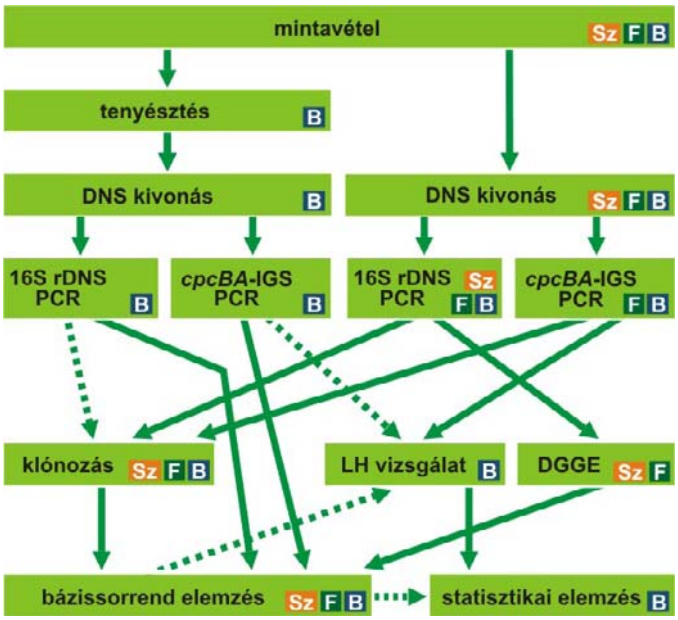
3. Alkalmazott vizsgálati módszerek

A pikoalgák azonosításához és diverzitásuk vizsgálatához a PCR alapú módszerek három típusát használtuk: *(i)* az egyes DNS-szakaszok bázissorrend elemzésén alapuló klónozást és szekvencia elemzést, *(ii)* ezen DNS-szakaszok (eltérő G+C-tartalmából adódó) különböző olvadási tulajdonságait kihasználó DGGE technikát és *(iii)* az egyes régióknál megfigyelhető hossz-heterogenitáson alapuló LH('length heterogeneity')-PCR technikát. A genomi DNS két szakaszát vizsgálatuk, a valamennyi élőlényben megtalálható riboszómális RNS kis alegységének génjét (16S rDNS-t) és a fikocianin operont (*cpcBA*-IGS-t) *(IV/2. ábra)*. Az adatelemzések során felhasználtuk a dolgozatban bemutatott DNS alapú munkákkal párhuzamosan végzett mikroszkópos megfigyelések és fizikokémiai mérések eredményeit az átfogóbb diszkusszió lehetőségének érdekében.



IV/2. ábra. A vizsgált gének és régiók elrendeződése az alkalmazott primerek illeszkedési pozícióival
A primerek bázissorrendjét ld. IV/4. táblázat.

A minták feldolgozásának összesített folyamatát az *IV/3. ábrán* tüntettük fel, a mintavételi időpontok szerinti részletes, vizsgálatokat összesítő táblázat a Mellékletben található *(M/7. táblázat)*.



IV/3. ábra. A minták feldolgozásának folyamata
Szaggatott vonallal jelölve a feldolgozás fő irányait kiegészítő lépések;
mintavételi helyek: Sz *- Duna-Tisza közi és vajdasági szikes tavak,* F *- Fertő tó,* B *- Balaton.*

Mintavétel és minta előkészítés

A sekély szikes tavakból felszíni vízmintákat vettünk merítéssel, míg a Fertő tó és a Balaton esetében egyesített vízoszlop mintákat dolgoztunk fel. A mintákat tartósítás nélkül szállítottuk a laboratóriumba, fénytől elzárva. A minták feldolgozása a mintavételtől számított 3-6 órán belül valamennyi esetben megtörtént.

A szikes tavak esetében átlagosan 50-100 mL minta centrifugálással került koncentrálásra (5000 *g*, 10 perc), míg a Balatonból vett mintákat szűréssel koncentráltuk [0,45 µm pórusátmérőjű nitrocellulóz szűrővel (Millipore, Billerica, MA, USA) 200-300 mL mintát felhasználva]. A nukleinsav alapú vizsgálatok megkezdéséig valamennyi mintát –20 °C-on tároltuk. A mintákat előzetesen méret szerint nem frakcionáltuk, a pikoplankton genotípusok elkülönítése a nagyobb méretű algákétól az általunk meghatározott genotípusokhoz leghasonlóbb tenyésztett képviselőkről rendelkezésre álló információk alapján történt.

A mintavételt és minta előkészítést az MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézetének munkatársai *(Vörös Lajos, Somogyi Boglárka, Németh Balázs és Dobos Géza)*, valamint *Boros Emil* (Naturglob Kft., Kecskemét) végezték.

Környezeti változók meghatározása

Az adataink elemzéséhez felhasználtuk az MTA BLKI munkatársai *(Somogyi Boglárka, Vörös Lajos, Présing Mátyás* és *Németh Balázs)* által mért fizikai-kémiai paraméterek, Chl *a* koncentráció és sejtszám értékeket is. A vizsgált változók meghatározásának módját a *Melléklet M/8. táblázata* tartalmazza.

Pikocianobaktérium törzsek izolálása és fenntartása

A Balatonból több unicianobakteriális pikocianobaktérium törzset is izoláltak az elmúlt években az MTA BLKI munkatársai *(Vörös Lajos, Koncz Eszter és Kovács W. Attila)*, amelyet az intézet saját törzsgyűjteményében (ACT) folyamatosan fenntartanak *(IV/2. táblázat).*

Nukleinsav alapú vizsgálatainkhoz folyadékkultúrában felnövesztett sejtek centrifugátumát (5000 *g*, 10 perc) használtuk, amiket a feldolgozásig –20 °C-on tároltunk.

IV/2. táblázat. A Balatonból származó pikocianobaktérium izolátumok
(Vörös Lajos és Somogyi Boglárka adatai alapján)

kód	*sejtméret (µm)*	*pigment-dominancia*	*fenntartó tápközeg**
ACT 9701	0,7 × 1,3	PC	BG-11$_{módosított}$
ACT 9711	0,8 × 1,4	PC	BG-11 $_{módosított}$
ACT 9801	1,0 × 1,5	PC	BG-11 $_{módosított}$
ACT 9802	0,8 × 1,4	PC	BG-11 $_{módosított}$
ACT 9803	0,7 × 1,4	PC	BG-11 $_{módosított}$
ACT 9804	1,0 × 1,7	PC	BG-11 $_{módosított}$
ACT 9806	1,0 × 1,6	PC	BG-11 $_{módosított}$
ACT 9807**	1,0	PE	BG-11 $_{módosított}$

* *ld. Rippka és mtsai. (1979);* ** szinoníma: NIVA CYA 375

A DNS kivonása

A fitoplankton minták és a törzsek esetében is a DNS kinyerése hasonlóan, a fizikai sejtfeltárás elvén zajlott, amit szilikát-mátrix alapú tisztítási lépés követett.

Minden esetben a koncentrált mintához 0,6-1 mL CLS-Y oldatot (Bio101 Systems, Q-Biogene, La Jolla, USA) és hozzávetőlegesen 5 mg polivinil-polipirrolidont (PVPP-t) (Sigma, St. Louis, MO, USA) adtunk. A szikes tavak mintáinál *kb.* 0,3 g steril üveggyöngy (Ø *kb.* 0,1 mm)

hozzáadása után a sejteket Mixer Mill MM301 típusú sejtmalommal (Retsch, Haan, Németország) tártuk fel (1 perc, 30/sec). A genomi DNS tisztítása Bacterial Genomic DNA Mini-Prep Kit (V-gene Biotechnology Ltd., Hangzhou, Kína) segítségével történt a gyártó leírása szerint.

A Balatonból vett mintáknál és a törzsek esetében a CLS-Y és PVPP hozzáadását követően centrifugálást végeztünk (15 000 *g*, 5 perc), és a genomi DNS-t tartalmazó felülúszót G-Spin™ Genomic DNA Extraction Kit (Intron Biotechnology, Seongnam, Dél-Korea) felhasználásával tisztítottuk a gyártó által megadott leírást követve.

A kinyert DNS-t további felhasználásig –20 °C-on tároltunk.

A DNS felszaporítása PCR segítségével

A megfelelő génszakaszokat PCR segítségével amplifikáltuk. Az alkalmazott primereket és a reakció paramétereit az *IV/3.* és *IV/4. táblázat* tartalmazza (az egyes módszereknél később az ezekben közölt reakciók kódját tüntettük fel). Az amplikonok méretének és mennyiségének ellenőrzése 1 (m/V)%-os agaróz gélben történt. Az elektroforézist követően (20 perc, 100 V-on TBE pufferben) az etídium-bromiddal (500 μg/L végkoncentrációban) megfestett DNS-t UV fényben detektáltuk.

A klónozást és a bázissorrend elemzéseket megelőzően a PCR terméket PCR-M™ Clean Up System (Viogene, Sijhih, Tajvan) segítségével tisztítottuk a gyártó leírását követve.

IV/3. táblázat. Az alkalmazott PCR-ek összetétele

mennyiség		***adalékanyag***
0,2	mM	dATP, dCTP, dGTP, dTTP (Fermentas, Vilnius, Litvánia)
2	mM	$MgCl_2$ (Fermentas)
2	U	*Taq* polimeráz (Fermentas)
0,4	mg/mL	BSA (Fermentas)
0,325	μM	primerek (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA, USA)
1	×	PCR puffer (Fermentas)
0,5-4	μL	genomi DNS (50 μL reakció-térfogat esetén)

Denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE)

A több minta viszonylag gyors és olcsó feldolgozását biztosító DGGE technika a kivágott sávok révén egyben a vizsgált szervezetek azonosítására is lehetőséget ad. A 16S rDNS felszaporítása két lépésben, *ún. nested PCR*-rel történt (*P1* és *P2* reakciók, *IV/4. táblázat*).

IV/4. táblázat. A PCR primerek bázissorrendje és a reakciók egyéb jellemzői

reakció kód/név	***primer neve***	***primer bázissorrendje (5' →3')***	***referencia***	***specifitás***	***hőprofil***
P1 – 16S rDNS „Univerzális" PCR	27F	AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG	*Lane 1991*	Bacteria	98 °C 5 perc, 35 ciklus (94 °C 30 mp, 52 °C 30 mp, 72 °C 1 perc), 72 °C 10 perc
	1492R	TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T	*Lane 1991*	univerzális	
P2 – 16S rDNS Cianobaktérium DGGE PCR	CYA 359F	GGG GAA TYT TCC GCA ATG GG*	*Nübel és mtsai. 1997*	cianobaktériumok és plasztiszok	95 °C 3 perc, 32 ciklus (94 °C 30 mp, 60 °C 30 mp, 72 °C 1 perc), 72 °C 10 perc
	CYA 781R	GAC TAC WGG GGT ATC TAA TCC CWT T	*Nübel és mtsai. 1997*		
P3 – 16S rDNS Cianobaktérium klónozás PCR	CYA 106F	CGG ACG GGT GAG TAA CGC GTG A	*Nübel és mtsai. 1997*	cianobaktériumok és plasztiszok	95 °C 3 perc, 32 ciklus (94 °C 30 mp, 60 °C 30 mp, 72 °C 1 perc), 72 °C 10 perc, *ill.* 30 perc**
	CYA 781R	GAC TAC WGG GGT ATC TAA TCC CWT T	*Nübel és mtsai. 1997*		
P4 – *cpcBA*-IGS *Synechococcus* fikocianin PCR	cpcBF (UFP)	TAG TGT AAA ACG ACG GCC AGT TGY YTK CGC GAC ATG GA***	*Robertson és mtsai. 2001*	a cianobaktériumok pikofitoplankton kládja	98 °C 5 perc, 32 ciklus (94 °C 45 mp, 45 °C 45 mp, 72 °C 45 mp), 72 °C 10 perc
	cpcAR (URP)	TAG CAG GAA ACA GCT ATG ACG TGG TGT ARG GGA AYT T	*Robertson és mtsai. 2001*		
P5 Klón PCR	M13F (-20)	GTA AAA CGA CGG CCA GT	*Sambrook és Russell 2001*	klonozó vektor	95 °C 3 perc, 32 ciklus (95 °C 30 mp, 52 °C 30 mp, 72 °C 1 perc), 72 °C 10 perc
	M13R (-24)	GGA AAC AGC TAT GAC CAT G	*Sambrook és Russell 2001 alapján módosítva*		

* a primer 5' végéhez egy GC-gazdag régió kapcsolódott (5' - CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCG GTC CCG CCG CCC CCG CCC G - 3') a DGGE-t megelőző PCR során; ** a törzsek közvetlen bázissorrend elemzése, *ill.* a klónozás esetében; *** a fitoplankton minták esetén HEX, az izolátumok esetében pedig TET fluoreszcens jelölés kapcsolódott a primer 5' végéhez a hosszpolimorfizmus vizsgálat során

Az elektroforézist 1 mm vastag 8 (m/V)%-os 40%-60% denaturáló koncentrációjú[69] poliakrilamid gélben végeztük 1× TAE pufferben 100 V-on és 60 °C-on 15 órán keresztül phorU-2 elektroforézis rendszerben (Ingeny International BV, Goes, Hollandia) a gyártó által megadott leírást követve. A gélt etídium-bromiddal festettük, majd steril, kétszeresen desztillált vízben mostuk, és végül UV megvilágítás mellett dokumentáltunk.

A kiválasztott sávokat steril szikével kivágtuk, és a DNS-t a gélből 20 µL DEPC-kezelt vízben (Roth, Karlsruhe, Németország) végzett 12 órás inkubálással nyertük ki. A DNS reamplifikálása a korábbiaknak megfelelően zajlott (*P2* reakció, *IV/4. táblázat*), amit bázissorrend elemzés követett.

[69] 100% denaturáló koncentráció 40% formamidot és 7 M ureát tartalmaz

Klónozás és a klónok csoportosítása

A tisztított PCR termékek (*P3* és *P4* reakciók, *IV/4. táblázat*) klónozását a kék-fehér szelekción *(Sambrook és Russell 2001)* alapuló, pCR®2.1-TOPO® vektort tartalmazó TOPO TA Cloning® kittel (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) végeztük a gyártó utasításait követve. A DNS reamplifikációja a klónozást megelőző PCR-eknek megfelelően, *ill.* M13 primerekkel történt (*P5* reakció, *IV/4. táblázat*). A klónok csoportosítása *Bsu*RI és *Hin*6I endonukleázokkal (Fermentas) végzett emésztést követően [0,3 µL enzim, 2 µL puffer, 7,7 µL DEPC-kezelt víz (Roth) és 10 µL PCR termék keverékének inkubálása 3 órán keresztül 37 °C-on], restrikciós mintázatuk alapján történt [elektroforézis 80 percig, 80 V-on, TBE pufferben 2 (m/V)%-os agaróz gélben]. A kiválasztott egy, *ill.* néhány csoportreprezentáns klón bázissorrend elemzését az alábbiakban leírtak szerint végeztük.

Bázissorrend elemzés és filogenetikai rekonstrukció

A szekvenáló reakciót BigDye® Terminator v3.1 Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) felhasználásával végeztük, a gyártó utasításait követve, a megadott reakció térfogat egynegyedében. Ezt etanolos tisztítás *(IV/5. táblázat)* követte, amely során a DNS alkoholos közegben kationokkal reagálva kicsapódik, így megtisztítható az elektroforézist zavaró anyagoktól. A kapilláris elektroforézist a Biomi Kft. (Gödöllő) munkatársai végezték. A kromatogramokat a Chromas program (Technelysium Pty Ltd, Tewantin, Ausztrália) segítségével manuálisan korrigáltuk, a vektor és a primerek szekvenciáit eltávolítottuk. Valamennyi nukleotid szekvenciát a GenBank adatbázisban *(Benson és mtsai. 2006)* elérhetővé tettünk, az elérési számokat a megfelelő filogenetikai fán tüntettük fel.

A szekvenciákat a Blast programmal *(Altschul és mtsai. 1997)* a GenBank DNS-adatbázissal, *ill.* a nem fototróf szervezetek esetében a prokarióta típustörzseket tartalmazó EzTaxon adatbázissal *(Chun és mtsai. 2007)* vetettük össze. Az azonosítást követően Mega 4 *(Tamura és mtsai. 2007)* program segítségével filogenetikai rekonstrukciót végeztünk (neighbor-joining módszer, Kimura 2-P nukleotid szubsztitúciós modell). A fák elágazásainak megbízhatóságát bootstrap-teszttel ellenőriztük, csak az 50%-nál nagyobb értékeket tüntettük fel.

IV/5. táblázat. Az etanolos tisztítás lépései

művelet	***részletek***
oldat hozzáadása	3 µL 3 M NaAc (pH 4,6), 62,5 µL 95%-os etanol és 14,5 µL DEPC-kezelt víz (Roth)
keverés	5 mp, 50 Hz-en asztali kémcsőrázatóval
inkubáció	15 perc, szobahőmérsékleten
centrifugálás	20 perc, 18 000 *g*
felülúszó elöntése	-
oldat hozzásadása	250 µL 70%-os etanol
keverés	5 mp, 50 Hz-en asztali kémcsőrázatóval
centrifugálás	10 perc, 18 000 *g*
felülúszó elöntése	-
kiszárítás	*kb.* 15 perc, vákuum centrifugában

Hosszpolimorfizmus vizsgálat (LH-PCR)

A fluoreszcensen jelölt primerekkel végzett PCR-t (*P4* reakció, *IV/4. táblázat*) követően etanolos tisztítást *(IV/5. táblázat)* végeztünk, majd 20 µL DEPC-kezelt vízzel (Roth) oldatba vittük a DNS-t. A kapilláris elektroforézis során egyszálú DNS molekulákra van szükség, ezt denaturálószer hozzáadásával (formamid) és magas hőmérséklet (98 °C, 5 perc) biztosításával értük el. Az alkalmazott reakcióelegy összetétele a következő volt: 12 µL formamid (Sigma), 0,6 µL GeneScan™-500 TAMRA™ méretmarker (Applied Biosystems) és 1-6 µL minta. Az elektroforézist ABI Prism™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) berendezéssel végeztük POP-4 polimerrel, 60 °C-on, 8 mp injekciós és 30 mp futási idővel, 15 kV-on. A különböző hosszúságú, fluoreszcensen jelölt PCR termékek a kapott kromatogramban egy-egy csúcsként jelennek meg, amelyek a közösség egy (vagy néhány) tagját képviselik, a csúcs alatti területek pedig a dominancia-viszonyokról adnak információt. A kromatogramok egyedi csúcsait, mint *operatív taxonómiai egységek*et kezeltük (OTU - 'operational taxonomic unit'). A különböző közösségek egyedi mintázattal jellemezhetők, amelyek alapján az összetételük összehasonlítható. A csúcsokhoz tartozó DNS-darabok hosszának meghatározását a méretmarkerrel és a törzsekkel végzett együttes elektroforézis segítette[70]. Az adatértékelést GeneMapper v3.7 (Applied Biosystems) és Microsoft Excel programokkal végeztük.

[70] a *IV/2. táblázat*ban feltüntetett izolátumok mellett felhasználtunk még két székesfehérvári halastóból származó, a cianobaktériumok pikofitoplankton kládjának 'F csoportjába' tartozó *(Felföldi Tamás és Vörös Lajos, publikálatlan eredmények)* törzset is

Statisztikai elemzések

A diverzitás indexeket az általánosan használt formulák alapján számítottuk *(IV/6. táblázat)* az egyes pikocianobakteriális OTU-k össz-fluoreszcenciához viszonyított aránya, valamint a nagyobb cianobaktériumok mennyisége alapján. Az elemzések során Microsoft Excel és PAST programokat *(Hammer és mtsai. 2001)* használtunk.

IV/6. táblázat. Az alkalmazott diverzitás indexek és jellemzőik

diverzitás index	*számítása*	*jellemzői*
Shannon-index (entrópia)	$-\sum p_i \ln(p_i)$	értéke 0-tól (csak egy csúcs van a mintában) egészen magas értékekig (ha sok csúcs van, de mindegyik aránya alacsony a közösségben) változhat; a logaritmikus transzformáció következtében nagyobb súlyt ad a ritkább fajoknak, mint a gyakoriaknak; értékét nehéz valamihez viszonyítani, hiszen nincsen felső határa
Simpson-index	$1-\sum(p_i)^2$	értéke 0 (csak egy csúcs van a mintában) és 1 (minden csúcs egyenlő arányban fordul elő a mintában) közötti; szemben a Shannon-indexszel a domináns fajoknak ad nagyobb súlyt

p_i: az adott csúcs területe az összes csúcs együttes területéhez képest

V. fejezet

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

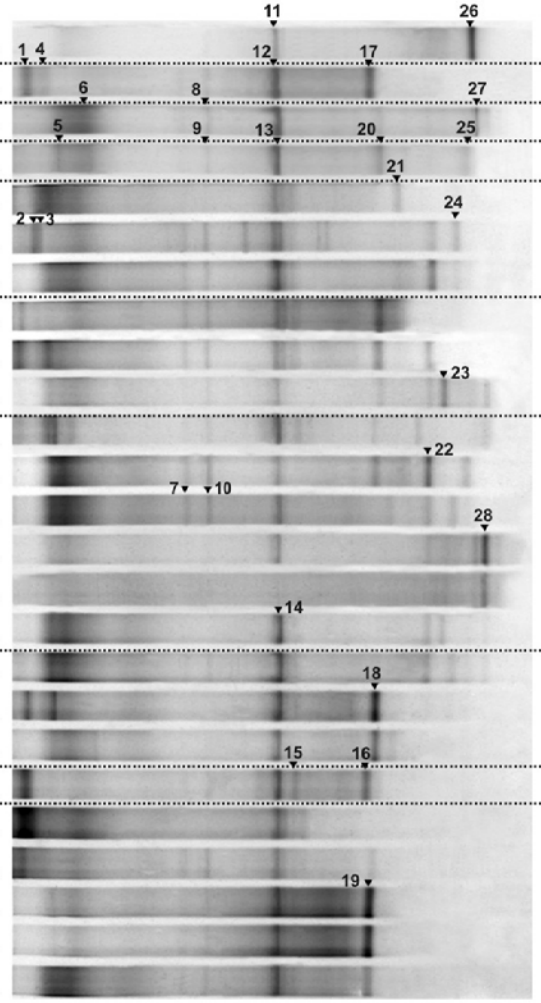
1. A szikes tavak pikofitoplanktonjának diverzitása és szezonális változásai

A kiskunsági és vajdasági szikes tavak planktonikus pikoalgái

Kilenc szikes tóból származó összesen 24 vízmintát dolgoztunk fel a 16S rDNS alapján végezett DGGE vizsgálattal [*V/1. ábra*; a mintázatok mellett feltüntettük néhány mért paraméter (vízhőmérséklet, vezetőképesség, Chl *a* koncentráció, pikoalga sejtszámok) értékét is]. A mintázatok elemzése változatos képet tárt elénk, és a 28 sávból visszanyert DNS bázissorrendjének meghatározása kizárólag cianobaktériumokból és eukarióta algákból származó 16S rDNS-ekhez hasonló szekvenciákat eredményezett *(V/2. és V/3. ábra)*.

A DGGE vizsgálatot kiegészítettük az egyik legnagyobb Chl *a* koncentrációval rendelkező minta (Zab-szék, 2003. jún. 4.) részletesebb, klónozással történő vizsgálatával. Összesen 77 klónt vizsgáltunk meg, a klónok restrikciós mintázata alapján 12 csoportreprezentáns bázissorrend elemzését végeztük el *(V/1. táblázat)*. A klónjaink között azonban itt jelentős számban akadtak nem fototróf mikroorganizmusoktól származó szekvenciák is (az összes klónra kivetítve 55,3%-ban). Ezek alacsony hasonlósági értékeket mutattak főként a Verrucomicrobiales törzsbe tartozó heterotróf baktériumokkal. A fototróf szervezetekhez köthető klónok azonban nagy valószínűséggel pikoalgából származtak *(V/2. és V/3. ábra)*.

A klónok között a cianobaktériumok pikofitoplankton kládjának három, egymástól távoli rokon képviselőjét is megtaláltuk *(V/2. ábra)*. Az azonos mintából kimutatott filotípusok[F] (DGGE sávok) között szintén megfigyelhető volt jelentős genetikai heterogenitás (Ruszanda, 2005. ápr. 23.: 98,0-99,0%; Kis-Sós-tó, 2005. ápr. 23.: 97,6-100% páronkénti hasonlóságok). Más minták pikocianobaktériumai viszont közel vagy teljesen azonosak voltak (Böddi-szék, 2004. szept. 3.: 99,7%; Sóskopó, 2005. ápr. 23.: 99,3-100% páronkénti hasonlóságok; míg a Fertő



			hőmérséklet (°C)	vezetőképesség (µS/cm)	Chl a (µg/L)	Pcy (10^4 sejt/mL)	Peuk (10^4 sejt/mL)
Fertő-Hanság	Fertő tó	2004. ápr. 28.	16	2500	31	309	<0,1
Vajdaság	Sóskopó	2005. ápr. 23.	15	3220	6,0	168	3,7
	Ruszanda	2005. ápr. 23.	15	10 400	2,0	7,3	0,5
Kiskunság	Kis-Sós-tó	2005. ápr. 23.	11	1845	3,0	0,1	8,6
	Kastély-tó	2004. márc. 16.	11	5390	68	466	47
		2004. júl. 4.	28	5220	32	356	<0,1
		2004. okt. 17.	10	5580	94	760	<0,1
	Kelemen-szék	2003. máj. 1.	19	4670	24	399	<0,1
		2004. okt. 17.	9	7950	23	10	42
		2005. júl. 7.	28	6300	7,6	32	12,8
	Böddi-szék	2004. ápr. 26.	12	4100	9,0	0,1	33
		2004. júl. 4.	30	9050	81	1032	31
		2004. szept. 3.	22	14 370	94	1783	32
		2004. okt. 17.	8	16 480	57	623	107
		2005. ápr. 23.	16	6710	120	213	171
		2005. júl. 7.	28	9700	81	519	65
	Büdös-szék	2004. szept. 3.	24	4410	44	22,7	16,6
		2004. okt. 17.	11	4700	34	107	816
		2005. júl. 7.	29	3700	11	30	34
	Fehér-tó	2004. máj. 27.	21	3190	81	0,1	210
	Zab-szék	2003. máj. 1.	19	4150	30	928	<0,1
		* 2003. jún. 4.	21	13 890	120	23	39
		2004. szept. 15.	24	5160	11	461	73
		2004. okt. 17.	8	6640	27	2.1	58
		2005. júl. 7.	28	4100	14	36	19

V/1. ábra. A vizsgált szikes tavak fitoplanktonjának DGGE mintázata és az egyes mintákhoz tartozó hőmérséklet, vezetőképesség, Chl *a* koncentráció és pikoalga sejtszám értékek

*A klónozott mintát * jelöli, a kivágott sávokat ▾ jelzi. Pcy - pikocianobaktériumok, Peuk - pikoeukarióta algák.*

V/1. táblázat. A Zab-székből 2003. jún. 4-én vett fitoplankton minta klónozásának eredményei

klón	***klóncsoport aránya (%)***	***legközelebbi találat****	***hasonlóság (%)***
Z0306c1	11,8	*Synechococcus* sp. TAGS	99,0
Z0306c3	2,6	*Opitutus terrae* PB90-1^{T}	88,2
Z0306c5	6,6	*Sphingomonas koreensis* KCTC 2882^{T}	78,8
Z0306c7	2,6	*Opitutus terrae* PB90-1^{T}	90,6
Z0306c8	13,2	*Chlorella kessleri* SAG 211-11g^{T}, plasztisz	94,7
Z0306c9	15,8	*Opitutus terrae* PB90-1^{T}	90,9
Z0306c11	15,8	*Verrucomicrobium spinosum* DSM 4136^{T}	87,9
Z0306c13	18,4	*Cyanobium* sp. JJM10D4	99,2
Z0306c16	4,0	*Opitutus terrae* PB90-1^{T}	90,3
Z0306c17	5,3	*Opitutus terrae* PB90-1^{T}	89,7
Z0306c18	2,6	*Rubritalea squalenifaciens* DSM 18772^{T}	86,1
Z0306c47	1,3	*Synechococcus* sp. PCC 9005	97,8

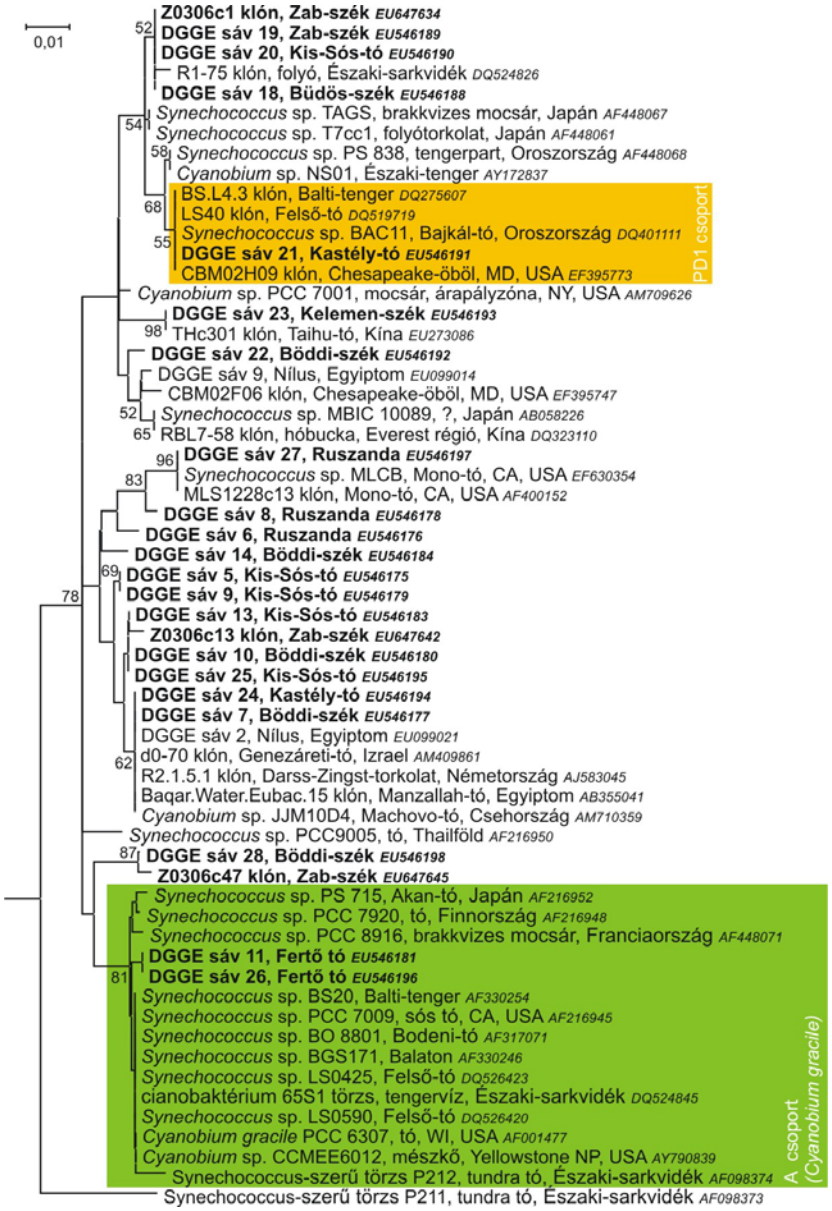
* pikoalgák esetében a GenBank, heterotróf baktériumoknál pedig az EzTaxon találatokat adtuk meg; ^{T} típustörzs

tóból[71] és Fehér-tóból származó 16S rDNS-ek bázissorrendje teljesen megegyezett). Ha azonos tavakból, különböző időpontokban vett mintákat hasonlítunk össze, víztestenként legalább két különböző csoportba tartozó pikocianobaktériumot sikerült kimutatni. A szikesekben észlelt genetikai diverzitás különösen érdekes jelenség, ha figyelembe vesszük azt a tényt, hogy ezekben a vízterekben a vezetőképesség gyors változásaival kell szembesülnie a pikoalga közösségnek *(Schmidt és Fehér 2001, Vörös és mtsai. 2006b; IV/1. táblázat, V/1. ábra)*. Az egyes tavakban megfigyelhető genetikai változatosság mellett a planktonikus pikoalgák szezonális dinamikájára utaló jelekkel is találkozhattunk az azonos tóból származó minták DGGE mintázatát összehasonlítva *(V/1. és V/4. ábra)*. Azaz, az egyes tavakban a hőmérséklet, vezetőképesség, turbiditás *stb.* évszakos változásait a pikofitoplankton közösség átrendeződése is tükrözi.

A Kastély-tóból származó két DGGE sáv (DGGE sáv 2 és 3) a nem pikoalga cianobaktérium nemzetséggel, az *Anabaenopsis*szal (Nostocales) mutatott nagyfokú nukleotid hasonlóságot (>99%, *V/3. ábra*). Jelenlétüket mikroszkópos megfigyelések is megerősítették.

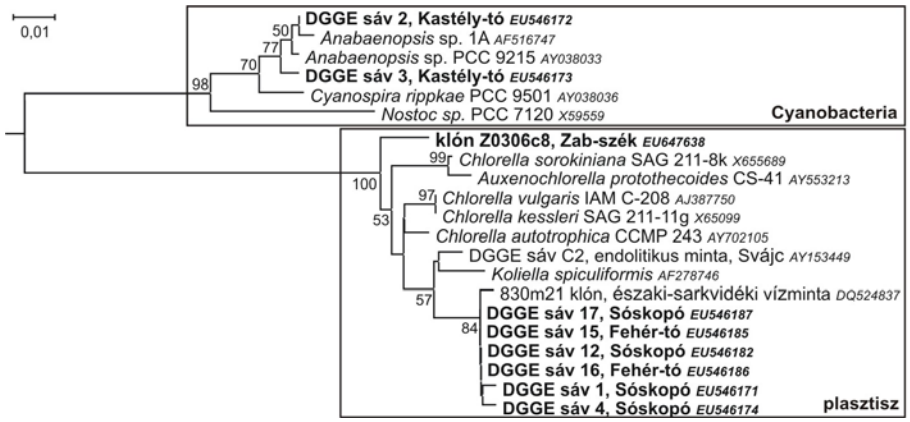
Az eukarióták plasztiszaiból származó 16S rDNS-ek két elkülönülő csoportot alkottak az édesvízi *piko* méretű zöldalgák többségét magában foglaló Trebouxiophyceae csoporton belül *(V/3. ábra)*. A leghasonlóbb szekvenciák *Chlorella* és *Koliella* izolátumoktól származtak. Fontos azonban megjegyeznünk, hogy az eukarióta pikoalgák többségéből nem állnak rendelkezésre meghatározott szakaszok a kloroplasztisz 16S rDNS génjéből *(Fuller és mtsai. 2006b, Benson és mtsai. 2006)*, így a szikesek pikoeukarióta algáinak pontos, faji azonosítására nem volt lehetőségünk. Későbbi tenyésztéses vizsgálatok a *Choricystis*, *Pseudodictyosphaerium/Mychonastes* csoport, valamint egy új zöldalga nemzetség jelenlétét igazolták ezekben a vizekben *(Somogyi és mtsai. 2009a)*.

[71] a Fertő tó részletesebb jellemzését a következő alfejezetben adjuk meg

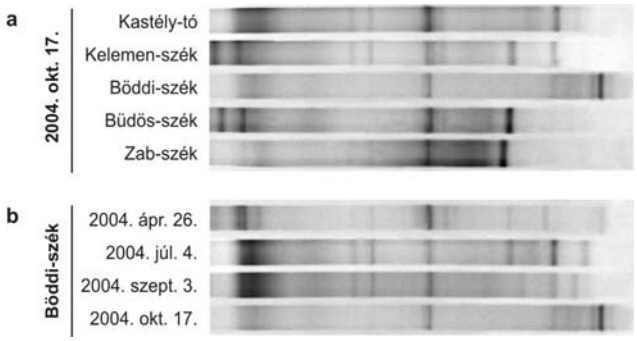


V/2. ábra. A cianobaktériumok pikofitoplankton kládján belül elhelyezkedő, szikes tavakból származó DGGE sávok és klónok filogenetikai helyzete a 16S rRNS gén vizsgálata alapján
Külső csoport: Synechococcus elongatus PCC 6301 (AP008231); 301 nukleotid pozíció alapján.

A kimutatott pikoalga filotípusok esetében egyébként semmilyen földrajzi elkülönülést nem tapasztaltunk, azaz a kiskunsági és vajdasági tavak pikoalgái nem alkottak elhatárolt csoportot a filogenetikai fán *(V/2. és V/3. ábra)*. Ez a megfigyelés jól egyezett azzal a korábban is tapasztalt jelenséggel, hogy az egyes pikocianobaktérium csoportokon belül változatos földrajzi helyekről és habitatokból származó képviselők fordulnak elő *(pl. Crosbie és mtsai. 2003a, Ivanikova és mtsai. 2007, Haverkamp és mtsai. 2008)*. Más szavakkal kifejezve, látva a szikes pikocianobaktérium genotípusok diffúz eloszlását a filogenetikai fán, úgy tűnik nincs szoros összefüggés a 'sós' ökotí-



V/3. ábra. A cianobaktériumok pikofitoplankton kládján kívül elhelyezkedő, szikes tavakból származó DGGE sávok és klónok filogenetikai helyzete a 16S rRNS gén vizsgálata alapján
Külső csoport: Gloeobacter violaceus PCC7421 (AF132790); 301 nukleotid pozíció alapján.



V/4. ábra. Tér- (a) és időbeli (b) heterogenitás példája a kiskunsági szikes tavak fitoplankton közösségében
A V/1. ábra kiemelt részei.

pus és a filogenetikai helyzet között. A korábban leírt törzsek és környezeti klónok vizsgálata is ezt támasztja alá, hiszen brakk- vagy tengervízből származó 16S rDNS szekvenciák édesvíziekkel vegyesen alkotnak csoportokat *(pl. Crosbie és mtsai. 2003a, Budinoff és Hollibaugh 2007, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008)*.

A mintavételek időpontjában a vizsgált tavak többsége hipertróf volt[72] *(V/1. ábra)*. A pikoalgák között a mikroszkópos vizsgálatoknál kizárólag PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok és pikoeukarióta algák fordultak elő. Ez a megfigyelés jól egyezett a szakirodalmi adatok alapján várt eredménnyel, ugyanis a fikoeritrines pikocianobaktériumok az oligotrófabb vizekre jellemzők *(Vörös és mtsai. 1991, Pick 1991, Vörös és mtsai. 1998, Wood és mtsai. 1998, Stomp és mtsai. 2007b)*. A szikesek turbiditását okozó lebegőanyagok pedig a vízalatti fényklíma *vörös eltolódá-*

[72] a szikesek egy részénél (Kastély-tó, Böddi-szék, Fehér-tó és Zab-szék) a feldolgozott minták között is előfordultak nagyon nagy, a hipertróf kategória határát jelző 75 μg/L feletti *(OECD 1982)* Chl *a* koncentráció értékek; a vizsgált tavakban eddig megfigyelt legmagasabb Chl *a* értékeket a Kelemen-székben (300 μg/L) és a Büdös-székben mérték (797 μg/L) *(Somogyi és mtsai. 2009b)*

sát eredményezik, ami a zöld színű algák (PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok és pikoeukarióták) elszaporodásának kedvez *(Callieri és mtsai. 1996, Vörös és mtsai. 1998, Stomp és mtsai. 2007a)*, hiszen a hozzáférhető vörös fény fikocianobilinnel, valamint Chl *a* és *b* pigmentekkel hatékonyan abszorbeálható *(II/2. ábra)*. A mikroszkópos megfigyelések és a molekuláris biológiai eredmények összevetése alapján valószínűsíthetjük, hogy valamennyi általunk kimutatott pikocianobaktérium filotípus PC-pigment-dominanciával rendelkezik, hiszen kizárólag ilyen sejttípus jelenlétére utaltak az epifluoreszcens vizsgálatok.

Izolált törzsekkel végzett ökofiziológiai vizsgálatok kimutatták, hogy ezekben a turbid, sekély vízterekben az eukarióta pikoalgák és a pikocianobaktériumok mennyiségi viszonyait döntően a fény- és hőmérsékleti viszonyok változásai határozzák meg *(Somogyi és mtsai. 2007, Somogyi és mtsai. 2009b)*. 17 °C fölötti hőmérsékleten ugyanis a prokarióta, míg ez alatt az eukarióta pikoalga törzs volt képes jobban hasznosítani az alacsony intenzitású fényt.

A pikoalga sejtek koncentrációja négy nagyságrendet is átölelt a vizsgált mintákban (10^4 - 10^7 sejt/mL; *V/1. ábra*), és a legnagyobb értékek nemzetközi viszonylatban is kiemelkedően magas adatoknak tekinthetők *(Carrick és Schelske 1997, Sarmento és mtsai. 2008, Somogyi és mtsai. 2009b)*. Ez a meglepően nagy produktivitás volt az, ami néhány évvel korábban a pikoalga kutatásokat hazánkban ezen vízterek felé irányította *(Schmidt és Fehér 2001, Vörös és V.-Balogh 2003, Vörös és mtsai. 2005)*. Ezek a kezdeti tanulmányok igazolták, hogy a vizek pikoplanktonját átlagosan 1 µm méretű, vörösen fluoreszkáló gömb alakú egysejtű cianobaktériumok és eukarióta algák alkotják, amik jelentős hányadát (74-100%) teszik ki a fitoplanktonnak. Bár jelentőségükhöz nem fért kétség, taxonómiai helyzetük meghatározása mindeddig elmaradt.

A fent bemutatott elemzések tehát hiánypótlónak tekinthetők, noha a DGGE technika módszertanából adódó korlátok (esetünkben *pl.* az azonos pozícióban lévő sávok különbözősége[73]) és az azonos mintavételi helyről származó minták alacsony száma korlátozta a részletes szezonális dinamika feltárásának lehetőségét. Bár több környezeti paraméter is meghatározásra került, szintén az előzőekben említett két körülmény nem engedte meg ezen változók és az egyes pikoalga genotípusok közötti mélyebb összefüggések feltárását. A nem fototróf szervezetek nagy aránya a Zab-szék vízmintájából készített klónkönyvtárban a használt 16S rDNS primerek alkalmazhatóságát kérdőjelezte meg Verrucomicrobiales baktériumokat jelentős mennyiségben tartalmazó minták esetében[73]. A fent vázolt problémák elkerülése érdekében, *ill.* a leszűrhető tapasztalatok alapján a továbbiakban a heterotróf baktériumokat kizáró módszerek (fikocianin operon alapú klónozás és LH-PCR) bevonásával és azonos víztérből nagyobb vizsgált mintaszám alkalmazásával igyekeztük finomítani vizsgálatainkat.

[73] *ld.* részletesebben *V.4. alfejezet*

A Fertő tó planktonikus pikoalgái

A Fertő tóból két nyílt vizű mintavételi helyről ('Rákosi öböl' és 'nyílt víz', *V/1. ábra*), egyazon időpontból (2004. április 28.) származó fitoplankton közösség klónozással történő elemzését végeztük el. A választás azért esett ezekre a helyekre és időszakra, mert a korábbi *(Padisák és Dokulil 1994)* és a minta feldolgozásakor folyamatban lévő algológiai vizsgálatok *(Somogyi és mtsai 2010a)* is azt az eredményt hozták, hogy a pikoalgák a tó nyíltvizű régióiban és főleg tavasszal a legjelentősebbek. A két minta egyébként a mért fizikokémiai és biológiai paramétereit tekintve meglehetősen hasonlónak bizonyult[74].

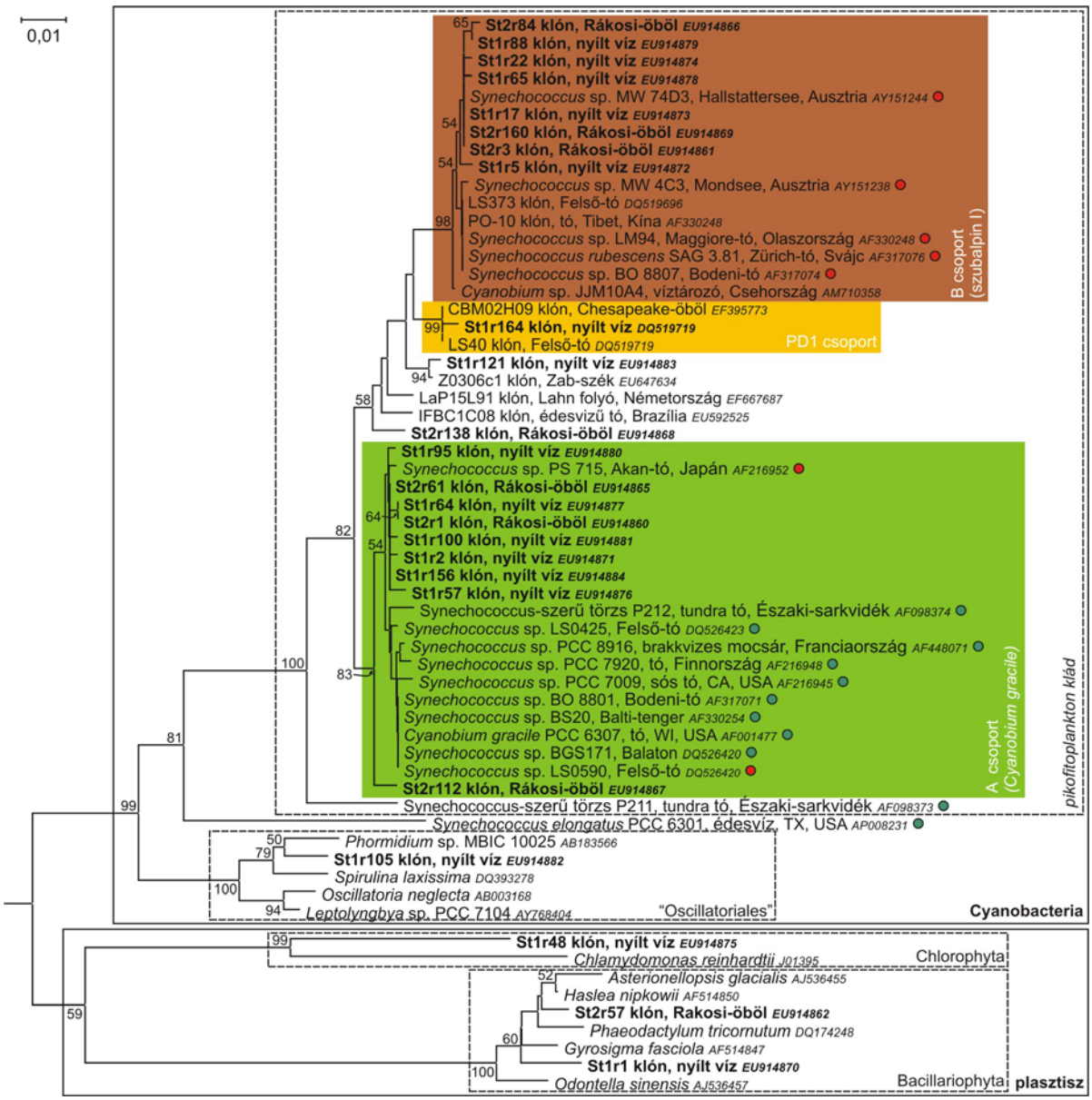
Mindkét mintára elvégeztük a pro- és eukarióta algák 16S rDNS-ére specifikus reakciókat, majd a közösségi PCR termékek elemzését mintánként több mint 150 klón vizsgálatával *(V/5. és V/6. ábra)*. A kapott restrikciós mintázatok alapján a 'nyílt víz' minta esetében (Stn1 klónok) 16, míg a 'Rákosi-öböl' mintánál (Stn2 klónok) tíz klón nukleotidsorrendjét határoztuk meg. Klónjaink többsége (94,7% és 95,8%-os részesedéssel az összes klónok számára kivetítve) a cianobaktériumok pikofitoplankton kládjának nem-tengeri csoportjaival mutatott hasonlóságot.

A pikocianobaktérium klónok 64,4%-a az 'A', 32,2%-a 'B', 2,0%-a 'PD1 csoporthoz' tartozott a 'nyílt víz' mintánál, míg 1,4%-uk nem volt köthető egyik korábban megalkotott csoporthoz sem (ez utóbbi az St1r121 klónnal képviselve, ami a legnagyobb páronkénti hasonlóságot épp az egyik Zab-székből származó klónunkkal mutatta, 99,7%-os értékkel; *V/5. ábra*). A 'Rákosi-öböl' minta klónjainak 71,8%-a tartozott az 'A', 25,7%-a 'B csoporthoz' és 2,5%-uk nem volt köthető egyetlen csoporthoz sem [az ezt képviselő St2r138 klónnal a legnagyobb páronkénti hasonlóság értékeket (98,4%) a 'PD1 csoport' tajgai mutatták]. Sajnos a pikofitoplankton kládon kívüli fototrófokkal rokon klónjainknak (St1r105, St1r48, St2r57 és St1r1 klónok) még nemzetség szintű azonosítása sem volt lehetséges az alacsony hasonlóságok miatt *(V/5. ábra)*. Azt azonban elmondhatjuk, hogy valamennyi kimutatott nagyobb csoport [„Oscillatoriales", Chlorophyta, Bacillariophyta (kovaalgák)] jellemző tagjai a Fertő tó fitoplanktonjának *(Dokulil és Padisák 1994, Padisák és Dokulil 1994, Somogyi és mtsai. 2010a)*. Emellett a 'nyílt víz' klónkönyvtár tartalmazott néhány heterotróf baktériumtól eredeztethető klónt is[75].

[74] a 'nyílt víz' mintavételi ponthoz tartozó értékeket *ld. V/1. ábra*; 'Rákosi-öböl' mintavételi pont, hőmérséklet: 16 °C, vezetőképesség: 2400 µS/cm, Chl *a*: 26 µg/L, Pcy: 511 × 10^4 sejt/mL, Peuk: <0,1 × 10^4 sejt/mL; a planktonikus pikoalgák részesedése a fitoplankton biomasszájából 67,5, *ill.* 80% volt

[75] *ld.* részletesebben *V.4. alfejezet*

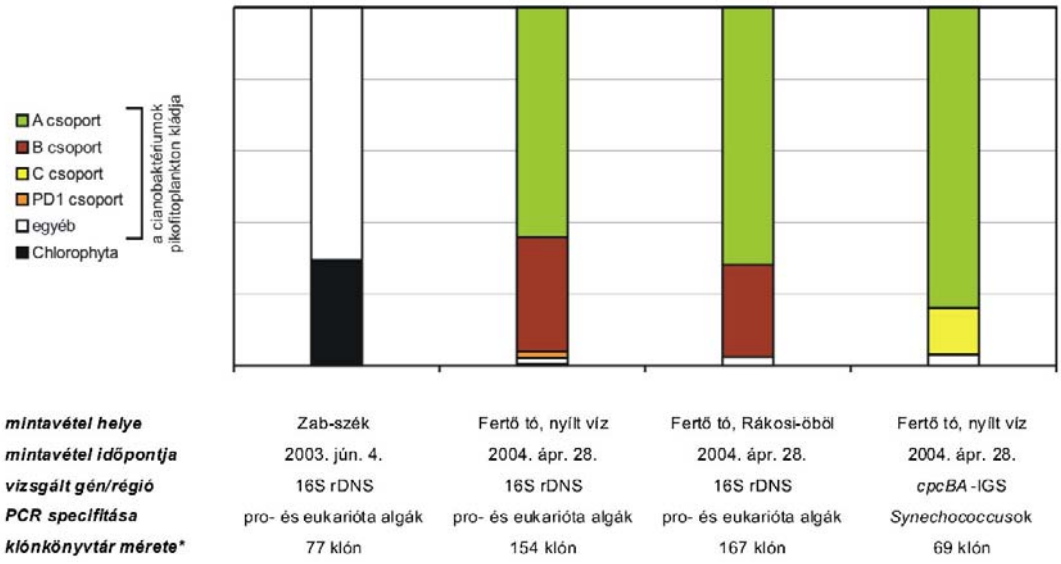
A 'nyílt víz' minta közösségére elvégeztük *Synechococcus*-specifikus primerek alkalmazásával a fikocianin operon egy szakaszának vizsgálatát is, szintén klónozással. Elsődleges célunk ezzel a 16S rDNS klónkönyvtárak elemzése során kapott, a pikocianobaktériumok összetételére vonatkozó információink kiegészítése, finomítása volt. Ismeretes ugyanis, hogy bizonyos csoportokból csak *cpcBA*-IGS szekvenciák találhatók a DNS adatbázisokban *(Robertson és mtsai. 2001, Crosbie és mtsai. 2003a, Ivanikova és mtsai. 2007).*



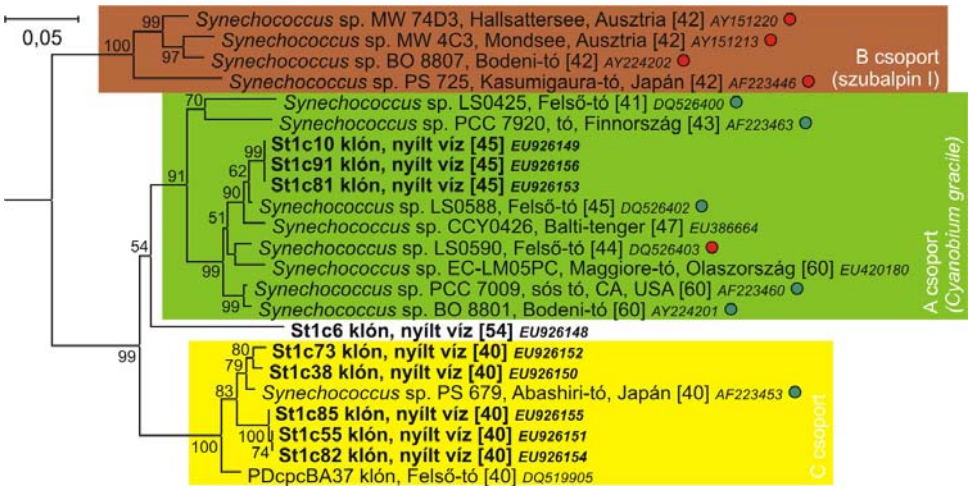
V/5. ábra. A Fertő tóból származó cianobaktérium és eukarióta alga klónok filogenetikai helyzete a 16S rRNS gén vizsgálata alapján

Külső csoport: Thermotoga maritima (M21774); 550 nukleotid pozíció alapján.
Pirossal a PE-, zölddel a PC-pigment-dominanciájú izolátumokat jelöltük.

A *cpcBA*-IGS klónkönyvtárunk technikai okok miatt a 16S rDNS klónkönyvtárakhoz viszonyítva lényegesen kevesebb, összesen 69 inzerttel rendelkező klónt tartalmazott csupán *(V/6. ábra)*. Ebben az esetben a restrikciós mintázatok alapján kilenc klón bázissorrend elemzését végeztük el. A kimutatott csoportok eloszlása a klónok egészére kivetítve a következő volt: 84,1%-uk az 'A', 13,0%-uk a 'C csoporthoz' tartozott és 2,9%-uk (az St1c6 klónnal képviselve) pedig alacsony páronkénti hasonlóság értékeket (<80,1%) mutatott az adatbázisban található szekvenciákhoz *(V/6. és V/7. ábra)*.



V/6. ábra. Az egyes pikoalga csoportok megoszlása a szikes tavak klónkönyvtáraiban
** csak az inzertet tartalmazó klónok számát tüntettük fel.*



V/7. ábra. A Fertő tóból származó pikocianobaktérium klónok filogenetikai helyzete a *cpcBA*-IGS régió vizsgálata alapján
Külső csoport: Synechococcus elongatus PCC 6301 (NC006576); 378 nukleotid pozíció alapján; az IGS régió hosszát szögletes zárójelben tüntettük fel; pirossal a PE-, kékkel a PC-pigment-dominanciájú izolátumokat jelöltük.

A korábbi kép tehát valóban árnyaltabb lett. A fikocianin operonnal végzett molekuláris vizsgálatainkkal a 16S rDNS alapú klónozásoktól eltérően ugyan nem sikerült 'B csoportba' tartozó pikocianobaktériumokat kimutatni, viszont egy újabb csoportot ('C csoport') jelenlétét igazoltuk a Fertő tóban *(vö. V/5. és V/7. ábra; V/6. ábra)*. Az eltérésekért az alkalmazott PCR-ek különböző specifitása okolható, *ill.* az a tény, hogy 'C csoportba' tartozó *Synechococcus* 16S rDNS szekvencia nem található az adatbázisban[76].

A 'nyílt víz' mintavételi helyről származó, a klónozással feldolgozottal azonos minta DGGE módszerrel történt vizsgálata és a két legintenzívebb sávból visszanyert DNS bázissorrend elemzése az 'A csoport' meghatározó szerepét vetítette elő a Fertő tó nyílt vizű régióiban *(V/1. és V/2. ábra)*. Ennek a csoportnak a domináns szerepét igazolták a két mintavételi helyen két különböző régióra végzett klónozás eredményei (mindhárom klónkönyvtárnál a klónok >64%-a tartozott ide; *V/6. ábra*). A pikoalga közösség kevésbé jelentős tagjait a 'B', 'C' és 'PD1 csoporthoz'[77], *ill.* legalább kettő[78] mindeddig ismeretlen pikocianobaktérium csoporthoz tartozó filotípusok alkották.

Nem feledhetjük azonban, hogy a fent tett megállapítások nem általános érvényűek a Fertő tóra nézve, és csak egyetlen áprilisi, jelentős pikoalga közösséggel jellemezhető időpont pillanatfelvételére vonatkoznak. Így elképzelhető, hogy az általunk dominánsnak talált 'A csoport' az év más szakaszaiban, *ill.* a belső tavakban sokkal kisebb arányban van csak jelen, valamint az is, hogy egyéb, általunk nem kimutatott pikocianobaktérium csoportok is megtalálhatók a tó fitoplanktonjában.

A Fertő tó régóta képezi tárgyát különböző algológiai kutatásoknak *(ld. Somogyi és mtsai. 2010a hivatkozásait)*, a pikoplankton filogenetikai hovatartozását taglaló fent bemutatott molekuláris biológiai eredményeink azonban előzmények nélkülinek tekinthetők. Mindazonáltal a Fertő tó pikoplanktonjának egészére, *ill.* a fluoreszcens tulajdonságok alapján elkülöníthető csoportokra vonatkozólag korábban már rendelkeztünk információkkal.

Padisák és Dokulil (1994) összegezte az 1968 és 1992 közötti mintegy 700 Fertő tóból származó fitoplankton minta vizsgálatának eredményeit. Megállapították a fitoplankton meglehetősen szegényes fajösszetételét egyéb tavakhoz képest, aminek oka vélhetőleg a nagy

[76] *ld.* részletesebben *V.4. alfejezet*

[77] a nemcsak egyetlen szekvenált klónt tartalmazó csoportokon belül a klónok heterogenitása volt megfigyelhető (kivételt képeztek ez alól az 'A csoport' *cpcBA*-IGS klónjai); az 'A csoporton' 98,5-100%, a 'B'-n belül pedig 99,1-100% volt a klónjaink közötti páronkénti hasonlóság értéke a 16S rDNS alapján

[78] a 16S rDNS vizsgálatok szerint a St1r121 és a Zab-székből származó Z0306c1 klónok által alkotott, valamint a St2r138 klón által egyedül képviselt csoport a nagy bootstrap értékek és alacsony páronkénti hasonlóság adatok alapján vélhetőleg ilyen *(V/5. ábra)*; kérdéses továbbá, hogy a St1c6 *cpcBA*-IGS klón *(V/7. ábra)* egy harmadik eddig ismeretlen csoport tagja vagy egy olyan 16S rDNS alapján megalkotott csoport képviselője, aminek egyik tagjához sem tartozik fikocianin operon szekvencia

sókoncentráció és zavarosság. A plankton jellemző tagjaként a pikocianobaktériumokat, meroplanktonikus[F] kovaalgákat[79] és zöldalgákat említik. A pikoalgák biomasszájának aránya a vizsgált nyílt vízi mintákban elérte a 75%-ot is és különösen a tavaszi időszakban voltak jelentősek. Eredményeik alapján a tó érzékenyen reagál az éghajlati változásokra, ami döntően befolyásolja a fizikokémiai paramétereket (vezetőképesség, tápanyagok aránya), ez pedig egyértelműen tükröződik a fitoplankton összetételében (hosszú távon bizonyos csoportok dominánssá válnak, majd eltűnnek). Véleményük szerint rövidtávon (akár szezonálisan) az ismétlődő felkeveredés, míg hosszú távon a vízszint és szalinitás változásai határozzák meg a Fertő fitoplankton közösségének dinamikáját.

Másfél évtizeddel később *Somogyi és mtsai. (2010a)* vizsgálták a Fertő tó fitoplanktonjának összetételét és rövidtávú változásait, 2004. áprilisától októberig. Eredményeik egyértelműen alátámasztották *Padisák és Dokulil (1994)* megfigyeléseit, azonban érdekes új adatokkal is szolgáltak. A nyílt víz és a belső tavak jelentős pikoalga populációkkal rendelkezhetnek ($>10^6$ sejt/mL), akár 80%-os részesedéssel a fitoplankton biomasszájából, legjelentősebbek áprilisban és októberben voltak. A pikoalgák közül egysejtű pikoeukariótákat, valamint egysejtű és kolóniás PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumokat mutattak ki. Az eukarióta pikoalgák mennyisége átlagosan két nagyságrenddel kisebb volt, mint a pikocianobaktériumoké, és kizárólag a belső tavakban fordultak elő. A legnagyobb pikocianobaktérium sejtszámok viszont a nyílt vízben voltak mérhetők. A csatornák pikoplanktonja elhanyagolható volt ($< 10^4$ sejt/mL).

Láthatjuk tehát, hogy az epifluoreszcens mikroszkópia alkalmazásával is milyen érdekes tér- és időbeli mintázatokat és változásokat sikerült feltárni a Fertő tó pikoalgáinak mennyiségi és minőségi viszonyaira vonatkozólag. Eredményeink alapján azonban bebizonyosodott, hogy egyetlen mikroszkópos kategória (PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok) is számos filotípust foglalhat magában. A Fertő tó nagyfokú horizontális és szezonális heterogenitása, ami a pikoalgák különleges jelentőségével kapcsolódik össze, érdekes további vizsgálati témákat adhat a pikoplankton molekuláris jellemzésével összefüggésben. Kiemelt kutatási irány lehet annak megállapítása, hogy az egyes víztér típusok (nyílt víz, belső tavak) fizikokémiai jellemzőinek változása (zavarosság, pH *stb.*) hogyan befolyásolja a pikoalga filotípusok arányát. Míg ez a Fertő esetében csupán távlati tervként jelölhető meg, a Balaton vizsgálata során a környezeti változók és az egyes pikocianobaktérium genotípusok között érdekes összefüggésekre leltünk, mint azt a következő alfejezetben majd látni fogjuk.

[79] sekély tavakban a kovaalgák gyorsan lesüllyedhetnek, ezért szélcsendes időszakokban az üledék felszínén találhatók nagy számban, később *pl.* a szél felkeverő hatására újból a víztestbe kerülhetnek, ezáltal csak időszakosan képezik részét a planktonnak *(Padisák és Dokulil 1994)*

2. A Balaton pikofitoplanktonjának diverzitása és szezonális változásai

A Balaton planktonikus pikoalgáinak diverzitása

A Balatonból két különböző helyről, négy különböző időpontban vett mintákból készítettünk klónkönyvtárat. A Keszthelynél 2003. február 19-én vett mintára azért esett a választásunk, mert ennél a mintánál tapasztalták korábban a tóban valaha mért legnagyobb pikoeukarióta alga sejtszám értéket ($28{,}8 \times 10^4$ sejt/mL, *Mózes és mtsai. 2006; II/12. ábra*). Ezt a mintát és egy másik, de pikocianobaktérium dominanciával rendelkező és szintén Keszthelyről származó mintát (2005. október 26.) a 16S rDNS alapján vizsgáltuk. A fikocianin operon alapján is két mintát jellemeztünk klónozásos vizsgálattal, egy tihanyi tavaszi (2006. április 24.) és egy keszthelyi őszi (2006. szeptember 4.) mintát. A minták megválasztásánál nem az összehasonlíthatóság volt az elsődleges szempont, hanem az, hogy lehetőleg kevés számú minta feldolgozásával változatos időpontokból és helyekről szerezzünk információt és a Balaton pikofitoplankton közösségének minél teljesebb diverzitását megismerhessük. A *cpcBA*-IGS klónkönyvtárak létrehozásához felhasznált minták kiválasztásakor figyelembe vettük az LH-PCR eredményeit is, amik alapján sejthető volt, hogy melyik minták a legváltozatosabb összetételűek[80]. A klónozáshoz használt minták fizikokémiai és biológiai változóinak jellemző értékeit a *Melléklet M/9. táblázata* tartalmazza.

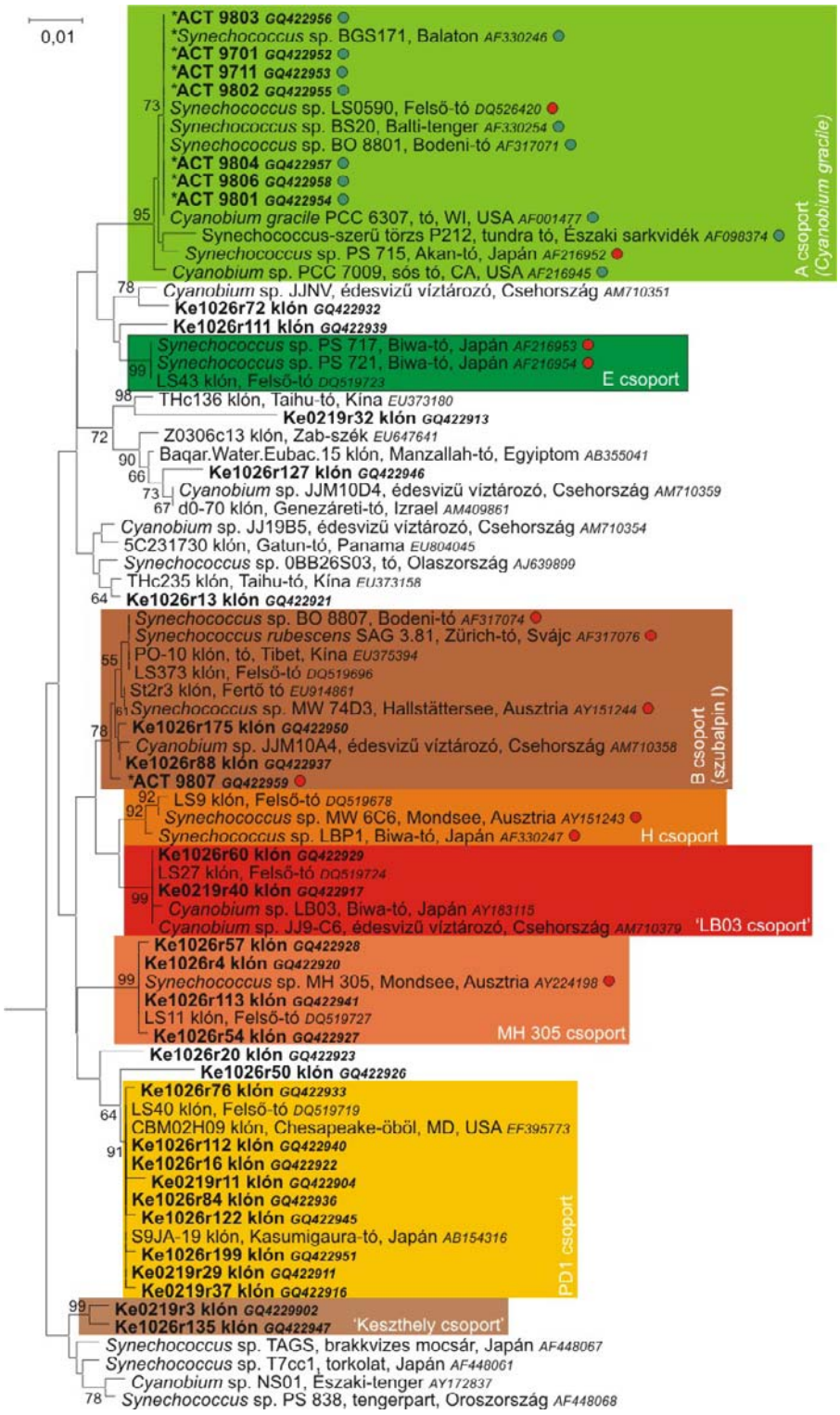
A kapott restrikciós mintázatok alapján mintánként 13-33 klón bázissorrend elemzését végeztük el[81]. Klónjaink többsége a cianobaktériumok pikofitoplankton kládjának különböző csoportjaival, a 2003-as téli minta klónjainak többsége viszont a Trebouxiophyceae család (Chlorophyta) képviselőivel mutatta a legnagyobb páronkénti hasonlóság értékeket *(V/8-11. ábra)*.

Mindkét vizsgált régió alapján igazoltuk a 'B csoport' és az 'MH 305 csoport' jelenlétét a Balatonban. A 16S rDNS klónok között előfordultak még az 'LB03 csoport' és a 'PD1 csoport' képviselői is. Ezeken kívül nyolc további csoportot sikerült még kimutatni, amelyek többsége csak viszonylag alacsony páronkénti hasonlóságot mutatott az adatbázisokban megtalálható szekvenciákkal (a legalacsonyabb értéket a Ke0219r32 klón esetében tapasztaltuk, 97,1%), jelezvén, hogy a Balatonban számos, korábban még nem ismert csoport is megtalálható *(V/8. ábra)*. A *cpcBA*-IGS klónok alapján a két közös csoporton túl a cianobaktériumok pikofitoplankton kládja

[80] *ld.* később *V/12. és V/13. ábra*

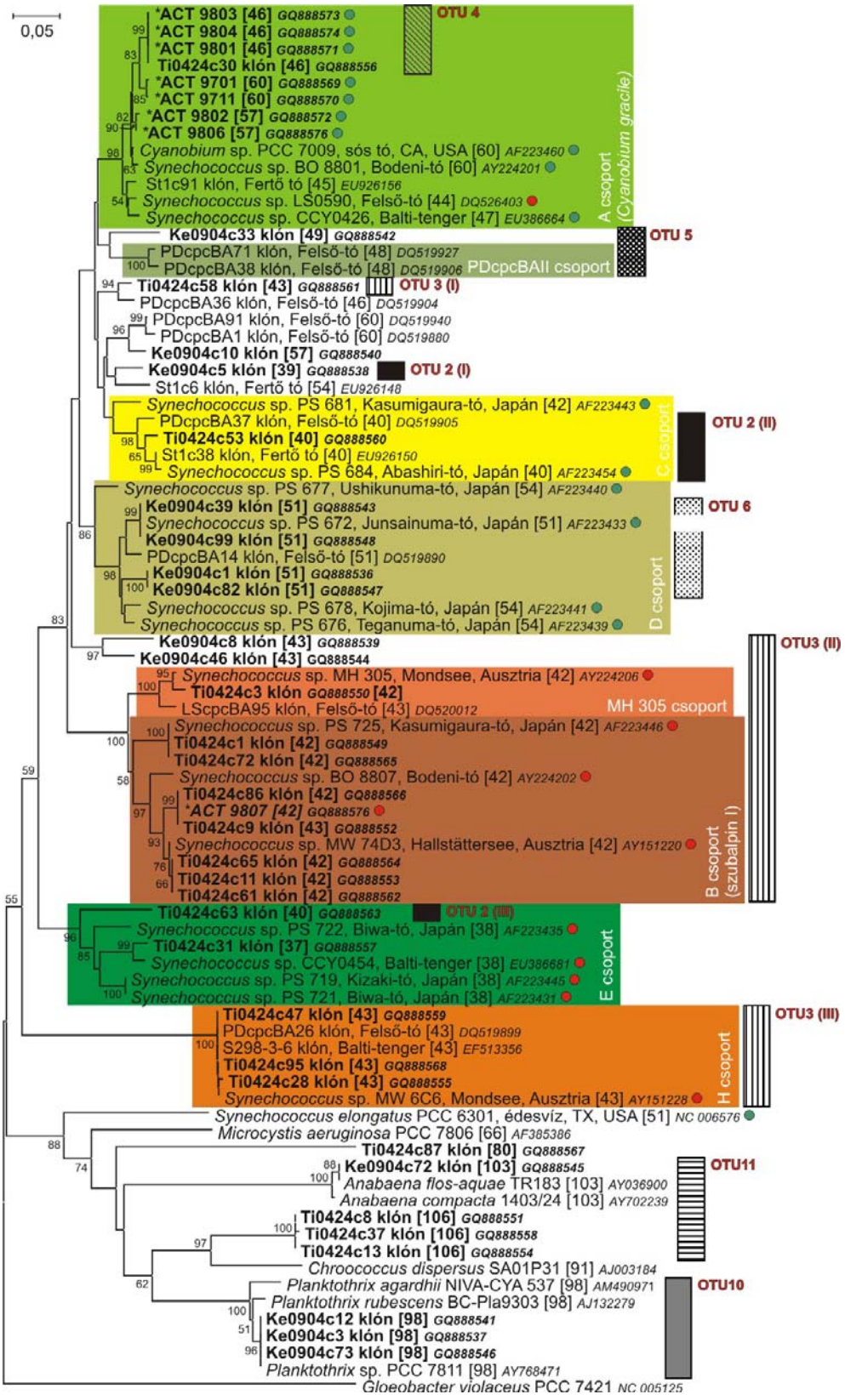
[81] a klónok kódolásánál az első két karakter a mintavételi hely első két betűjéből származik (Ke - Keszthely, Ti - Tihany), a következő négy karakter a mintavételi időpont hónapja és napja, amit a vizsgált gén egybetűs rövidítése (r - 16S rDNS, c - *cpcBA*-IGS) követ, majd a klón sorszáma zár; a 'Ke0219r' klónkönyvtárnál 23, a 'Ke1026r' klónkönyvtárnál 33, a 'Ti0424c' klónkönyvtárnál 20, míg a 'Ke0904c' esetében 13 csoportreprezentáns bázissorrendjét határoztuk meg

'A', 'C', 'D', 'E csoportjának', valamint hat további filotípusnak a jelenlétét mutattuk ki. Az egyes pikocianobaktérium csoportok mintánkénti megoszlását az *V/10. ábra* ismerteti.



V/8. ábra. A Balatonból származó törzsek és a cianobaktériumok pikofitoplankton kládján belül elhelyezkedő klónok filogenetikai helyzete a 16S rRNS gén vizsgálata alapján

Külső csoport: Synechococcus elongatus PCC 6301 (AP008231); 542 nukleotid pozíció alapján. Pirossal a PE-, kékkel a PC-pigment-dominanciájú izolátumokat jelöltük. A Balatonból származó izolátumokat csillag jelzi.

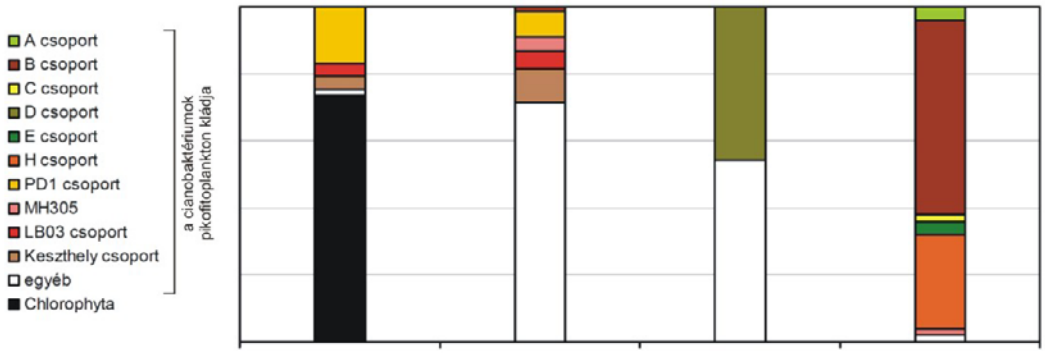


V/9. ábra. A Balatonból származó cianobaktérium klónok filogenetikai helyzete a *cpcBA*-IGS régió vizsgálata régió alapján

Külső csoport: Synechococcus elongatus PCC 6301 (NC006576); 285 nukleotid pozíció alapján. Az IGS régió hosszát szögletes zárójelben tüntettük fel. Pirossal a PE-, zölddel a PC-pigment-dominanciájú izolátumokat jelöltük. Az azonosított OTU-kat ld. még V/12. ábra. Egy extra aminosav beépülése miatt a cpcB génbe, a Synechococcus sp. PS 672 törzs és az Anabaena szekvenciák esetében az amplikonok három bázissal hosszabbak, mint a többi esetben.

A nyolc pikocianobaktérium izolátum közül az egyedüli PE-pigment-dominanciával rendelkező ACT 9807 törzs a 'B csoporthoz' tartozott *(V/8. és V/9. ábra)*. Ebben a csoportban a korábbi tanulmányok is kizárólag PE-gazdag törzseket írtak le *(Crosbie és mtsai. 2003a, Ivanikova és mtsai. 2007)*. A többi hét balatoni izolátum viszont az 'A csoporthoz' tartozott mindkét gén vizsgálata alapján. Ez utóbbiak valamennyien 100%-os páronkénti hasonlóság értékekkel rendelkeztek az egyetlen korábban ismert, Balatonból származó törzshöz viszonyítva *(Ernst és mtsai. 2003)* a 16S rDNS alapján. A *cpcBA*-IGS régió alapján viszont az 'A csoporthoz' tartozó törzsek között bizonyos fokú genetikai heterogenitás volt észlelhető (97,4-100%-os páronkénti hasonlóság értékek) és a nem kódoló régió (IGS) hossza is eltért esetükben (három különböző méret-kategória).

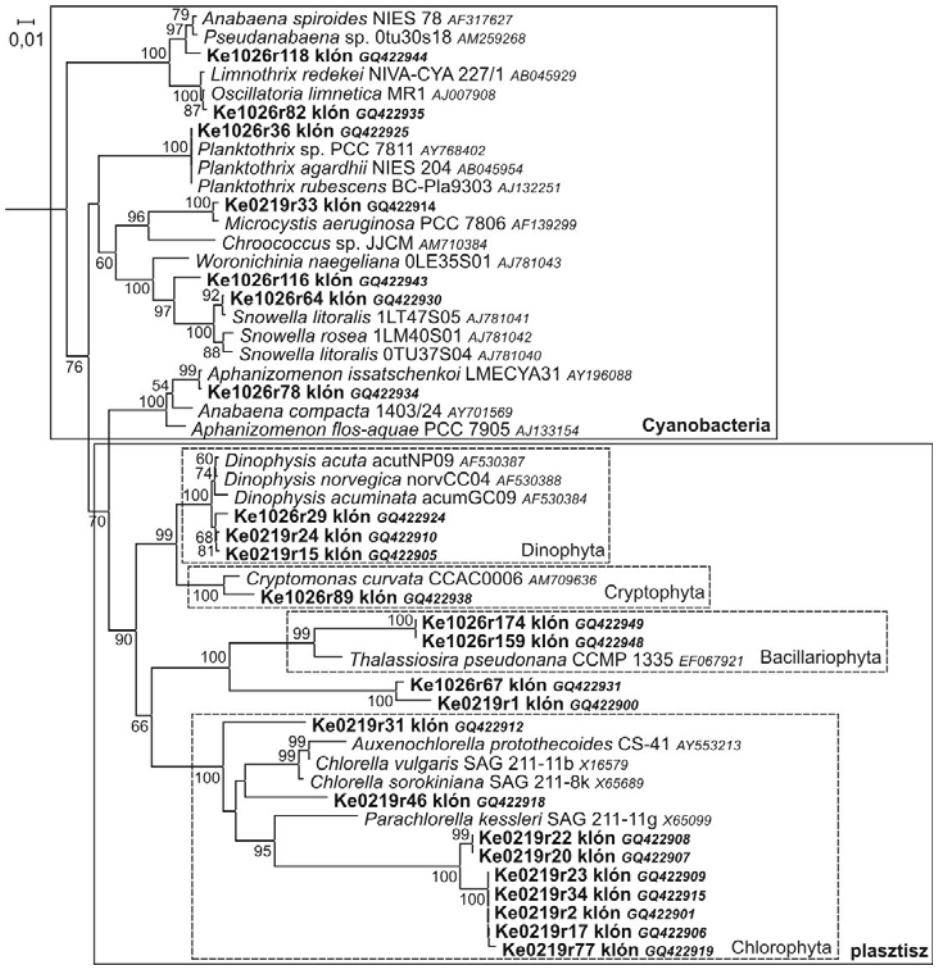
A klónkönyvtárak elemzéseit és a pikocianobaktérium izolátumok vizsgálatát összevetve megállapíthatjuk, hogy a Balatonban legalább 13 különböző pikocianobaktérium csoport fordul elő, ami meglepően nagy számnak tűnhet a nagyobb méretű cianobaktériumok diverzitását ismerve, ugyanis a kimutatott pikoalgák száma a nagyobb méretű kékalgák fajszámával összemérhető volt[82].



mintavétel helye	Keszthely	Keszthely	Keszthely	Tihany
mintavétel időpontja	2003. febr. 19.	2005. okt. 26.	2006. szept. 4.	2006. ápr. 24.
vizsgált gén/régió	16S rDNS	16S rDNS	*cpcBA*-IGS	*cpcBA*-IGS
PCR specifitása	pro- és eukarióta algák	pro- és eukarióta algák	*Synechococcus*ok	*Synechococcus*ok
klónkönyvtár mérete*	70 klón	200 klón	45 klón	58 klón

V/10. ábra. Az egyes pikoalga csoportok megoszlása a Balaton klónkönyvtáraiban
** csak az inzertet tartalmazó klónok számát tüntettük fel.*

[82] a 2006-ban általunk vizsgált időszakban Keszthelynél az *Anabaena aphanizomenoides, Anabaena spiroides, Aphanizomenon gracile, Aphanizomenon issatschenkoi, Cylindrospermopsis raciborskii, Planktolyngbya circumcreta, Planktolyngbia limnetica, Planktothrix agardhii* és *Snowella lacustris*, míg Tihanynál az *Aphanizomenon gracile, Planktolyngbya limnetica, Planktolyngbya circumcreta, Microcystis flos-aquae* és *Snowella lacustris* cianobaktériumok voltak megfigyelhetők mikroszkópos morfológiai vizsgálatok alapján *(Vörös Lajos adatai)*



V/11. ábra. A Balatonból származó, a cianobaktériumok pikofitoplankton kládján kívül elhelyezkedő klónok filogenetikai helyzete a 16S rRNS gén vizsgálata alapján
Külső csoport: Gloeobacter violaceus PCC 7421 (AY768399); 561 nukleotid pozíció alapján.

A 2003 telén Keszthelynél vett minta fototróf klónjainak többsége Chlorophyta törzsekkel mutatta a legnagyobb páronkénti hasonlóságot, három elkülönülő csoportot alkotva *(V/10. és V/11. ábra)*. Ezek a törzsek a Trebouxiophyceae család képviselői, és az egyes nemzetségek között (*Chlorella* és *Parachlorella*) előfordulnak piko méretű sejtekkel rendelkező fajok is *(II/7. táblázat)*. Az általunk vizsgált klónok viszont ezekkel a törzsekkel csak alacsony hasonlósági értékeket mutattak (90,1-92,8%). Sajnos a zöldalgák kloroplasztiszának 16S rDNS adatbázisa meglehetősen hiányos, így a Balaton planktonikus pikoeukarióta algáinak pontos, faji szintű azonosítása jelen vizsgálatunkkal nem volt lehetséges. Pikoeukarióta algákat a többi klónkönyvtárban nem találtunk, ami jól egyezik azzal, hogy a többi klónozott mintában az eukarióta pikoplankton nem volt jelentős *(Vörös és mtsai. 2009a; M/9. táblázat)*, *ill.* hogy *cpcBA*-IGS alapon eukarióta algákat egyáltalán nem is lehet kimutatni, mivel náluk nincsenek fikobiliszómák.

A Balaton téli fitoplanktonjának jellemző tagjai a pikoeukarióták, amik leggyakrabban kokkoidális alakban jelennek meg *(Mózes és mtsai. 2006, Vörös és mtsai. 2009a; II/12. ábra)*. Szintén

jelentősek lehetnek a *kb.* 1 μm széles és 4-6 μm hosszú, olajcseppecskéket tartalmazó sejtek, amiket morfológiai alapon *Stichococcus minutissimus*ként (Trebouxiophyceae) azonosítottak *(Vörös és mtsai. 2009a)*. Egy Szigligetnél vett, szintén téli minta (2009. január 26.) 18S rDNS alapú DGGE vizsgálata alapján a *Nannochloris bacillaris* (Trebouxiophyceae) zöldalga faj jelenlétét igazolták (két DGGE sáv, 98,9-100% páronkénti hasonlóság értékekkel az adatbázisban fellelhető egyetlen ilyen szekvenciához, *Felföldi és mtsai. 2010; ld. még II/7. táblázat és Melléklet M/1. ábra*). Az itt hivatkozott és a dolgozatban bemutatott eredményeink alapján is valószínűsíthető tehát, hogy a Balaton téli pikofitoplanktonjában meghatározó szerepet töltenek be a Trebouxiophyceae család (Chlorophyta) tagjai.

A nagyobb méretű algák közül is több csoport megtalálható volt a klónok között *(V/9. és V/11. ábra)*, ezek a Balaton fitoplanktonjának jellegzetes tagjai *(Padisák és Reynolds 1998, Présing és mtsai. 2001 stb.)*. Az *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Planktothrix* és *Snowella* nemzetségek előfordulását a vizsgált időszakban végzett mikroszkópos megfigyelések is megerősítették a mintákban[83]. Ezek közül a kolóniákat képező *Microcystis* és *Snowella* nemzetségek *(II/5. ábra)* sejtjei is elérhetik olykor a *piko* méret-kategória tágan értelmezett felső határát (< 3 μm, *Rajaniemi-Wacklin és mtsai. 2005, Willame és mtsai. 2006*).

Meglepő volt viszont, hogy nem a pikofitoplankton kládhoz tartozó cianobaktériumokat a *cpcBA*-IGS alapú klónkönyvtárakban is találtunk *(V/9. ábra)*, holott az alkalmazott PCR protokoll a szakirodalmi adatok alapján *Synechococcus*okra specifikus *(Robertson és mtsai. 2001)*. A korábbi klónkönyvtárainkhoz hasonlóan a riboszómális gének alapján balatoni vízmintákból készített klónkönyvtárak is tartalmaztak heterotróf baktériumoktól származó klónokat (2, *ill.* 9%-ban)[84].

A Balaton a pikofitoplankton kutatások tekintetében a legintenzívebben vizsgált magyarországi víztér. Számos nemzetközi tekintetben is meghatározó jelentőségű kutatási eredmény született a tó planktonikus pikoalgáival kapcsolatosan, *pl.* a pikofitoplankton mennyiségi és minőségi összetételének kapcsolata a víz trofitásával, hőmérsékletével, a vízalatti fényklímával; a kolóniás formák képződésének magyarázata (*ld.* részletesebben *Melléklet M/5. táblázata*). A planktonikus pikoalgák genetikai összetétele és diverzitása mindeddig azonban ismeretlen maradt. Ilyen irányú kutatásainkat azonban kiegészítettük a Balaton esetében a szezonális és térbeli eltérések vizsgálatával, *ill.* az egyes genotípusok jelentőségének és a környezeti paraméterek változásainak összekapcsolásával a pikocianobaktérium dominanciával jellemezhető időszakban.

[83] *ld.* 82-es lábjegyzet
[84] *ld.* részletesebben *V.4. alfejezet*

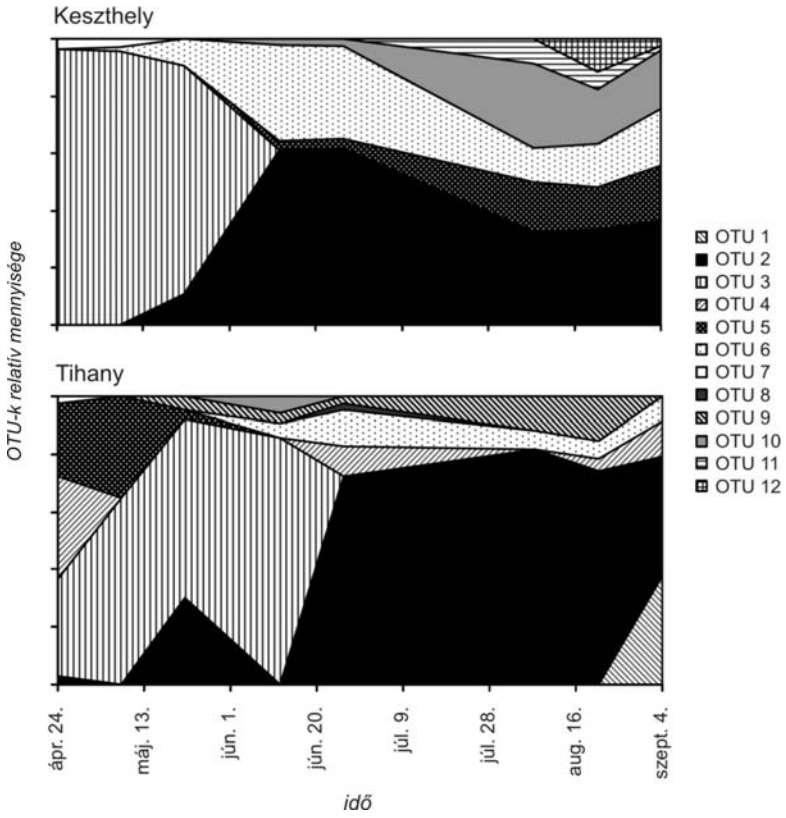
Szezonális változások és térbeli heterogenitás a Balaton pikocianobaktérium közösségében

Összesen 12 OTU-t sikerült megkülönböztetni a vizsgált mintáinkban a fikocianin operon hossz-heterogenitásának vizsgálata alapján. 2006-ban a vizsgálati időszakban (április végétől szeptember elejéig) Tihanynál tíz OTU (OTU 1 - OTU 10), míg Keszthelynél nyolc (OTU 2, OTU 3, OTU 5, OTU 6, OTU 7, OTU 10, OTU 11 és OTU 12) jelenlétét mutattunk ki. Valamennyi OTU esetében jellegzetes időbeli változás volt megfigyelhető *(V/12. ábra)*. A fikocianin operon alapján végzett bázissorrend elemzések (a balatoni klónok és pikocianobaktérium izolátumok) eredményeinek felhasználásával az egyes OTU-k tagjainak valószínűsített filogenetikai helyzetét is meghatároztuk *(V/9. ábra)*. Mivel az IGS régió a cianobaktériumok pikofitoplankton kládján belül átlagosan 40-60 nukleotid hosszúságú *(Crosbie és mtsai. 2003a; V/9. ábra)*, ezért feltételeztük, hogy az ennél lényegesen hosszabb nem kódoló régiót tartalmazó amplikonok (OTU 10, OTU 11 és OTU 12) nem pikocianobaktériumoktól származnak. Ezt az OTU 10 és OTU 11 esetében a bázissorrend elemzés eredményeivel is megerősítettük. Mindezek alapján tehát kilenc pikocianobaktérium OTU-t (OTU 1 - OTU 9) tudtunk megkülönböztetni a hosszpolimorfizmus vizsgálattal mintáinkban. Ezek közül ötöt (OTU 2 - OTU 6) különböző csoportokhoz is hozzá tudtunk kapcsolni a filogenetikai fán *(V/9. ábra)*.

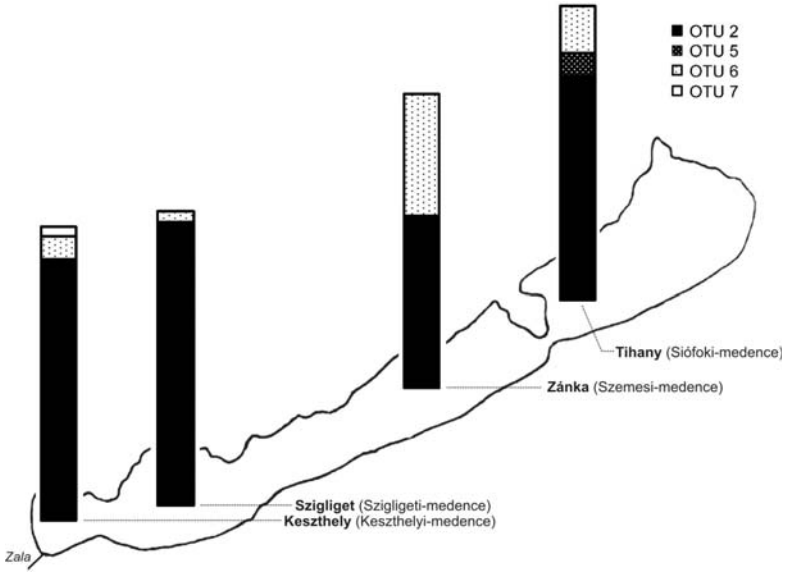
Az azonos mintavételi időpontokat összehasonlítva jelentős térbeli heterogenitás is tapasztalható volt a két hely között *(V/12. ábra)*. Egy 2005. őszi időpontban (2005. október 26.) a Balaton négy pontján vett minták alapján a pikocianobaktérium közösség összetételének részletesebb térbeli eltérései tárultak fel előttünk *(V/13. ábra)*. Hasonlóan a 2006-os mintasor őszi mintáihoz ezeknél is az OTU 2 tagjai voltak a legjelentősebb közösségalkotók (58-96%-os részesedéssel). Ebben az esetben a fő különbségeket az két domináns OTU (OTU 2 és OTU 6) relatív arányában tapasztalt eltérések adták, *ill.* az hogy az OTU 7 csak a legnyugatibb (keszthelyi) míg az OTU 5 csak a legkeletibb (tihanyi) mintavételi ponton volt jelen kimutatható mennyiségben ebben az időpontban.

A szezonális és térbeli eltérések magyarázatára több ok is szóba kerülhet. Ezek két fő hajtóerejét az évszakos ritmus (a hőmérséklet és ezzel párhuzamosan az algaközösség mennyiségi és minőségi változásai, *ill.* a hozzáférhető tápanyagok koncentrációjának alakulása, *pl. Vörös és mtsai. 1991, Présing és mtsai. 2001*) és a Balaton hossztengelye mentén megfigyelhető (keletről nyugat felé növekvő) trofitási gradiens (*Herodek 1984*) adhatja. A hatások pontosabb felderítése

érdekében néhány mért fizikokémiai és biológiai változó, valamint a fikocianin operon vizsgálata alapján megalkotott OTU-k között kerestünk kapcsolatot a 2006-os mintasor felhasználásával.



V/12. ábra. Az egyes LH-PCR OTU-k időbeli változása a Balaton Keszthelyi- és Siófoki-medencéjében 2006-ban



V/13. ábra. Az LH-PCR OTU-k térbeli eloszlása a Balatonban 2005. október 26-án

Környezeti faktorok hatása az egyes pikocianobaktérium csoportok arányára

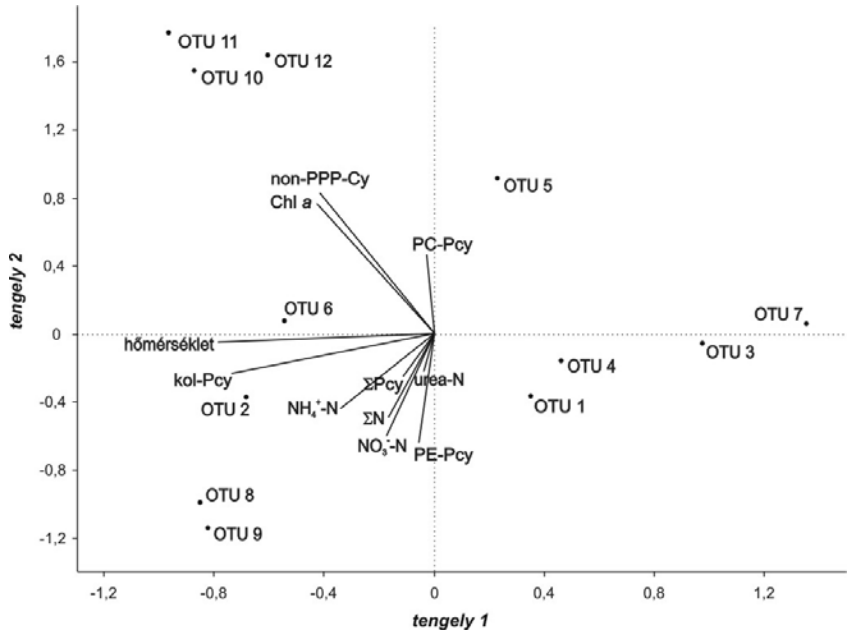
Mivel a pH és vezetőképesség értékei viszonylag kis tartományban mozogtak, így ezeket a korrelációs elemzéseknél nem használtuk. A vertikális extinkciós koefficiens (K_d) értéke a Balatonhoz hasonló sekély tavaknál akár néhány órán belül is jelentősen változhat időjárási hatások (*pl.* vihar) következtében, ezért ennek a környezeti változónak a mintavétel időpontjában mért aktuális értéke és más változók összekapcsolása egy statisztikailag viszonylag alacsonyabb számú minta esetében szintén félrevezető lehet. A planktonikus pikoeukarióta algák mennyiségét sem használtuk fel a statisztikai elemzésekhez, mivel ezek csak egyetlen mintában voltak jelen kimutatható mennyiségen a 2006-os vizsgálati időszakban *(Melléklet M/10. táblázata)*.

Számos érdekes szignifikáns összefüggést sikerült felfednünk a környezeti paraméterek és a pikocianobaktérium OTU-k között *(V/14. ábra, V/2. táblázat;* a korreláltatott változók listáját *ld. Melléklet M/11. táblázata)*. A biológiai változók közül a PE-, és a PC-pigment-dominanciával rendelkező pikocianobaktériumok mennyisége, a kolóniás pikocianobaktériumok és a hőmérséklet, valamint a nagyobb méretű cianobaktériumok és a Chl *a* koncentrációja között találtunk jelentősebb korrelációkat. A hőmérséklettel az OTU 2 pozitívan, az OTU 3 negatívan, míg az OTU 9 relatív mennyisége a nitrogénformák koncentrációjával pozitívan korrelált. Számos OTU mennyisége korrelált a kolóniás pikocianobaktériumok és/vagy a PE- és PC-gazdag formák mennyiségével. A nagyobb méretű kékalgákhoz kapcsolható nem pikocianobakteriális OTU-k (OTU 10, OTU 11 és OTU 12) relatív mennyisége a Chl *a* koncentrációjával és a nagyobb méretű cianobaktériumok számával mutatott pozitív összefüggést. Több OTU mennyisége között szintén megfigyelhető volt pozitív vagy negatív korreláció.

A pikocianobaktériumok mennyisége a Balatonban követi a vízhőmérséklet változását *(Vörös és mtsai. 2009a)*, hasonlóan más édesvizekhez vagy az óceánokhoz *(Waterbury és mtsai. 1986, Stockner és mtsai. 2000, Callieri 2008)*. Nem meglepő tehát, hogy a pikocianobakteriális OTU 2 relatív mennyisége pozitívan korrelált a hőmérséklettel a vizsgált időszakban. Ezzel ellentétben viszont az OTU 3-nál negatív összefüggés volt tapasztalható a hőmérséklettel. Ez utóbbi OTU (más csoportok mellett) a 'B csoporthoz' köthető filogenetikailag *(V/9. ábra)*. A szintén 'B csoporthoz' kapcsolható BO 8807 genotípus *(II/1. ábra)* legnagyobb relatív mennyisége télen és tavasszal volt megfigyelhető a Bodeni-tó felső 8 méteres rétegében *(Becker és mtsai. 2007)*. Mennyisége szintén jelentős volt ugyanezen tó fénylimitált alsóbb rétegeiben, ahová a felszíni fénynek csak mintegy 0,2% ért már le *(Becker és mtsai. 2007)*. Pikocianobaktérium törzsekkel végzett fiziológiai vizsgálatok alapján, ugyancsak a 'B csoporthoz' köthető PE-pigment-dominanciával ren-

delkező izolátumok sokkal érzékenyebbnek mutatkoztak a fotoinhibícióra, mint az 'A' és 'I csoportokból' származó PC-gazdag törzsek *(Callieri és mtsai. 2005, Moser és mtsai. 2009)*. Az eredmények alapján tehát a 'B csoport' egy hidegebb időszakokhoz és gyengébb fényviszonyokhoz adaptálódott PE-pigment-dominanciával rendelkező csoportnak tűnik.

Szintén a hőmérséklettel függött össze a kolóniás pikocianobaktérium formák mennyisége is a vizsgált időszakban. Hasonló megfigyelésről számoltak be *Crosbie és mtsai. (2003c)*, akik a mikrokolóniákat legnagyobb arányban a szélcsendes és napsütéses időszakban figyelték meg a felszínhez közel az oligo-mezotróf Mond-tóban (Mondsee). Hipotézisük szerint a kolónia sejtjeit összefogó, a fotoszintézis során képződő kocsonyás anyag kikerülése a sejtekből megvédheti azokat a fotoszintézis fény szakaszában képződő redukálószerek (NADPH, *II/2. ábra*) gyors felhalmozódása következtében esetlegesen létrejövő fotokémiai sérüléstől. A Balaton 2003-2004. évi vizsgálata során *Mózes és mtsai. (2006)* ezzel szemben a kolóniás pikoalgák és a hozzáférhető nitrogénformák mennyisége között találtak negatív összefüggést, és a kocsonyaburok meglétét a hatékonyabb tápanyag-újrahasznosítással magyarázták. Láthatjuk tehát, hogy a kolóniák képződését számos környezeti tényező befolyásolhatja (részletesebben *ld. F4. Függelék*), sőt ezek jelentősége akár víztestenként vagy egy adott tó különböző vizsgálati időszakaiban is eltérő lehet.



V/14. ábra. Az egyes LH-PCR OTU-k viszonya a környezeti változókhoz a Balatonban 2006-ban kanonikus korreszpondencia analízis alapján

Rövidítések: PC-Pcy - PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok mennyisége, PE-Pcy - PE-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok mennyisége, kol-Pcy - kolóniás pikocianobaktériumok mennyisége, non-PPP-Cy - nagyobb méretű (nem pikofitoplankton) cianobaktériumok, ΣN - mért nitrogénformák (ammónium, nitrát, urea) összege

V/2. táblázat. A környezeti változók és LH-PCR OTU-k közötti szignifikáns korrelációk ($p<0,05$)
Jelmegyarázat: PC-Pcy - PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok mennyisége, PE-Pcy - PE-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok mennyisége, kol-Pcy - kolóniás pikocianobaktériumok mennyisége, non-PPP-Cy - nagyobb méretű (nem pikofitoplankton) cianobaktériumok, ΣN - mért nitrogénformák (ammónium, nitrát, urea) összege. A ±0,7-nél jelentősebb korrelációkat csillag jelzi.

paraméter	**korreláció**	**szignifikancia**
biológiai változók és fizikokémiai paraméterek		
PC-Pcy és urea-N	-0,564	0,023
PC-Pcy és ΣN	-0,581	0,018
PE-Pcy és urea-N	0,636	0,008
PE-Pcy és ΣN	0,651	0,006
*kol-Pcy és hőmérséklet	0,862	<0,001
biológiai változók és biológiai változók		
PE-Pcy és Chl *a*	-0,639	0,008
*PE-Pcy és PC-Pcy	-0,727	0,001
PE-Pcy és non-PPP-Cy	-0,658	0,006
*non-PPP-Cy és Chl *a*	0,968	<0,001
OTU-k és fizikokémiai paraméterek		
*OTU 2 és hőmérséklet	0,735	0,001
*OTU 3 és hőmérséklet	-0,702	0,002
*OTU 9 és NH_4^+-N	0,818	<0,001
OTU 9 és NO_3^--N	0,657	0,006
OTU 9 és ΣN	0,516	0,041
OTU-k és biológiai változók		
*OTU 2 és kol-Pcy	0,784	<0,001
OTU 3 és kol-Pcy	-0,604	0,013
OTU 6 és kol-Pcy	0,624	0,010
OTU 6 és ΣPcy	0,544	0,029
OTU 7 és kol-Pcy	-0,508	0,044
OTU 9 és PC-Pcy	-0,527	0,036
*OTU 10 és Chl *a*	0,947	<0,001
OTU 10 és PE-Pcy	-0,621	0,010
*OTU 10 és non-PPP-Cy	0,979	<0,001
*OTU 11 és Chl *a*	0,948	<0,001
OTU 11 és PE-Pcy	-0,552	0,027
*OTU 11 és non-PPP-Cy	0,946	<0,001
OTU 12 és non-PPP-Cy	0,591	0,016
OTU-k és OTU-k		
*OTU 2 és OTU 3	-0,816	<0.001
OTU 2 és OTU 6	0,533	0.033
OTU 2 és OTU 7	-0,546	0.029
OTU 2 és OTU 9	0,556	0.025
OTU 3 és OTU 6	-0,603	0.013
OTU 3 és OTU 7	0,555	0.026
*OTU 10 és OTU 11	0,900	<0.001
OTU 11 és OTU 12	0,538	0.032

Az OTU 9 relatív aránya pozitívan korrelált a mért nitrogénformák mennyiségével. Sajnos a bázissorrend elemzések alapján ennek a csoportnak a filogenetikai helyzete nem vált ismertté, mivel a vizsgált klónok mennyisége csupán a főbb cianobaktérium csoportok azonosítását tette

lehetővé. A nitrogénnek egyébként kitüntetett szerepe van a Balaton életében, a hozzáférhető nitrogénformák mennyisége[85] jelentősen meghatározza a planktonikus algaközösség összetételét. A nitrogén-fixáló cianobaktériumok *(Aphanizomenon flos-aquae, Cylindrospermopsis raciborskii stb.)* a nyári időszakban kiszorítják a többi algát *(Présing és mtsai. 2001)*, biomasszájuk mennyisége fordítottan arányos a pikofitoplankton mennyiségével *(Vörös és mtsai. 1991)*. A nitrogénformák koncentrációja befolyásolja a kolóniás pikocianobaktériumok mennyiségét is *(Mózes és mtsai. 2006)*; és mint az eredményeinkből kiderült, egyes pikocianobaktérium genotípusok relatív mennyiségére is kihatnak[86].

Az OTU 4 az 'A csoporthoz' köthető. Ez talán a kontinentális vizekben előforduló pikocianobaktériumok legváltozatosabb csoportja, nemcsak az IGS régió hossza tekintetében *(V/9. ábra)*. Az ide tartozó izolátumok és klónok nagyon különböző élőhelyekről és földrajzi területekről kerültek elő, sőt együtt fordulnak elő közöttük PE- és PC-pigment-dominanciával rendelkező törzsek is *(II/1. ábra)*. Ebből következőleg a csoport nagymértékű fiziológiai változatossággal is rendelkezhet.

Sajnos a többi OTU-hoz köthető filogenetikai csoportról részletesebb fiziológiai ismeretek nem állnak még jelenleg rendelkezésre.

Véleményünk szerint a pikocianobaktérium OTU-k (OTU 1 - OTU 9) és a mért biológiai változók közötti korrelációk nagy része az OTU-k és fizikokémiai változók, *ill.* a fizikokémiai és biológiai változók közötti korrelációk újbóli megjelenése (*pl.* az OTU 2/OTU 3 és kolóniás pikocianobaktériumok mennyisége közötti korreláció a két megnevezett OTU és a hőmérséklet, *ill.* a kolóniás formák és a hőmérséklet közötti korrelációknak köszönhető). Ezzel szemben a nem pikocianobaktérium OTU-k (OTU 10 - OTU 12) és biológiai változók közötti korrelációk annak az eredményei, hogy ezek a genotípusok a nagyobb méretű kékalgákhoz tartoznak, és így relatív mennyiségük nem meglepő módon összefügg ezen cianobaktériumok mikroszkópban megfigyelt sejtszámával vagy az általuk jelentősen meghatározott Chl *a* koncentrációjával.

Elképzelhető, hogy a planktonikus pikoalga közösség genetikai összetételében a mélység szerint is megfigyelhetőek változások, de a Balaton sekély mivolta miatt viszonylag jól felkeveredő víztestnek tekinthető. Mély tavaknál viszont egyértelmű vertikális különbségeket találtak a piko-

[85] a mért nitrogénformák preferenciája a fitoplankton növekedése szempontjából a Balatonban: ammónium > urea >> nitrát *(Présing és mtsai. 2001)*.

[86] bár szignifikáns negatív korrelációt nem találtunk a pikocianobaktérium OTU-k diverzitása és a morfológiai alapon meghatározott nagyobb cianobaktériumok diverzitása között, mégis elmondhatjuk, hogy Tihanynál több OTU és kevesebb nem *piko* méretű cianobaktérium faj volt jelen a vizsgált időszakban, míg Keszthelynél fordítva; ez annak az eredménye is lehet, hogy bizonyos pikocianobaktérium genotípusok növekedését elnyomják a nagyobb méretű kékalgák, *pl.* a nitrogén-fixáló cianobaktériumok

cianobaktérium filotípusok eloszlásában, az izraeli Genezáreti-tóban *(Junier és mtsai. 2007)* és patagóniai ultraoligotróf tavaknál *(Caravati és mtsai. 2010)*.

A környezeti változók tekintetében is csak egy szegmensét vizsgáltuk a lehetséges hatásoknak. Az egyedi pikoalga genotípusok arányát számos egyéb tényező befolyásolhatja. Meghatározó jelentőségű lehet többek között az egyéb tápanyagok (*pl.* foszfor, *Becker és mtsai. 2007*) koncentrációja. Bizonyos cianofágok törzspreferenciája is igazolást nyert édesvízi pikocianobaktériumok esetében *(Dillon és Parry 2008)*, ezért a virális kontroll is jelentős hatással bírhat az egyes genotípusok arányára *(Mühling és mtsai. 2005)*. Ezeken kívül azonban számos más abiotikus (*pl.* szél, üledék felkeveredése) és biotikus tényező (*pl.* predáció, fajok közötti interakciók)[87] befolyásolhatja a planktonikus pikoalga közösség genetikai összetételét. A fent említett hatások döntő mértékben meghatározzák a pikofitoplankton mennyiségi viszonyait és összetételét, a részletes belső dinamikára vonatkozó összefüggések feltárása azonban az elkövetkező évek kutatási feladata.

3. A kontinentális vizek planktonikus pikoalgáinak diverzitása és szezonális változásaik

A vizsgált vízterek összehasonlítása

Korábban számos tanulmány született a klasszikus pikofitoplankton vizsgálati módszerekkel (epifluoreszcens mikroszkópia, áramlási citometria) ezeknek az apró fotoszintetikus élőlényeknek a térbeli és időbeli eloszlását illetően édesvizekben és tengerekben egyaránt *(Weisse 1993, Callieri 2008)*. A molekuláris biológiai technikák bevezetése a limnológia és oceanográfia területére azonban nem eredményezte a vertikális, horizontális és szezonális mintázatok kutatásának folytatólagos fejlődését. Kezdetben ugyanis az izolált pikoalga törzsek vizsgálata hozott új, tudományformáló eredményeket *(pl. Huss és mtsai. 1999, Robertson és mtsai. 2001)*. A morfológiai egyöntetűség mögött rejlő nagyfokú genetikai diverzitás felfedezése mellett újabb meglepő adatokkal a korábban rendelkezésre álló tenyészetek valódi diverzitáshoz való hozzájárulásának csekély mivolta szolgált. Új izolálási technikák alkalmazásával *(pl. Crosbie és mtsai. 2003ab)* és mindeddig nem vizsgált élőhelyek bevonásával *(pl. Fuller és mtsai. 2003, Ivanikova és mtsai. 2007)*, valamint a vízminták teljes nukleinsav kivonásán alapuló vizsgálatokkal *(pl. Ivanikova és mtsai. 2007, Haverkamp és mtsai. 2007, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008)* bebizonyosodott, hogy a korábban megalkotott csoportok-

[87] *ld.* részletesebben *II.3. alfejezet*

hoz rendelt egyedi tulajdonságok zöme, a csoportok jelentős részének földrajzi elterjedéséhez hasonlóan, sokkal kiterjedtebb és csak az esetek kisebb részében jelölhető meg egyedi bélyegként.

Az egyes genotípusok/filotípusok térbeli eloszlásával kapcsolatosan lényegesen több adat látott napvilágot, mint ugyanezen kategóriák szezonális dinamikáját érintve. Elég, ha a *Prochlorococcus* ökotípusok mélység szerinti (HL és LL) vagy térbeli eloszlására (HLI és HLII), *ill.* a különböző tengeri *Synechococcus*ok térbeli előfordulására gondolunk *(pl. West és Scanlan 2001, Johnson és mtsai. 2006, Zwirglmaier és mtsai. 2008)*. Kontinentális vizekben *Becker és mtsai. (2002, 2004)* mutatták ki először, hogy jelentős belső dinamika van a klasszikus módszerekkel egyöntetűnek tűnő planktonikus pikoalga közösségen belül. Ők két genotípus mennyiségének időbeli változásait követték a pikocianobaktériumok össz-mennyiségéhez viszonyítva kvantitatív PCR segítségével a Bodeni-tó vizében. Később a szezonális változásokat illető kutatásaikat kiterjesztették élőbevonatokra is *(Becker és mtsai. 2004, Becker és mtsai. 2007)*. A kapott eredményeik összehasonlítását azonban nehezíti, hogy a riboszómális ITS-t vizsgálták és kevés édesvízi pikoalga ITS szekvencia található az adatbázisokban.

Casamayor és mtsai. (2002) egy PE- és egy PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktérium genotípus jelentőségének időbeli változását figyelte meg (februártól júniusig) a spanyolországi Vilar-tó aerob epilimnionjában. *Ivanikova és mtsai. (2007)* 16S rDNS alapú klónozást végeztek a Felső-tó pikoplanktonjával májusban és szeptemberben három mintavételi ponton. Mérsékelt különbségeket találtak az eltérő időpontokban vett minták összehasonlításával, hiszen két egyedi csoport dominált a klónjaik között. *Sánchez-Baracaldo és mtsai. (2008)* pedig négy különböző csoport-specifikus kvantitatív PCR-t (az 'A' és 'H csoportra', valamint két újonnan felfedezett csoportra tervezve) alkalmazott két angliai mesterséges tó pikocianobaktérium közösségének egy éves dinamikáját vizsgálva. Láthatjuk tehát, hogy meglehetősen kevés kutatás foglalkozott eddig a kontinentális vizeinkben előforduló pikocianobaktérium genotípusok időbeli változásaival (a pikoeukariótákéval pedig egy sem), és az alkalmazott módszerek különbözősége megnehezíti az összehasonlítást (és ez utóbbi alól az itt bemutatott LH-PCR alapú eredmények sem képeznek kivételt).

Nem feledve, hogy az alkalmazott módszerekben jelentős különbségek voltak és a vizsgált régiók sem minden esetben azonosak, összehasonlítjuk a mi eredményeinket egymással és más kontinentális vizek[88] vizsgálati eredményeivel az észlelt planktonikus pikoalga diverzitás tekintetében. Mivel eredményeink és a nemzetközi szakirodalomban található adatok is leginkább pikocianobaktériumokra vonatkozó információkat tartalmaznak, itt kizárólag erre a csoportra koncentrálunk *(V/3. táblázat)*.

[88] ide vesszük még a Balti-tengert is, ahol a tengeri és édesvízi pikocianobaktérium csoportok együttesen fordulnak elő

V/3. táblázat. A részletesen vizsgált kontinentális vizekből és a Balti-tengerből kimutatott pikocianobaktérium genotípusok összehasonlítása saját eredményeinkkel
Az egyes vizek vizsgálatánál alkalmazott genomi régiók jegyzékét ld. Felföldi és mtsai. 2009b.

	Európa							***egyéb***		
	szikesek, Kárpát-medence	***Fertő tó***	***Balaton***	***angliai tavak*** [h7]	***Bodeni-tó*** [h2, h3, h4]	***Mond-tó (Mond-see), Ausztria*** [h2]	***Balti-tenger*** [h6, h7, h8]	***Biwa-tó, Japán*** [h1, h2]	***egyéb japán tavak*** [h1]	***Felső-tó*** [h5]
A csoport *(Cyanobium gracile)*	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+
B csoport (szubalpin I)	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+
C csoport	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+
D csoport	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
E csoport	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+
H csoport	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+
I csoport	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
PD1 csoport	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
LB03 csoport	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
MH 305 csoport	-	-	+	-	-	+		+	-	+
szubalpin II	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
egyéb	≥ 9	≥ 2	≥ 4	2	1	1	3	1	0	≥ 9

Hivatkozások: h1 - *Roberstson és mtsai. 2001*, h2 - *Crosbie és mtsai. 2003a*, h3 - *Ernst és mtsai. 2003*, h4 - *Becker és mtsai. 2004*, h5 - *Ivanikova és mtsai. 2007*, h6 - *Haverkamp és mtsai. 2008*, h7 - *Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008*, h8 - *Haverkamp és mtsai. 2009*

A legtöbb pikocianobaktérium csoportot a Balatonból sikerült kimutatnunk, míg a legkevesebbet a Fertő tóból, ahonnan a legkevesebb vizsgálati mintánk is származott. A már korábban megalkotott csoportok közül legtöbbet szintén a Balatonban találtunk, míg a legtöbb eddig még nem definiált csoport a szikesekben fordult elő. Más vízterekkel összehasonlítva a Balaton az egyik legdiverzebb pikocianobaktérium közösséggel rendelkező tónak tűnhet. Ez azonban téves következtetés lenne, hiszen a Felső-tóhoz hasonlóan a Balaton vize is több módszerrel (törzsizolálás, klónozás), több régió alapján (16S rDNS, fikocianin operon) és több mintavételi időpontban vizsgált kontinentális víztér. Véleményünk szerint tehát az alacsonyabb diverzitásúnak tűnő élőhelyek esetében jelentős szerepe van az alulmintázottságnak is.

A korábbi kutatási eredmények *(Crosbie és mtsai. 2003a, Ivanikova és mtsai. 2007, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008, ill. az ezekben megadott hivatkozások)* és a nukleinsav adatbázisokban folyamatosan halmozódó információk alapján (GenBank, *Benson és mtsai. 2006*) elmondhatjuk, hogy az általunk kimutatott pikocianobaktérium csoportok nagy része meglehetősen eltérő élőhelyekről és földrajzi területekről származó klónokat és izolátumokat foglal magába *(V/2., V/5., V/7-9. ábra, V/3. táblázat)*. Az 'A csoport' például a lehető legszélesebb skálát vonultatja fel ilyen téren, kezdve az ultraoligotróf édesvizű Felső-tótól a turbid Fertő tavon keresztül a brakk- vagy

kimondottan sós vizű környezetekig (*pl.* Balti-tenger). A pikoplankton közösségek molekuláris biológiai azonosításának kezdetén viszont más csoportok (*pl.* a 'B' és 'C csoport') lényegesen korlátozottabb előfordulásáról adtak számot *(Robertson és mtsai. 2001, Ernst és mtsai. 2003)*[89], későbbi vizsgálatok azonban ezen csoportok szélesebb körű elterjedését bizonyították *(Crosbie és mtsai. 2003a, Ivanikova és mtsai. 2007, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008, Haverkamp és mtsai 2008, jelen dolgozat)*. Több tanulmány számolt be arról is, hogy egyes csoportok kizárólag bizonyos tavakban fordulnak elő [pl. az 'LS I' és 'LS II' a Felső-tóban *(Ivanikova és mtsai. 2007)* és két további csoport angliai tavakban *(Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008)*]. Egyedi filotípusokat mi is kimutattunk a kiskunsági szikesekből (Böddi- és Zab-szék, *V/2. ábra*), a Fertő tóból *(V/5. és V/7. ábra)* és a Balatonból *(V/8. és V/9. ábra)* egyaránt.

Az utóbbi évtizedben megfigyelhető trend alapján azonban arra következtethetünk, hogy az ilyen egyedi csoportok részben az alulmintázottság eredményei, és korábban nem vizsgált élőhelyek és időszakok bevonásával (*ill.* újabb primerek bevetésével) az egyedinek kikiáltott csoportok szélesebb körű elterjedtégét fogják kimutatni. Az új minták feldolgozása azonban újabb egyedi pikocianobaktériumok felbukkanását eredményezheti. Az eltérő környezetekből és egymástól távoli földrajzi területekről származó közeli rokon filotípusok és izolátumok viszont bizonyítják ezen pikoalga csoportok nagyfokú adaptációs képességét és sikerességét *(ld. még F7. Függelék)*. A sikerességükre remek példa az általunk vizsgált szikes tavak esete, ahol a környezeti paraméterek (hőmérséklet, turbiditás, szalinitás) gyors változásaival kell megküzdeniük a pikofitoplankton egyes tagjainak.

Miért ilyen diverzek a pikocianobaktériumok?

Az édesvizek és kontinentális vizek vizsgálati eredményeihez hasonlóan *(Crosbie és mtsai. 2003a, Ivanikova és mtsai. 2007, Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2008)* a Balatonban és a szikes tavakban észlelt pikocianobaktérium diverzitás is meghaladta a tengerek és óceánok esetében megfigyelteket. Ez a jelentős különbség magyarázható a földrajzi határok és a tengerekhez képest változatosabb élőhelyskála által indukált gyorsabb fajkeletkezési folyamatokkal, *ill.* az édesvízi pikocianobaktériumok hosszú evolúciós történetével *(Sánchez -Baracaldo és mtsai. 2008)*. Ez utóbbit támasztja alá egy, a lassan evolválódó gének filogenetikai elemzését és az alaktani bélyegeket együtt vizsgáló tanulmány *(Sánchez-Baracaldo és mtsai. 2005)*, amely a cianobaktériumok édesvízi/kontinentális eredetét valószínűsíti, az ősi leszármazási vonalakon jellemzően kis sejtmérettel és szabadon élő,

[89] emiatt történt *pl.* a 'B csoport' elnevezése *Ernst és mtsai (2003)* által 'szubalpin I csoportra'

planktonikus életmóddal, ami egy tipikus Synechococcus-típusú sejtet jelent. A tengerek és óceánok meghódítása, csakúgy, mint számos bélyeg megszerzése (komplex morfológia, termofília, mozgásképesség *stb.*) később történt, *ill.* alakult ki az egyes cianobaktérium leszármazási vonalakon belül.

A címben megfogalmazott kérdés azonban feltehető egy sokkal szélesebb összefüggésben is, mint ahogy az már korábban felmerült az egy adott víztérben található planktonikus élőlények megdöbbentően nagymértékű sokféleségével kapcsolatosan.

A *kompetitív kizárás elve* szerint k limitáló környezeti változó vagy forrás (*pl.* fény, tápanyagok) mellett maximum $n \leq k$ faj létezhet *(Hardin 1960)*. Az egyensúlyi állapot stabil fajösszetétele ugyanis úgy tevődik össze, hogy minden egyes forrás esetében a legerősebb kompetítor győz, és a többi nem marad fenn. Az elvet számos kompetíciós kísérlet is igazolta *(Huisman és Weissing 1999)*. Vízi ökoszisztémákban azonban meglehetősen kevés limitáló forrás mellett igen jelentős biodiverzitás figyelhető meg. Ezt a jól ismert jelenséget nevezik *plankton paradoxon*nak *(Hutchinson 1961)*.

Az elmélet és a természetes élőhelyek közösségeiben tapasztalt eltérések magyarázhatóak szelektív predációval, térbeli heterogenitással vagy az időjárási eseményeknek köszönhető időbeli variabilitással *(Scheffer és mtsai. 2003)*, azaz a növekedést/szaporodást limitáló tényezők fluktuációja ökofiziológiailag hasonló élőlények együttélését teszi lehetővé. Az említett külső tényezők mellett azonban belső okok is vezethetnek a vártnál nagyobb biodiverzitáshoz. Néhány limitáló forrás mellett is elképzelhető, hogy több faj ciklikusan helyettesíti egymást[90], és ha a fajabundancia oszcillációinak amplitúdója megfelelően kicsi, akkor akár azok a valós mintavételi adathalmaz zajának hátterében észrevétlenül megbújhatnak. Sőt, a limitáló források számának növekedésével ezek az egyedi abundancia ciklusok már nem szabályosan ismétlődnek, hanem rendszertelen fluktuációkként jelentkeznek ('kompetitív káosz') *(Huisman és Weissing 1999)*.

A források egyike a fény, ami a planktonikus pikoalgák esetében (mint azt az irodalmi áttekintés során kifejtettük) különös jelentőséggel bír. A fényspektrum felosztása a fitoplankton diverzitásának növekedésével járhat *(Stomp és mtsai. 2007b)*, lehetőséget biztosítva akár nagyon közeli rokonok együttélésének is *(Stomp és mtsai. 2004)*. Ez a niche differenciáció híven kifejeződik abban, hogy egy adott mintában PE- és PC-pigment-dominanciájú *Synechococcus*ok egyaránt előfordulnak *(Vörös és mtsai. 1998, Stomp és mtsai. 2007b)*. A klasszikus ökológiai megközelítés tekintetében pedig a niche differenciáció a versengést csökkentve elősegíti a különböző fajok

[90] három limitáló forrás és három faj esetén például, ha az *A* faj az *a* forrásért a legjobb kompetítor, de *b* forrás limitálja szaporodását, *B* faj *b* forrásért a legjobb kompetítor, de *c* forrás limitálja, míg *C* faj *c* forrásért legjobb kompetítor, de *a* forrás limitálja; egy negyedik, *D* faj pedig esetleg az előző három által keltett oszcilláció mellett képes növekedésre *stb.*

együttélését, jelen esetben pedig egy újabb megoldását adja a plankton paradoxonnak, és a többféle pikocianobaktérium genotípus előfordulásának egyazon mintában, így akár a Balaton tápanyag-limitált nyári időszakában is *(V/12. ábra)*.

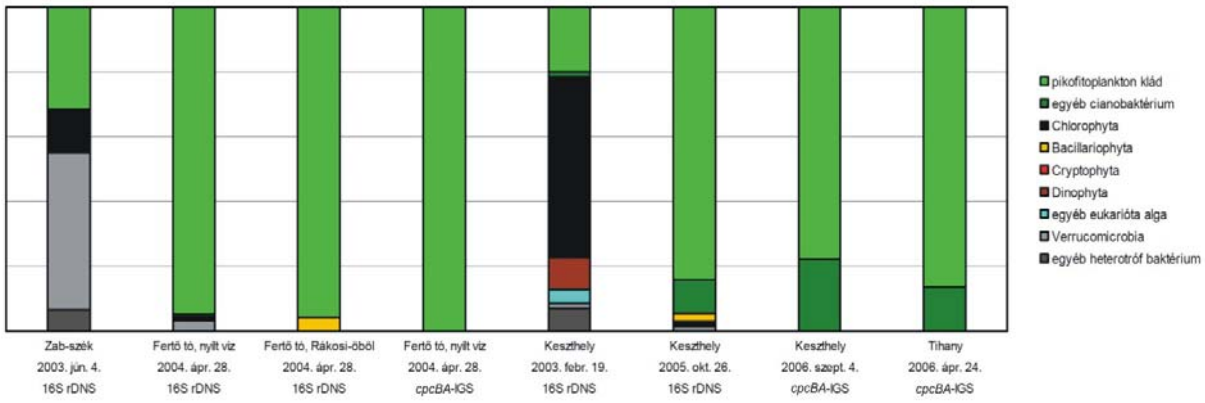
4. Az alkalmazott módszereink korlátai és hibái

A vizsgálat minden egyes lépése potenciálisan hibával terhelt lehet, kezdve a reprezentatív mintavételtől a DNS izolálás és a PCR szelektivitásán keresztül a kromatogramok leolvasásának hibájáig. Néhány konkrét esettel a vizsgálataink során mi is találkoztunk, ezért adatainkat ezen korlátok figyelembevételével elemeztük és értékeltük az előzőekben, utalva viszont ezekre a problémákra. A módszereinkkel kapcsolatos torzítások és hibák részletesebb ismertetését azonban itt, egy külön alfejezetben közöljük.

A PCR és a klónozás torzításai

Szinte valamennyi 16S rDNS alapú klónkönyvtárunknál előkerültek kisebb-nagyobb arányban heterotróf baktériumok klónjai az elemzések során *(V/15. ábra)*. Ezek főként a Verrucomicrobia törzshöz voltak kapcsolhatók, amelyekről ismeretes, hogy a szikes tavainkhoz hasonló eutróf és extrémnek tekinthető környeztek lakói *(Schlesner és mtsai. 2006)*, nem véletlen tehát, hogy éppen a szikes mintánál volt legnagyobb az arányuk. Az is ismeretes, hogy ez a baktériumcsoport a Sphingomonadaceae családdal (Proteobacteria) egyetemben (aminek tagjai szintén előfordultak a klónok között, *ld. V/1. táblázat*) édesvizekben a cianobakteriumokhoz asszociált baktérium közösség meghatározó képviselői *(Eiler és Bertilsson 2004)*. Bár a klónozáshoz és a DGGE-hez használt 16S rDNS primerek is az oxigéntermelő fototrófokra specifikusan kerültek megtervezésre *(Nübel és mtsai. 1997)*, hasonló aspecifikus amplifikációról más szerzők is beszámoltak *(Katano és mtsai. 2001, Ivanikova és mtsai. 2007)*. Mivel a két módszernél alkalmazott PCR egyedül a forward primerben különbözött, gyanítjuk, hogy a klónozáshoz használt CYA 106F primer kevésbé specifikus a pro- és eukarióta algákra, mint a DGGE-nél használt CYA 359F primer[91].

[91] ezt igazolta a riboszómális DNS-eket tartalmazó RDP (Ribosomal Database Project, *Cole és mtsai. 2003*) adatbázisban a Probe Match alkalmazással végzett gyors keresésünk is (a 2010. február 3-i adatbázis állapot alapján), amely szerint a CYA 106F primer tökéletes illeszkedés mellett a cianobaktériumok és eukarióta algák 25,3%-ának, az egyéb



V/15. ábra. A klónok megoszlása az egyes klónkönyvtárakban

A Fertő tavi klónkönyvtárak elemzésének eredményeit összehasonlítva egy érdekes jelenségre bukkantunk, ugyanis a 'B csoport'-hoz tartozó klónokkal kizárólag a 16S rDNS alapú vizsgálataink során találkozhattunk, a *cpcBA*-IGS klónkönyvtárból pedig teljesen hiányoztak, míg a 'C csoport' esetében épp a fordítottját tapasztaltuk *(V/6. ábra)*. Ennek elsődleges okaként korábban a két különböző régió amplifikálásához használt primerek eltérő specifitását *(Nübel és mtsai. 1997, Robertson és mtsai. 2001; IV/4. táblázat)* jelöltük meg. Bár elviekben mindkét primerpár alkalmas kellene legyen a cianobaktériumok pikofitoplankton kládjának valamennyi csoportjába tartozó szervezet[92] DNS-ének felszaporításához. Heterotróf baktérium közösségek esetében kimutatták, hogy az alkalmazott primerek eltérő specifitásából[93] adódó torzítások döntően befolyásolhatják azt, hogy a PCR milyen arányban „választ" az amplifikáció során a rendelkezésre álló DNS-ből, azaz mennyire fog tükröződni a közösség tagjainak valós (vagy legalábbis a DNS kivonását követően kapott) aránya a multitemplát PCR termék genotípusainak arányában; bizonyos csoportok aránya megnövekedhet eredeti arányukhoz képest, míg másoké csökken, szélsőséges esetben amplifikációjuk teljesen elmarad *(Sipos és mtsai. 2007)*.

A preferenciális amplifikáció tehát magyarázatául szolgálhat az észlelt különbségeknek, de az sem zárható ki, hogy a 'C csoport' tagjai jelen voltak a 16S rDNS klónok között, mint az egyik korábban még nem kimutatott csoport, mivel 'C csoporthoz' tartozó izolátumból származó 16S rDNS szekvencia nem található a nukleinsav adatbázisokban. Ennek oka kettős lehet: *(i)* az ilyen jellegű próbálkozások sikertelenséggel végződtek, *(ii)* nem történtek ilyen jellegű próbálkozások.

prokarióták 1,3%-ának, míg a Verrucomicrobia 0,3%-ának amplifikálására alkalmas (1 hibás illeszkedés mellett ezek az értékek a következők: 41,0%, 10,8% és 1,2%); a CYA 359F primer tökéletes illeszkedés mellett a cianobaktériumok és eukarióta algák 56,8%-ának, az egyéb prokarióták 0,4%-ának, míg a Verrucomicrobia <0,1%-ának amplifikálására alkalmas (1 hibás illeszkedés mellett ezek az értékek a következők: 65,7%, 5,1% és <0,1%)

[92] kivéve a *cpcBA*-IGS esetében a *Prochlorococcus*okat, hiszen azok nem rendelkeznek fikocianin operonnal

[93] amit nemcsak a primer nukleotidsorrendje, hanem egyéb paraméterek (*pl.* az alkalmazott annelációs hőmérséklet) is jelentősen meghatároz *(Sipos és mtsai. 2007)*

Sajnos e hiányosságot munkánk során mi sem tudtuk pótolni, hiszen egyik rendelkezésünkre álló pikocianobaktérium izolátum sem tartozott a 'C csoportba' *(V/9. ábra)*. A 'B' és 'C csoport' problematikájára egy harmadik magyarázat lehet a feldolgozott klónok eltérő száma *(V/6. ábra)*, elképzelhető ugyanis, hogy a 'B csoport' tagjai jelen voltak a *cpcBA*-IGS alapú klónkönyvtárban, a vizsgált klónok kis száma miatt azonban nem kerültek elő.

Sokadik lehetséges elméleti válasz az eltérésekre a preferenciális klónozás, vagyis a jelenség, amikor bizonyos klónok (bizonyos genotípusok) a PCR termékben tapasztalható arányuktól eltérő mértékben jelennek meg a klónkönyvtárban. A szelektivitás nemcsak az amplikonok hosszában megfigyelt eltérésesek miatt lehetséges, hanem befolyásoló tényezőként szerepel a PCR során használt primerek bázissorrendje, azaz, hogy a klónozó vektor milyen DNS végekkel találkozik *(Huber és mtsai. 2009, Palatinszky és mtsai. 2009)*. Igaz, e tekintetben egy mintán belül a mi esetünkben nem voltak jelentős különbségek, leszámítva a primerek néhány degenerált pozícióját *(IV/4. táblázat)*, ugyanis nem több különböző primerpár PCR termékének kompozit mintájával dolgoztunk.

Bár a molekuláris vizsgálatainkkal kapcsolatos problémákat és hibaforrásokat a Fertő tó klónkönyvtáraknál tapasztalt 'B-C problémán' keresztül mutattuk be, ugyanezeket a torzítási lehetőségeket (PCR specifitása, adatbázis hiányosságai, preferenciális klónozás) a többi mintánál és módszernél (szikes PCR-DGGE, balatoni minták klónozása és LH-PCR vizsgálata) sem szabad figyelmen kívül hagyni, jelentőségükről azonban csak egy, a jelen munkáéval hasonló nagyságrendű vizsgálatot követően tudnánk nyilatkozni.

A DGGE mintázata

A DGGE módszert elterjedten alkalmazzák tengeri és édesvízi planktonikus pikoalgák vizsgálatánál egyaránt, szezonális és térbeli változások követésére is, különféle génekre és régiókra tervezett specifikus PCR-ekkel *(pl. Díez és mtsai. 2001, Katano és mtsai. 2001, Casamayor és mtsai. 2002, Crosbie és mtsai. 2003b, Becker és mtsai. 2004)*. Hibák azonban ennél a módszernél is adódhatnak, mint ahogyan azt mi is tapasztaltuk a szikes tavi minták feldolgozása során.

Megfigyeltük ugyanis, hogy azonos nukleinsav szekvenciák többszörös sávokként jelenhetnek meg (ahogy a Fertő DGGE sávok esetében tapasztaltuk), *ill.* az azonos pozícióból visszanyert DNS darabok bázissorrendje teljesen különbözhet (mint *pl.* a 11-14 DGGE sávok esetében) *(V/1-3. ábra)*. Az előbbi problémát magyarázhatja a homo- és heteroduplex molekulák jelenléte *(Ferris és Ward 1997, Zwart és mtsai. 2005)*. A különböző DNS-ek együttvándorlását a gélben más

kutatók is tapasztalták *(Sekiguchi és mtsai. 2001)*, amit magyarázhat az említett DNS-konformáció variánsok jelenléte, de a kérdés vélhetőleg ennél lényegesen összetettebb, hiszen több tanulmány is született már, amely a DNS molekulák vándorlásával kapcsolatos hibákkal, *ill.* a DNS visszanyerésével kapcsolatos, és ezáltal az eredményeket is befolyásoló eltérésekkel foglalkozik *(pl. Kisand és Wikner 2003, Nikolausz és mtsai. 2005)*.

Az észlelt DGGE-vel kapcsolatos torzulások miatt mellőztük a mintáink mintázatának részletesebb, összehasonlító elemzését (*pl.* dendrogramok szerkesztése a mintázat alapján).

A hosszpolimorfizmus vizsgálatról

Általában az édesvízi pikocianobaktérium genotípusok szezonális változásaival foglalkozó tanulmányokban az egyes genotípusokra optimalizált csoport-specifikus kvantitatív PCR-ekkel *(Becker és mtsai. 2002, Becker és mtsai. 2004, Becker és mtsai. 2007, Sáchez-Baracaldo és mtsai. 2008)* vagy a teljes közösségben végbemenő változásokat megjelenítő DGGE technikával találkozhatunk *(Becker és mtsai. 2002, Casamayor és mtsai. 2002, Becker és mtsai. 2004)*. Jelen dolgozatban a tér- és időbeli eltéréseket a Balaton pikofitoplankton közösségében egy újonnan bevezetett módszerrel, a fikocianin operon nem kódoló régiójának (IGS) hossz-heterogenitásán alapuló LH-PCR technikával követtük nyomon. A kromatogramokon megjelenő, eltérő hosszúságú PCR termékek (OTU-k) azonosítását a balatoni klónok *in silico* meghatározott amplikon méretének ismerete, valamint a közösségi PCR termékek és az azonosított pikocianobaktérium törzsek párhuzamos elektroforézise segítette.

A bázissorrend elemzéssel kiegészített LH-PCR módszerrel a pikocianobaktérium közösség részletesebb belső struktúráját sikerült feltárnunk, mint azt a korábbi epifluoreszcens mikroszkópos vizsgálatok alapján megismerhettük. A *cpcBA*-IGS alapú LH-PCR azonban valószínűleg alulbecsüli a pikocianobaktériumok valódi genetikai diverzitását, hiszen két OTU is (OTU 2 és OTU 3) a velük megfeleltethető amplikon hossza alapján a filogenetikai fán több csoporthoz is hozzárendelhető volt *(V/9. ábra)*. Másrészről viszont a módszer viszonylag kevés lépest tartalmaz [*pl.* a nagyon hasonló bázissorrend elemzéssel kiegészített T-RFLP módszerével *(Székely és mtsai. 2009)* összehasonlítva nem tartalmazza az amplifikált genomi DNS restrikciós emésztését]. Mivel a molekuláris biológiai módszerek szinte minden fázisa magában hordozza a torzítások és hibák lehetőségét *(von Witzengerode és mtsai. 1997, Sipos és mtsai. 2007)*, ezért egy kevesebb lépést tartalmazó módszer jobban tükrözheti a közösség eredeti összetételét. Másik előnye lehet az LH-PCR-nek, hogy (hasonlóan a nagyobb felbontással rendelkező DGGE-hez és klónozáshoz) a

teljes közösségről ad képet, ellentétben a kvantitatív PCR-rel vagy a tengerek és óceánok pikofitoplanktonjának vizsgálatánál elterjedten alkalmazott 'dot blot' hibridizációval.

Mivel a fikocianin operon nincs jelen az édesvizekben élő eukarióta pikoalgák genomjában, ezért *cpcBA*-IGS alapú LH-PCR vizsgálattal sajnos csak a pikocianobaktérium közösség összetételének változásai követhetők.

Jó géneket választottunk?

Az észlelt mikrodiverzitás (csak néhány nukleotid pozícióban különböző klónok előfordulása) is többféle módon magyarázható, és szintén felveti a molekuláris biológiai módszerek hibáinak lehetőségét. Ez ugyanis különféle műtermékből (*Taq* polimeráz enzim téves nukleotid-beépítése, heteroduplex molekulák képződése *stb.*) is adódhat, de ugyanúgy származhat egy szervezeten belüli paralóg operonoktól vagy közeli rokon taxonok együttes előfordulásától az adott mintában *(Acinas és mtsai. 2004)*. Pikocianobaktériumoknál azonban a paralóg 16S rDNS gének előfordulása nem valószínű, hiszen ezeknél a szervezeteknél csak egy vagy két példány található ebből a génből, és ha kettő fordul is elő, bázissorrendjük teljesen megegyezik *(Ernst és mtsai. 2003, Wacklin 2006)*. Sajnos, a fikocianin operonnál nem ilyen egyértelmű a helyzet.

Six és mtsai. (2007) tizenegy tengeri *Synechococcus* törzs összehasonlító genomanalízise során megállapították, hogy a 16S rDNS alapon akár eltérő filogenetikai pozícióval rendelkező, de hasonló pigment típusú (PE, *ill.* PC) izolátumoknál a fikobiliszóma gének nagyon hasonló elrendeződést mutatnak. Megfigyelték továbbá, hogy a riboszómális géneken alapuló filogenetika jó egyezést mutatott a fikobiliszóma magját képező fehérjéket kódoló gének (allofikocianin gének) alapján szerkesztettel, ellentétben a fikobiliszóma pálcáit alkotó fehérjéket kódoló génekkel (fikoeritrin és fikocianin). Mindezek alapján arra következtettek, hogy a fikobiliszóma központjából a PS II felé történő fényenergia transzport egy evolúciósan ősi és konzervatív mechanizmus, míg a fikobiliszóma pálcáit alkotó PC és PE génduplikációnak, laterális géntranszfernek és/vagy génvesztésnek volt kitéve[94].

A kétféle régió (fikocianin operon és 16S rDNS) alapján történő párhuzamos vizsgálatok olykor ellentmondó eredményeket szültek. A Balti-tengerből végzett tenyésztéses *(Haverkamp és*

[94] az elmélet szerint egy ősi PC típus duplikációjának és divergenciájának köszönhetően alakult ki az első PE még a tengeri *Synechococcus/Prochlorococcus* ág cianobaktériumoktól történő elkülönülése előtt *(Apt és mtsai. 1995, Six és mtsai. 2007)*, majd ezt követte a tengeri *Synechococcus*okon belül szintén duplikáció és divergencia eredményeként a két PE típus (PE I és PE II; *ld. F1. Függelék*) kialakulása *(Everroad és Wood 2006, Six és mtsai. 2007)*; később a fikobiliszóma pálcáit kódoló génklaszterek természetes úton vagy vírusok által közvetített transzformáció révén átadódhattak az egyes leszármazási vonalak között

mtsai. 2009) és tenyésztéstől független *(Haverkamp és mtsai. 2008)* PCR alapú diverzitás-vizsgálat során a *cpcBA* és *cpeBA* gének alapján szerkesztett filogenetikai fa különbözött a 16S rDNS alapján készítettől. Néhány izolált törzsnél is megfigyelték, hogy a két régió alapján különböző csoportokba kerülnek *(Robertson és mtsai. 2001, Haverkamp és mtsai. 2009)*. A Balti-tenger (és hozzá hasonlóan a Balaton is), ahol a víz köztes zavarossága miatt PC- és PE-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok egyaránt előfordulnak, vélhetőleg a pigment-diverzifikáció 'forrópontjai', lehetőségét adva a horizontális géntranszfernek és a földrajzi endemizmusoknak egyaránt *(Haverkamp és mtsai. 2009)*.

Everroad és Wood (2006) pikocianobaktérium izolátumok 16S rDNS, *rpoC1*, *cpeA* és *cpeB* génjeinek elemzése alapján azonban úgy vélik, hogy a PE gének jelen voltak a *Prochlorococcus*oknál, a *Synechococcus*ok 5.1 és 5.2 csoportjánál, valamint a *Cyanobium*oknál is, és az egyes pikocianobaktérium törzsek inkább elveszthették a már meglévő PE génjeiket. A laterális géntranszfer szerepét tehát kevésbé tartják fontosnak. Valóban, mindeddig csak egyedi fotoszintetikus gének (igaz, akár fikobiliszóma gének is) előfordulásáról számoltak be cianofágokban *(Mann és mtsai. 2005, Clokie és Mann 2006)*. Mégis elképzelhető, hogy ritkábban, de nagyobb genomdarabok is átadódhattak pikocianobaktériumok között vírusok közvetítésével. A kérdés azonban nyitott és ha létezik/létezett ilyen átadódás, annak mértékének és jelentőségének felderítése az elkövetkező évek kutatási feladatai közé tartozik.

ÖSSZEFOGLALÁS

Hazai sekély tavaink pikofitoplanktonjának genetikai diverzitása mindezidáig teljesen ismeretlen volt előttünk. A kiskunsági szikesek, a Fertő és a Balaton fotoautotróf pikoplanktonjának molekuláris biológiai vizsgálata alapján eredményeinket az alábbi néhány pontban foglalhatjuk össze:

(i) a vizsgált tavakban a planktonikus pikoalgák diverzitása lényegesen nagyobb volt, mint azt a korábbi epifluoreszcens mikroszkópos vizsgálatok alapján sejteni lehetett;

(ii) ezekben a vízterekben az édes- és kontinentális vizekre jellemző pikoalga filotípusokat sikerült kimutatnunk; a pikocianobaktériumok a cianobaktériumok pikofitoplankton kládjának, az eukarióta pikoalgák pedig a Trebouxiophyceae család (Chlorophyta) képviselői közül kerültek ki;

(iii) a balatoni pikocianobaktériumok genetikai diverzitása összemérhető volt a nagyobb méretű cianobaktérium morfospeciesek diverzitásával;

(iv) nem találtunk szoros összefüggést a 'sós' pikocianobaktérium ökotípus és a filogenetikai helyzet között;

(v) a szikes tavakban a hőmérséklet, vezetőképesség és turbiditás évszakos változásait a pikofitoplankton közösség átrendeződése is tükrözte;

(vi) jelentős szezonális változást és térbeli heterogenitást tapasztaltunk a Balaton pikocianobaktérium közösségének genetikai összetételében is;

(vii) a Balatonban megtalálható néhány pikocianobaktérium genotípus relatív aránya és a környezeti változók (hőmérséklet, nitrogénformák koncentrációja) között egyértelmű összefüggéseket tártunk fel;

(viii) bevezettünk egy új, hosszpolimorfizmus alapú módszert a pikocianobaktériumok célzott kimutatására és a közösségek összetételében megfigyelhető változások követésére.

SUMMARY

The genetic diversity of picophytoplankton inhabiting Hungarian shallow lakes was previously unknown. Based on the molecular biological analysis of photoautotrophic picoplankton of the soda pans in the Kiskunság Region, of Lake Fertő (Neusiedlersee) and of Lake Balaton, the results of this study could be summarized as follows:

(i) diversity of planktonic picoalgae was significantly higher in the investigated lakes as it was previously known based on epifluorescence microscopic investigations;

(ii) in these water bodies, picoalgal phylotypes were retrieved that are characteristic in fresh- and continental waters; picocyanobacteria were affiliated to the picophytoplankton clade of Cyanobacteria, eukaryotic picoalgae were the members of the family Trebouxiophyceae (Chlorophyta);

(iii) the genetic diversity of Lake Balaton picocyanobacteria was comparable with the diversity of larger cyanobacterial morphospecies;

(iv) no strong relationship was found between the 'saline' picocyanobacterial ecotype and phylogenetic position;

(v) in the soda pans, seasonal changes of temperature, conductivity and turbidity were reflected by the changes in the picophytoplankton community structure;

(vi) significant seasonal changes and spatial heterogeneity were also observed in the genetic composition of Lake Balaton picocyanobacterial community;

(vii) unambiguous relationships were retrieved between the relative abundance of some picocyanobacterial genotypes and environmental parameters (temperature, concentration of nitrogen forms);

(viii) a novel, length polymorphism-based method was introduced for the specific detection of picocyanobacteria and to follow the changes in their community structure.

MELLÉKLETEK

M/1. táblázat. A cianobakteriumok klasszikus felosztása
(Castenholz és Waterbury 1989 alapján)

rend	***jellemző tulajdonságok***	***reprezentatív nemzetség***
Chroococcales	egysejtűek, kettéosztódás, bimbózás	*Microcystis, Synechococcus**
Pleurocapsales	egysejtűek, többfelé osztódás	*Pleurocapsa, Dermocapsa*
Oscillatoriales	fonalasak, nincs heterociszta, egy síkban osztódnak	*Oscillatoria, Spirulina*
Nostocales	fonalasak, van heterociszta, egy síkban osztódnak	*Anabaena, Nostoc*
Stigonematales	fonalasak, van heterociszta, több síkban osztódnak	*Fischerella, Stigonema*
Prochlorales	Chl *a* és *b*, hiányoznak a fikobiliproteinek	*Prochloron, Prochlorococcus**

* pikocianobaktérium nemzetség

M/2. táblázat. Édesvízi pikoalgák pigmentösszetétele a Chl *a* %-ában
(Fietz és mtsai. 2005 alapján)

pigment	***Cyanobacteria***	***Chlorophyceae***	***Eustigmatophyceae***
Chl *b*	-	23-39	-
β-karotin	7-9	2-5	2-3
lutein	-	17-51	-
zeaxantin	27-87	1-6	-
violaxantin	-	3-14	15-17
neoxantin	-	4-8	-
vaucheriaxantin	-	-	5
caloxantin	0-16	-	-

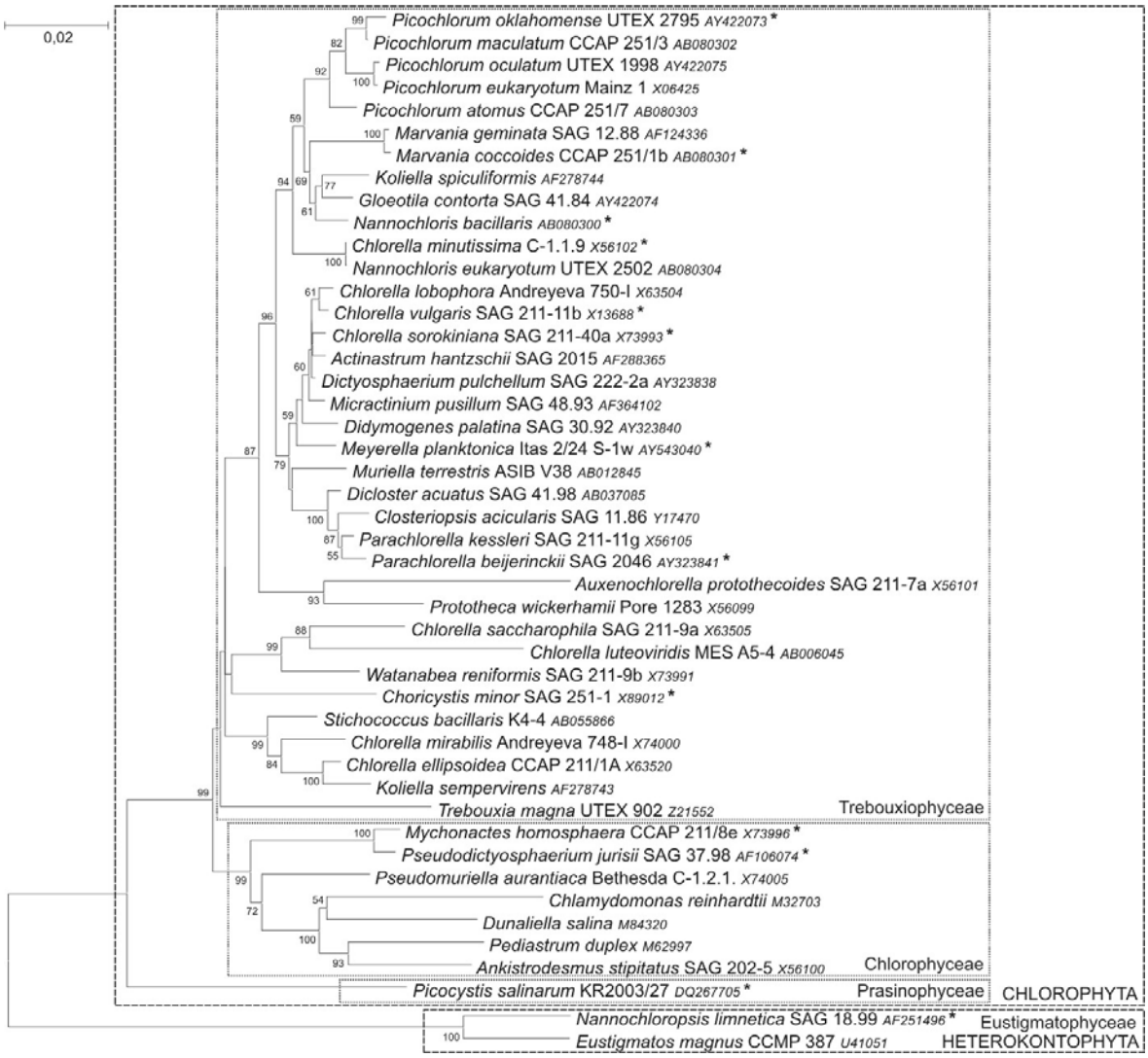
M/3. táblázat. A klasszikusan *Chlorella* és *Nannochloris* nemzetségekbe tartozó fajok taxonómiai revíziója

régi név	***új név***	***revízió***	***előfordulás***
'Chlorella ellipsoidea'	[besorolásra vár]	-	édesvíz
Chlorella fusca var. fusca	*Scenedesmus abundans*	*Kessler és mtsai. 1997*	édesvíz
Chlorella fusca var. rubescens	*Scenedesmus rubescens*	*Kessler és mtsai. 1997*	édesvíz
Chlorella fusca var. vacuolata	*Scenedesmus vacuolatus*	*Kessler és mtsai. 1997*	édesvíz
Chlorella homosphaera	*Mychonastes homosphaera*	*Kalina és Punčochářová 1987*	édesvíz
Chlorella kessleri	*Parachlorella kessleri*	*Krienitz és mtsai. 2004*	édesvíz
'Chlorella luteoviridis'	[besorolásra vár]	-	édesvíz
Chlorella minutissima	*Mychonastes homosphaera*	*Kalina és Punčochářová 1987*	édesvíz
'Chlorella mirabilis'	[besorolásra vár]	-	édesvíz
Chlorella protothecoides	*Auxenochlorella protothecoides*	*Kalina és Punčochářová 1987*	édesvíz
Chlorella reniformis	*Watanabea reniformis*	*Hanagata és mtsai. 1998*	édesvíz

M/3. táblázat *(folytatás)*

régi név	*új név*	*revízió*	*előfordulás*
'Chlorella saccharophila'	[besorolásra vár]	-	édesvíz
Chlorella saccharophila SAG 211.9b*	*Watanabea reniformis*	*Hanagata és mtsai. 1998*	édesvíz
Chlorella zofingiensis	*Mychonastes homosphaera*	*Kalina és Punčochářová 1987*	édesvíz
Chlorella zofingiensis C-1.2.1 (SAG 4.80)*	*Pseudomuriella aurantiaca*	*Hindák 1982*	édesvíz
Nannochloris atomus	*Picochlorum atomus*	*Henley és mtsai. 2004*	tengeri
Nannochloris coccoides	*Marvania coccoides*	*Henley és mtsai. 2004*	édesvíz
Nannochloris maculatus	*Picochlorum maculatum*	*Henley és mtsai. 2004*	tengeri
Nannochloris oculata	*Pichchlorum oculatum*	*Henley és mtsai. 2004*	brakkvíz
Nannochlorum eukaryotum	*Picochlorum eukaryotum*	*Henley és mtsai. 2004*	tengeri

* az adott faj többi képviselőjétől eltérő filogenetikai pozícióval rendelkező törzs *(Hanagata és mtsai. 1999, Henley és mtsai. 2004)*

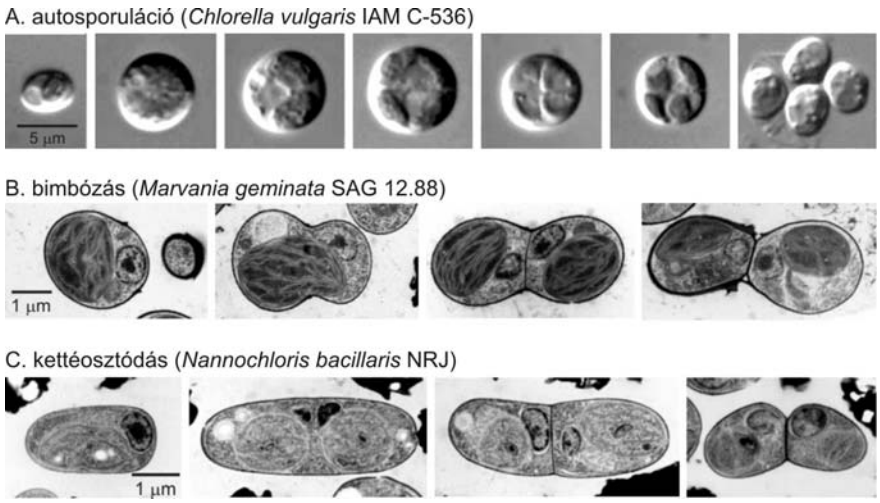


M/1. ábra. A kontinentális vizekben előforduló planktonikus pikoeukarióta algák és Chlorella-típusú zöldalgák leszármazási kapcsolatai a 18S rDNS alapján

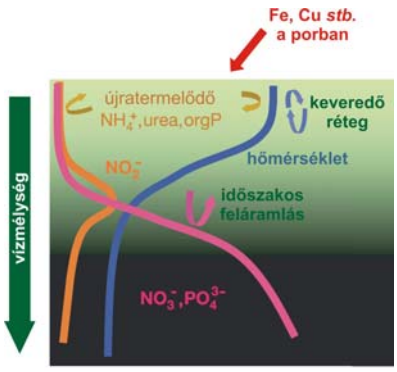
A 18S rDNS 1808 nukleotid pozíciója alapján (neighbor-joining módszerrel szerkeszve, Kimura 2-paraméteres nukleotid szubsztitúciós modelljét alkalmazva, az 50% feletti bootstrap értékeket feltüntetve).
A kontinentális vizekben előforduló pikoalgákat (< 3 µm) csillaggal jelöltük.

M/4. táblázat. Tengeri pikoeukarióta alganemzetségek és taxonómiai besorolásuk
(Vaulot és mtsai. 2008 alapján)
A nemzetségeknél, ahol egynél több piko méretű faj található, ezen fajok száma zárójelben van feltüntetve (a Chlorella nemzetség különösen vitatott helyzete miatt a fajok számát ebben az esetben nem tüntettük fel).

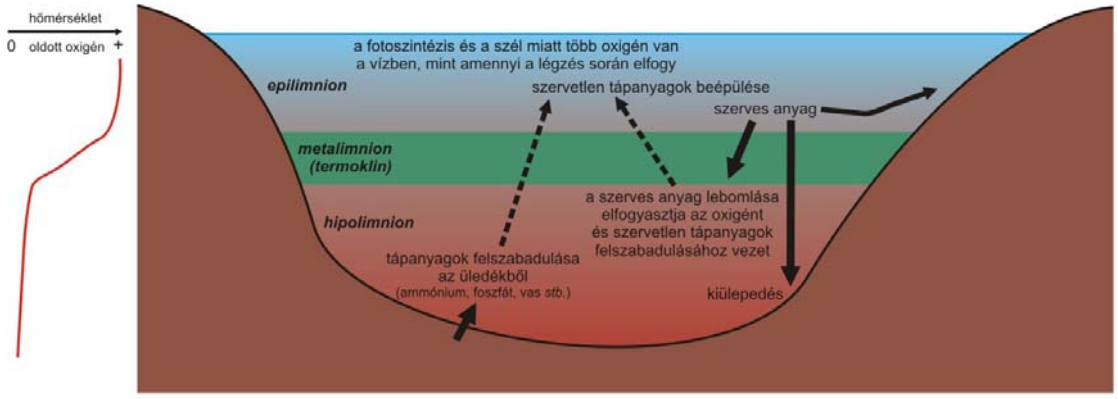
magasabb rendszertani egység	***nemzetség***	
	≤ 2 µm	***2 ≤ 3 µm***
Chlorophyta (összesen 22 faj)		
Pedinophyceae	*Resultor*	*Marsupiomonas*
Prasinophyceae	*Bathycoccus, Micromonas, Ostreococcus, Pycnococcus*	*Crustomastix, Dolichomastix* (3), *Mantionella, Prasinococcus, Prasinoderma, Pseudoscourfieldia, Pyraminomonas*
Trebouxiophyceae	*'Chlorella', Picochlorum* (2)	*'Chlorella', Picochlorum* (2), *Stichococcus*
Cryptophyta (összesen 1 faj)		
Cryptophyceae	*Hillea*	-
Haptophyta (összesen 10 faj)		
Prymnesiophyceae	*Chrysochromulina, Imantonia, Trigonaspis*	*Chrysochromulina* (3), *Dicrateria, Ericiolus, Phaeocystis* (2)
Heterokontophyta (összesen 37 faj)		
Bacillariophyceae	*Arcocellulus, Chaetoceros* (2), *Minidiscus, Minutocellus, Skeletonema* (5), *Thalassiosira* (3)	*Minidiscus* (3), *Minutocellus, Thalassiosira* (2)
Bolidophyceae	*Bolidomonas* (2)	-
Chrysophyceae	-	*Ollicola, Tetraparma* (2), *Triparma* (3)
Dictyochophyceae	-	*Florenciella*
Eustigmatophyceae	*Nannochloropsis*	*Nannochloropsis* (2)
Pelagophyceae	*Aureococcus, Pelagomonas*	*Aureoumbra, Pelagococcus*
Pinguiophyceae	*Pinguiochrysis*	*Pinguiococcus*



M/2. ábra. Pikoeukarióta algák osztódási típusai
(Yamamoto és mtsai. 2004, Yamamoto és mtsai. 2007 alapján)



M/3. ábra. Vertikális gradiensek az óceánok nyílt, rétegzett régióiban
(Rocap és mtsai. 2003 alapján)
A hőmérséklet és sókoncentráció gradiensek keveredési akadályt biztosítanak, elválasztva a felszíni, kevés tápanyaggal rendelkező, erős megvilágítottságú réteget a tápanyagban gazdag, fényszegény alsó zónától; a felső rétegben zajló fotoszintézist a gyorsan megújuló tápanyagok és az időszakos feláramlás táplálja; az árnyékolás a lejutó fény mennyiségét érzékelteti.



M/4. ábra. Mély, rétegzett tó zónái és biogeokémiai folyamatai (nyári állapot)
Szaggatott vonallal az időszakos felkeveredés eseményei jelölve.

M/5. táblázat. A hazai pikoalga kutatásokkal kapcsolatos tudományos közlemények és eredmények

publikáció	***közölt tudományos eredmények***
Vörös 1987-88	az első hazai vizsgálat felhívta a figyelmet, hogy a pikoalgák a hazai állóvizekben is jelentős számban fordulnak elő (a kolóniás formák is); a hőmérséklet valószínűleg meghatározza a pikoalgák abundanciáját
Vörös 1989	a pikoplankton egyedszáma nagyságrendekkel meghaladja a nagyobb algák egyedszámát a Balaton-ban; elsődleges termelésből való részesedésük több, mint 50% is lehet; a kékalga vízvirágzás ideje alatt a pikoplankton mennyisége és szerepe elhanyagolhatóvá válik; jelentőségük a trofitás növeke-désével csökken; részesedésük az össz-fotoszintézisből arányos a fotoszintetizáló felületből való részesedésükkel
Vörös 1991	a pikoalgák produkciós maximuma a Balaton Keszthelyi-medencéjében 15-30 cm között, míg a Siófoki-medencében 50-100 cm között figyelhető meg; produkció-biológiai szempontból a fitoplankton legmegfelelőbb jellemzője a sejtfelszín; a Marcali-víztározóban a fehér busa miatt a 10 µm-nél kisebb algák szelektív előnyhöz jutnak
Vörös és mtsai. 1991	a fototróf pikoplankton mennyiségi viszonyait leginkább a hőmérséklet, a hozzáférhető nitrogén mennyisége és a zooplankton predációja (Cladocera) határozza meg, kékalga vízvirágzás (nitrogén limitáció) idején a pikoplankton mennyisége és szerepe elhanyagolhatóvá válik; a különböző fito-plankton méretkategóriák jelentőségét a sejtek teljes felületével közelíthetjük legjobban; a hipertróf Keszthelyi-medencére a PC-, a mezotróf Siófoki-medencére a PE-pigment-dominanciájú sejtek jellemzőek

M/5. táblázat *(folytatás)*

publikáció	*közölt tudományos eredmények*
Padisák és Dokulil 1994	a Fertő tóban jelentős pikoalga biomassza található, részesedése a fitoplankton biomasszájából (különösen tavasszal) elérheti a 75%-ot is
Callieri és mtsai. 1996	a balatoni PC-pigment-dominanciájú törzs (BGS171) zöld, míg a Maggiore-tóból (Olaszország) izolált PE- pigment-dominanciájú törzs vörös fényben szaporodik gyorsabban, ami az izolálási helyük vízalatti fényklímájával hozható összefüggésbe
Padisák és mtsai. 1997	az adott tó hidrológiai viszonyai (*pl.* rétegzettség) döntően meghatározzák a planktonikus pikoalgák vertikális eloszlását; intenzív pikofitoplankton jelenlét mély vízrétegekben; *Choricytis*, *Neocystis* és *Pseudodictyosphaerium* az eukarióta pikoplankton fő összetevői a Stechlin-tóban (Németország)
Vörös 1997	a BGS171-es pikocianobaktérium törzs alacsony fényigényű, pH optimuma (8,5) egyezik a Balaton jellemző pH értékével, nitrogénigénye viszonylag magas (N:P 30), nitrát jelenlétében kétszer olyan gyorsan szaporodik, mint ammónia jelenlétében, a sejtek jelentős mennyiségű oldott, nemreaktív foszfort adnak le
Koncz és Vörös 1998	morfológiai sajátságok és pigmentösszetétel alapján a Balaton diverz pikoalga közösséggel jellemezhető; télen és kora tavasszal alacsony számban fordulnak elő; a trofitási viszonyok és a vízalatti fényklíma tükrében a Siófoki-medencében PE-, míg Keszthelynél PC-pigment-dominancia figyelhető meg; a kékalgák elszaporodásával párhuzamosan nemcsak a pikoalgák számbeli, hanem morfológiai diverzitásának csökkenése is jelentkezik
Vörös és mtsai. 1998	a PE-pigment-dominanciájú sejtek az oligotróf, míg a PC-ben gazdag sejtek az eutróf vizekre jellemzők, a két típus arányát döntően a vízalatti fényklíma határozza meg
Vörös és mtsai. 2000	a pikofitoplankton hozzájárulása az elsődleges termeléshez a Duna magyarországi szakaszán nem jelentős; a fikoeritrines pikocianobaktériumok hiányoznak a Dunából
Schmidt és Fehér 2001	először hívják fel a figyelmet, hogy a nagy sókoncentrációjú kiskunsági szikesek (Fehér- és Böddi-szék) rendkívüli mennyiségű pikoplanktonnal rendelkeznek
Vörös és V.-Balogh 2003	az általános trendtől eltérően az eutróf Duna-Tisza közi szikes tavakban a pikocianobaktériumokon kívül más algafajok nem fordultak elő a vizsgált őszi mintákban, ami vélhetőleg ezen vízterek szűkös fényviszonyaival áll kapcsolatban (a fénykioltás ebben az esetben egybeesik a vezető-képesség növekedésével is)
Mózes és Vörös 2004	a téli Balaton fényszegény és 0,5-1 ^{o}C-os vizében a planktonikus pikoalgák mennyisége elérheti a nyáron megfigyelhető értéket, ekkor azonban a fikobiliszómákkal nem rendelkező, vélhetőleg piko-eukarióta algák a domináns közösségalkotók
Mózes és mtsai. 2005	a Balatonban az alacsony hőmérséklet inkább a pikoeukarióta algáknak, míg a magasabb hőmérséklet a pikocianobaktériumok szaporodásának kedvez; a fikoeritrines sejtek részaránya a trofitás növekedésével csökken; a kolóniás formák a pikocianobaktériumokra jellemzőek; a nyári nitrogén-limitáció elősegíti a kolóniás formák kialakulását
Vörös és mtsai. 2005	a valaha mért legnagyobb pikocianobaktérium sejtszám ($1{,}03 \times 10^8$ sejt/mL) a kiskunsági Zab-székben; a szikesekben a fajlagos fényabszorpció nagyobb, ezért kompetitív előnnyel rendelkeznek a pikoalgák a nagyobb algákkal szemben
Mózes és mtsai. 2006	nyáron a Balaton mezotróf régiójában (Siófoki-medence) a PE-, míg a nyugatiban (Keszthelyi-me-dence) a PC-pigment-dominanciájú sejtek a jelentősebbek; télen a pikoeukarióta algák jellemzőek az egész tóban; a kolóniás formák a nyári tápanyagszegény időszakra jellemzőek
Somogyi és Vörös 2006	a szikes tavak és a Balaton fitoplanktonjának fotoszintézisét vizsgálva megállapítható, hogy a pikoalgák jobb fényhasznosítással rendelkeznek, mint a nagyobb méretű algák, ami bizonyos környezeti feltételek mellett kompetitív előnyt jelenthet sekély tavakban
Vörös és mtsai. 2006a	a Balaton hossztengelyében a trofitás csökkenésével (a Keszthelyitől a Siófoki-medencéig) a pikofitoplankton részesedése az össz-produkcióból növekszik
Mózes és mtsai. 2007	a pikofitoplankton mennyisége folyó vizekben 1-2 nagyságrenddel kisebb, mint az azonos trofitású állóvizekben, az eukarióták részesedése a pikoplankton biomasszájából viszont jelentősebb; folyó vizekben hiányoznak a PE-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok és a kolóniás formák aránya is csekélyebb
Somogyi és mtsai. 2007	a Duna-Tisza közi szikes tóból izolált eukarióta pikoalga törzs maximális elsődleges termelése alacsony fényintenzitáson és hőmérsékleten, míg a prokariótáé magasabb hőmérsékleten és széles fényintenzitási tartományban van, ami magyarázza a nyári pikocianobaktérium és téli pikoeukarióta dominanciát ezekben a vízterekben

M/5. táblázat *(folytatás)*

publikáció	***közölt tudományos eredmények***
Stomp és mtsai. 2007b	a fényspektrum mentén történő niche differenciáció a PE- és PC-pigment-dominanciájú pikociano-baktériumok együttes előfordulásának példáján magyarországi tavak bevonásával
Duleba és mtsai. 2008	a balatoni pikoalgák diverzitása nagyobb, mint azt korábban a mikroszkópos és tenyésztéses vizsgálatok alapján gondolták; a pikocianobaktérium közösség genetikai összetétele térbeli és szezonális változást mutat; egyes *Synechococcus* genotípusok közösségen belüli aránya jól korrelál a hőmérséklettel, *ill.* a Chl *a* koncentrációval
Felföldi és mtsai. 2008	a Duna-Tisza közi szikes tavak planktonikus pikoalga közössége jelentős genetikai változatossággal rendelkezik korábban még nem azonosított pikocianobaktérium és pikoeukarióta alga csoportokkal
Vanyovszki és mtsai. 2008	a szikes tavi pikoeukarióta izolátum csak az őszi-tavaszi időszakra jellemző alacsonyabb szalinitás értéket, míg a pikocianobaktérium törzs a nyárra jellemző magasabb szalinitás értéket is tolerálja, összhangban a természetben megfigyelt előfordulásukkal
Vörös és mtsai. 2008	a kiskunsági szikes tavakban a baktériumszámot és a respiráció mértékét sokkal inkább a vízi és vándorló madarak által okozott szervesanyag-terhelés határozza meg, mint a zömében pikoalgák által végzett planktonikus elsődleges termelés
Felföldi 2009	összefoglalás a hazai szikes tavak pikoalgáinak molekuláris biológiai módszerekkel történő azonosításának és diverzitás-vizsgálatának addigi eredményeiről
Felföldi és mtsai. 2009a	a Kárpát-medence szikeseinek pikofitoplankton közössége jelentős diverzitással rendelkezik az extrém környezeti viszonyok (turbiditás, szalinitás) ellenére; nincs korreláció a sókedvelő pikoalga ökotípus és a filogenetikai helyzet között
Felföldi és mtsai. 2009b	fotoszintetikus gének alkalmazásának előnyei és hátrányai az rRNS operonnal szemben; a hazai pikoalgák fotoszintetikus génekkel (*cpcBA*-IGS, *psbA*, *rbcL*) végzett vizsgálatainak ismertetése
Mózes és mtsai. 2009	a Duna gödi szakaszán a pikoplankton domináns komponensei a PC-pigment-dominanciájú kokkoid pikocianobaktériumok; gyakoriak a 4-8 sejtes laza szerkezetű kolóniák; a pikofitoplankton részesedése a fitoplankton biomasszájából nem érte el az 5%-ot; a pikoalgák évszakos dinamikáját alapvetően a vízhőmérséklet és vízhozam határozza meg; a pikofitoplankton mennyisége a mellék-ágban jelentősebb, mint a főágban
Somogyi és mtsai. 2009a	a szikes tavi pikoeukarióta izolátumok egy része a *Pseudodictyosphaerium/Mychonastes* csoporthoz, *ill.* a *Choricystis* genuszhoz tartozik, míg mások egy új zöldalga nemzetséget képviselnek
Somogyi és mtsai. 2009b	a pikoeukarióta algák eddig valaha észlelt legnagyobb sejtszáma a Büdös-székben ($1{,}08 \times 10^8$ sejt/mL), az izolált pikoeukarióta algatörzs alacsony, míg a pikocianobaktérium törzs magasabb hőmérsékleten hatékonyabb az alacsony intenzitású fény hasznosításában; szikesekben a fény és hőmérséklet együttesen határozza meg a PPP szezonális dinamikáját
Somogyi és mtsai. 2009c	a kizárólag magányos pikoeukarióta algasejteket és PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumokat tartalmazó fitoplankton tömegprodukciójának jellemzése mennyiségi viszonyok és izolált törzsek vizsgálatán keresztül szikesekben
Vörös és mtsai. 2009a	a Balaton pikoplanktonjának öt évet átölelő vizsgálatsorozata a következő általános tendenciákat állapította meg: a PE-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok a mezotróf tóterületekre, míg a PC-pigment-dominanciájúak az eutróf részek nyári pikoplanktonjára jellemzőek, a pikoeukarióták télen az egész tóra jellemzőek és akár 1-2 °C-os hőmérséklet esetén is képesek szaporodni
Vörös és mtsai. 2009b	összegző munka a kiskunsági szikesek ökológiai folyamatairól és szerepéről, amelyben fontos szerepet játszanak a piko méretű planktonikus algák
Felföldi és mtsai. 2010	a molekuláris biológiai módszerek alkalmazási lehetőségeinek bemutatása sekély tavaink mikroszko-pikus méretű eukariótáinak azonosításában; *Nannochloris bacillaris* pikoeukarióta alga a Balatonban
Somogyi és mtsai. 2010a	a planktonikus pikoalgák akár az elsődleges termelés 80%-át is adhatják a Fertő tóban; a nyílt víz pikocianobaktérium közösségének jellemzése a 16S rDNS és a fikocianin operon vizsgálata alapján
Somogyi és mtsai. 2010b	pikoeukarióta algák a Keszthelyi-medencében az elsődleges termelés 37-70%, a Siófoki-medencében pedig 19-45%-át adták 2009 februárjában, a részesedésük alacsonyabb fényintenzitáson magasabb volt, igazolva a pikoplankton frakció jobb fényhasznosítását, valamint azt, hogy a téli időszakra jellemző pikoeukarióta algák jelentős szerepet töltenek be a Balatonban

M/6. táblázat. A mintavételi helyek koordinátái
(Vörös Lajos és Somogyi Boglárka adatai)

mintavételi hely	***szélesség***	***hosszúság***
szikes tavak, Vajdaság (Szerbia)		
Sóskopó	45°37'45,9"É	20°12'19,1"K
Ruszanda	45°31'33,9"É	20°17'52,7"K
szikes tavak, Kiskunság		
Kis-Sós-tó	46°44'20,6"É	19°59'40,9"K
Kastély-tó	46°46'55,3"É	19°08'13,2"K
Kelemen-szék	46°47'32,5"É	19°10'38,8"K
Böddi-szék	46°46'03,3"É	19°08'46,9"K
Büdös-szék, Pusztaszer	46°32'45,5"É	20°02'02,4"K
Fehér-tó, Kardoskút	46°28'18,4"É	20°37'30,2"K
Zab-szék	46°50'11,4"É	19°10'17,0"K
Fertő tó		
nyílt víz	47°41'36,0"É	16°43'50,0"K
Rákosi-öböl	47°43'04,7"É	16°42'06,0"K
Balaton		
Keszthely (Keszthelyi-medence)	46°44'05,8"É	17°16'32,0"K
Szigliget (Szigligeti-medence)	46°44'33,1"É	17°26'18,5"K
Zánka (Szemesi-medence)	46°50'40,3"É	17°44'28,8"K
Tihany (Siófoki-medence)	46°55'19,0"É	17°55'53,6"K

M/7. táblázat. A mintavételi időpontok és az egyes mintákkal elvégzett vizsgálatok

mintavétel		***vizsgálati módszer***			***vizsgált gén/régió***	
helye	***időpontja***	***DGGE***	***klónozás***	***LH-PCR***	***16S rDNS***	***cpcBA-IGS***
szikes tavak, Vajdaság (2 minta)						
Sóskopó	2005. ápr. 23.	+	-	-	+	-
Ruszanda	2005. ápr. 23.	+	-	-	+	-
szikes tavak, Kiskunság (22 minta)						
Kis-Sós-tó	2005. ápr. 23.	+	-	-	+	-
Kastély-tó	2004. márc. 16.	+	-	-	+	-
	2004. júl. 4.	+	-	-	+	-
	2004. okt. 17.	+	-	-	+	-
Kelemen-szék	2003. máj. 1.	+	-	-	+	-
	2004. okt. 17.	+	-	-	+	-
	2005. júl. 7.	+	-	-	+	-
Böddi-szék	2004. ápr. 26.	+	-	-	+	-
	2004. júl. 4.	+	-	-	+	-
	2004. szept. 3.	+	-	-	+	-
	2004. okt. 17.	+	-	-	+	-
	2005. ápr. 23.	+	-	-	+	-
	2005. júl. 7.	+	-	-	+	-
Büdös-szék	2004. szept. 3.	+	-	-	+	-
	2004. okt. 17.	+	-	-	+	-
	2005. júl. 7.	+	-	-	+	-
Fehér-tó	2004. máj. 27.	+	-	-	+	-
Zab-szék	2003. máj. 1	+	-	-	+	-
	2003. jún. 4.	+	+	-	+	-
	2004. szept. 15.	+	-	-	+	-
	2004. okt. 17.	+	-	-	+	-
	2005. júl. 7.	+	-	-	+	-

M/7. táblázat *(folytatás)*

mintavétel		***vizsgálati módszer***			***vizsgált gén/régió***	
helye	***időpontja***	***DGGE***	***klónozás***	***LH-PCR***	***16S rDNS***	***cpcBA-IGS***
Fertő tó (2 minta)						
nyílt víz	2004. ápr. 28.	+	+	-	+	+
Rákosi-öböl	2004. ápr. 28.	-	+	-	+	-
Balaton (21 minta)						
Keszthely	2003. febr. 19.	-	+	-	+	-
	2005. okt. 26.	-	+	+	+	+
	2006. ápr. 24.	-	-	+	-	+
	2006. máj. 8.	-	-	+	-	+
	2006. máj. 22.	-	-	+	-	+
	2006. jún. 12.	-	-	+	-	+
	2006. jún. 26.	-	-	+	-	+
	2006. aug. 7.	-	-	+	-	+
	2006. aug. 21.	-	-	+	-	+
	2006. szept. 4.	-	+	+	-	+
Szigliget	2005. okt. 26.	-	-	+	-	+
Zánka	2005. okt. 26.	-	-	+	-	+
Tihany	2005. okt. 26.	-	-	+	-	+
	2006. ápr. 24.	-	+	+	-	+
	2006. máj. 8.	-	-	+	-	+
	2006. máj. 22.	-	-	+	-	+
	2006. jún. 12.	-	-	+	-	+
	2006. jún. 26.	-	-	+	-	+
	2006. júl. 10.	-	-	+	-	+
	2006. aug. 7.	-	-	+	-	+
	2006. szept. 4.	-	-	+	-	+

M/8. táblázat. Az elemzés során felhasznált környezeti változók meghatározásának módja

környezeti változó	***mérési módszer***	***hivatkozás***
hőmérséklet [^{o}C]	MultiLine P4 mérőműszer (WTW, Weilheim, Németország)	*a gyártó leírása szerint*
pH	WTW MultiLine P4 mérőműszer	*a gyártó leírása szerint*
vezetőképesség [µS/cm]	WTW MultiLine P4 mérőműszer	*a gyártó leírása szerint*
átlátszóság [cm]	Secchi-koronggal	*Wetzel és Likens (1991)*
vertikális extinkciós koefficiens (K_d) [1/m]	fotoszintetikusan aktív sugárzás mérése különböző mélységekben Li 185B radiométerrel (LiCOR, Lincoln NE, USA)	*Présing és mtsai. (2001)*
ammónium-N [µg/L]	indofenol-kék módszer	*Mackereth és mtsai. (1989)*
nitrát-N [µg/L]	kadmium-redukciós módszer	*Elliott és Porter (1971)*
urea-N [µg/L]	komplexképzés diacetil-monoximmel	*Newell és mtsai. (1967)*
Chl *a* [µg/L]	forró metanolos extrakció, spektrofluorimetriás detektálás	*Wetzel és Likens (1991)*
három pikofitoplankton csoport* mennyisége [sejt/mL]	epifluoreszcens mikroszkópos megfigyelés és elkülönítés a sejttípusok autofluoreszcenciája alapján	*MacIsaac és Stockner (1993), Vörös és mtsai. (2009a)*
nagyobb méretű cianobaktériumok mennyisége [µg/L]	fénymikroszkópos megfigyelés	*Wetzel és Likens (1991)*

* PE- és PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok, *ill.* pikoeukarióta algák

M/9. táblázat. A Balatonból származó, klónozáshoz felhasznált mintákban mért környezeti változók jellemző értékei.

paraméter	***Keszthely 2003. febr. 19.***	***Keszthely 2005. okt. 26.***	***Tihany 2006. ápr. 24.***	***Keszthely 2006. szept. 4.***
vízhőmérséklet (°C)	0,8	12,2	17,2	20,1
pH	8,4	8,1	8,5	8,3
vezetőképesség (µS/cm)	800	727	781	691
K_d (1/m)	1,6	1,8	1,2	1,9
Chl *a* (µg/L)	11,0	10,7	5,86	33,7
PC-gazdag Pcy (10^4 sejt/mL)	*n.a.*	8,59	7,75	35,6
PE-gazdag Pcy (10^4 sejt/mL)	*n.a.*	13,1	26,6	0,93
kolóniás Pcy (10^4 sejt/mL)	*n.a.*	0,97	4,19	10,4
összes Pcy (10^4 sejt/mL)*	1,4	32,7	34,4	36,6
pikoeukarióta algák (10^4 sejt/mL)	28,8	<0,1	<0,1	<0,1

n.a. - nincs adat

M/10. táblázat. A 2006-os vizsgálati időszakban Keszthelynél és Tihanynál mért környezeti változók jellemző értékei

Az általgértékek zárójelben vannak feltüntetve.

paraméter	***Keszthely***	***Tihany***
vízhőmérséklet (°C)	17,0-27,8 (21,7)	16,1-27,0 (20,9)
pH	8,2-8,7 (8,5)	8,4-8,8 (8,6)
vezetőképesség (µS/cm)	666-772 (731)	778-805 (788)
K_d (1/m)	1,6-3,4 (2,3)	0,7-2,1 (1,2)
NH_4^+-N (µg/L)	4,4-10,5 (7,1)	3,7-22,2 (9,9)
NO_3^--N (µg/L)	0-27 (10,5)	5,8-37,8 (15,5)
urea-N (µg/L)	6,2-55,3 (20,1)	12,3-52,5 (30,8)
Chl *a* (µg/L)	8,2-66,4 (24,1)	2,3-18,1 (6,5)
PC-gazdag pikocianobaktériumok (10^4 sejt/mL)	12,4-43,2 (30,1)	1,78-13,0 (7,84)
PE-gazdag pikocianobaktériumok (10^4 sejt/mL)	0,93-45,4 (12,9)	21,1-35,5 (29,7)
kolóniás pikocianobaktériumok (10^4 sejt/mL)	8,07-37,4 (22,5)	4,19-34,1 (17,9)
összes pikocianobaktérium (10^4 sejt/mL)*	24,9-57,7 (43,0)	27,0-44,5 (37,5)
nem-piko cianobaktériumok (> 2 µm) (µg/L)	85-8496 (2675)	10-162 (97)

* pikoeukarióta algák egyedül a Keszthelynél 2006. április 24-én vett mintában fordultak elő (1050 sejt/mL)

M/11. táblázat. A statisztikai elemzéseknél felhasznált paraméterek

fizikokémiai paraméterek	***biológiai változók***
vízhőmérséklet	Chl *a* koncentráció
NH_4^+-N koncentráció	PC-gazdag pikocianobaktériumok mennyisége
NO_3^--N koncentráció	PE-gazdag pikocianobaktériumok mennyisége
urea-N koncentráció	kolóniás pikocianobaktériumok mennyisége
ΣN koncentráció (NH_4^+-N + NO_3^--N + urea-N)	összes pikocianobaktérium mennyisége
	nem-piko cianobaktériumok mennyisége
	cpcBA-IGS OTU-k relatív aránya
	pikocianobaktérium OTU-k diverzitása
	nem-piko cianobaktériumok diverzitása

FÜGGELÉK

F1. A *Synechococcus*ok fikobiliszómájának felépítése

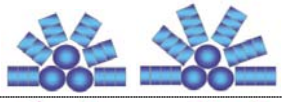
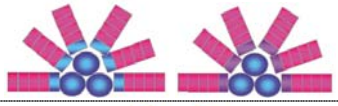
Valamennyi fikobiliprotein két alegységgel (α és β) és hasonló harmadlagos szerkezettel rendelkezik, amelyhez a kromofórok egy vagy két cisztenil-tioéter kötéssel kapcsolódnak. A fikobiliproteinek jellemzőit leegyszerűsítve megállapíthatjuk, hogy a fikobiliszóma központjában elhelyezkedő allofikocianinhoz (APC) és a belőle kiinduló rudakat *(II/2. ábra)* alkotó fikocianinhoz (PC) csak fikocianobilin (PCB) kapcsolódhat. A másik rúdalkotó fikobiliproteinhez, a fikoeritrinhez (PE) fikoeritrobilin (PEB) és fikourobilin (PUB) kromofór is kapcsolódhat *(II/4. táblázat)*.

F/1. táblázat. A fikobiliproteinek altípusai és azok jellemzői
(Ong és Glazer 1987, Swanson és mtsai. 1991, Ting és mtsai. 2002, Six és mtsai. 2007 alapján)

altípus	***kapcsolódó kromofór PCB:PEB:PUB:PVB****	***abszorpciós maximum***	***emissziós maximum***	***előfordulás PCy-nál***
fikocianin (PC)				
C-PC	2:0:0:0	621 nm	648 nm	+
R-PC I	2:1:0:0	555 nm, 615 nm	637 nm	-
R-PC II	1:2:0:0	533 nm, 554 nm, 615 nm	646 nm	+
R-PC III	2:0:1:0	490 nm, 592 nm	644 nm	+
fikoeritrocianin	2:0:0:1	575 nm	625 nm	-
fikoeritrin (PE)				
PE I				
A'	0:5:0:0	556 nm	577 nm	+
A	0:5:0:0	550 nm	572 nm	+
B	0:3:2:0	493 nm, 563 nm	573 nm	+
PE II				
A	0:5:1:0	498 nm, 544 nm	563 nm	+
B	0:4:2:0	494 nm, 547 nm	563 nm	+
C	0:2:4:0	493 nm, 544 nm	565 nm	+

* a kromofór kötőhelyek számának megfelelően

F/2. táblázat. A különböző *Synechococcus* pigment típusokhoz tartozó fikobiliszóma tulajdonságok *(Six és mtsai. 2007 alapján)*

pigment típus	*PC típus*	*PE típus*		*PUB:PEB*	*példa törzs**	*prediktív szerkezeti modell*
		PEI	*PEII*			
1	C-PC	nincs	nincs	-	RS9917 WH 5701	
2	C-PC, R-PC III	A’	nincs	-	WH 7805 WH 8018	
3a	R-PC II	A	A	~0,4	Almo3 RS9912 WH 7803	
3b	*n. a.*	A	B	~0,8	RCC 307	
3c	R-PC II	B	C	>1,1	CC9605 Oli31 WH 8102 WH 8103	
3d (CA)	R-PC II	○ A, B ● B	○ B ● C	○ ~0,7 ● >1,6	CC9902 Minos11.1 RS9916 WH 8020	

○ fehér és ● kék fényhez adaptáltan, APC, C-PC, R-PC, PE I, PE II; * filogenetikai pozíciójukat *ld. II/1. ábra*

Ezt az általános képet azonban néhány kivétel kissé módosítja *(F/1. táblázat)*. A PC-hez nem kizárólag PCB kapcsolódhat, hanem a másik három kromofór is. Ennek megfelelően megkülönböztetnek csak PCB-tartalmú (C-PC típus) és vegyes kromofór összetétellel rendelkező PC típusokat (R-PC I-III és fikoeritrocianin). Mindegyik PC típus azonban nem fordul elő a pikocianobaktériumok között (az R-PC I vörösmoszatokra és egyes tengeri cianobaktériumokra, míg a fikoeritrocianin fonalas heterocisztás cianobaktériumokra jellemző, *Swanson és mtsai. 1991*).

A PE típusoknál szintén általánosan elmondható, hogy PEB mindig megtalálható bennük, a PUB előfordulása azonban nem egyértelműen a két fő csoport (PE I és PE II) elválasztó bélyege, sokkal inkább a kapcsolódó kromofórok száma (5, *ill.* 6) határozza meg az említett kategóriákat. Az altípusok kijelölésénél meghatározó jelentőséggel bír a kapcsolódó kromofórok aránya (PUB:PEB). A PUB-t is tartalmazó PE II típus kizárólag a tengeri *Synechococcus*ok csoportjában fordul elő.

A *Synechococcus*ok három fő pigment típusba sorolhatók a fikobiliszómákat felépítő fikobiliproteinek alapján *(Six és mtsai. 2007; F/2. táblázat)*: az 1-es típusnál csak PC fordul elő, a 2-esnél PC és PE I, míg a 3-as típusnál PC, PE I és PE II egyaránt megtalálható. Ez utóbbinak négy további altípusát különböztetik meg a fikoeritrinhez kötődő kromofórok (PEB és PUB) aránya

alapján (3a-3c), *ill.* a szerint, hogy a törzsek képesek-e kromatikus adaptációra (3d, *ld. F2. Függelék*).

F2. A kromatikus adaptáció

Megfigyelték, hogy a cianobaktériumok egy része képes a fikobiliszómák összetételét megváltoztatni, ha a fényklíma megváltozik (vöröstől zöld fény felé eltolódás esetén vagy fordítva). Ezt a folyamatot *kromatikus adaptáció*nak nevezzük, és a cianobaktériumok négy csoportra oszthatóak ennek tekintetében *(F/3. táblázat)*. Az első csoportba (CA I) tartoznak a kromatikus adaptációra nem képes törzsek, a másodikba (CA II) azok a cianobaktériumok sorolhatók, amelyek csak a PE, míg a harmadikba azok [CA III, vagy más néven kiegészítő-típusú ('complementary') CA], amik a PE és PC mennyiségét is képesek megváltoztatni a fikobiliszómán belül. A pikocianobaktériumoknál mindeddig csak a kromatikus adaptáció IV-es típusát igazolták, amely során (az előzőektől eltérően) nem a fikobiliproteinek, hanem a hozzájuk kapcsolódó kromofórok aránya változik meg *(Palenik 2001)*, nevezetesen a PE II-höz kapcsolódó PEB:PUB aránya *(Everroad és mtsai. 2006; ld. még F/2. táblázat)*.

A kromatikus adaptáció során valószínűleg új, megfelelő kromofórokkal rendelkező fikobiliszómák szintéziséről és nem a már meglévőek átrendeződéséről van szó *(Everroad és mtsai. 2006)*. A teljes adaptáció két vizsgált *Synechococcus* törzs esetében *kb.* egy hetet vett igénybe (ami megfeleltethető hat osztódásnak), de már 72 órán belül jelentős változások történtek a pigmentösszetétel tekintetében *(Everroad és mtsai. 2006)*, vagyis a kromatikus adaptáció igen gyors és hatékony alkalmazkodó képességet jelöl. A CA IV képessége nem monofiletikus bélyeg, hanem több eltérő filogenetikai helyzetű törzsnél is megfigyelték már *(Palenik 2001, Ahlgren és Rocap 2006, Everroad és mtsai. 2006, Six és mtsai. 2007, vö. F/2. táblázat és II/1. ábra)*. Édesvízben előforduló pikocianobaktériumoknál azonban mindeddig nem mutatták ki, hiszen náluk nincs PUB.

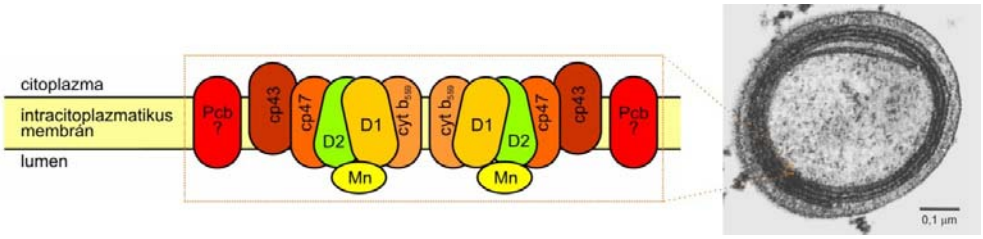
F/3. táblázat. A cianobaktériumoknál megfigyelt kromatikus adaptáció típusok és jellemzőik
(Anderson és mtsai. 1984, Ohki és mtsai. 1985, Grossman és mtsai. 1993, Everroad és mtsai. 2006 alapján)

típus	***fikobiliproteinek mennyisége változik***		***kromofórok mennyisége változik***	***példa szervezet***
	PC	***PE***	***PE II***	
CA I	-	-	-	-
CA II	-	+	-	*Synechocystis* sp. PCC 6701
CA III	+	+	-	*Tolypothrix* sp. (korábban *Fremyella diplosyphon*)
CA IV	-	-	+	*Synechococcus* sp. M11.1

F3. Miért nincs a *Prochlorococcus*oknak fikobiliszómájuk?

Filogenetikai helyzetüket tekintve a *Prochlorococcus*ok egyértelműen leszármazott csoportnak tekinthetők *(II/1. ábra)*. Felmerül tehát a kérdés, hogy milyen előnyökkel járhat egy meglehetősen összetett és hatékony fénygyűjtő komplex, a fikobiliszóma elvesztése?

A *Prochlorococcus*ok fotoszintetikus apparátusa, a benne megtalálható pigmenteknek köszönhetően, az óceánok kék fényben gazdag régióiban biztosítja a hatékony fotoszintézis képességét, míg a fikobiliszómás pikocianobaktérium formák a spektrum nagyobb hullámhosszú tartományaira jellemzőek *(II/3. ábra)*. A pigmentek különbözősége azonban nem tehető kizárólagosan felelőssé a fikobiliszómák hiányáért.



F/1. ábra. A *Prochlorococcus*ok II fotorendszerének vázlatos felépítése
(Ting és mtsai. 2002 alapján; a MIT 9313 törzsről készült elektronmikroszkópos felvétel forrása: Partensky és mtsai. 1999)
Pcb: proklorofita Chl-kötő fehérje; többi rövidítést ld. II/2. ábra.

A *Prochlorococcus* nemzetség tagjai az óceánok oligotróf régióiban (nyíltvíz) jelentősek, amelyet a tápanyagok alacsony koncentrációja jellemez *(Partensky és mtsai. 1997)*. A számítások szerint a *Prochlorococcus*ok Pcb-típusú fénygyűjtő apparátusa *(F/1. ábra)* előállításának kevesebb a fehérje-igénye, mint a zöld növények Chl *a/b* alapú vagy a többi cianobaktérium fikobiliszóma alapú rendszerének *(Ting és mtsai. 2002, Scheer 2003)*, ami kompetitív előnyhöz juttathatja a proklorofitákat nitrogénszegény környezetekben.

A nitrogén mellett a vas is jelentős szerepet játszhatott a fikobiliszómák elvesztésében. Az ősi óceán redukált környezetében a vas oldott formában könnyen hozzáférhető volt a mikroorganizmusok számára, míg az oxigéntermelő fotoszintézis megjelenésével (mintegy 3,5-3,2 milliárd éve) a vas oxidálódott és kicsapódott. Az így létrejövő vashiányos környezet valószínűleg szelektív nyomást gyakorolt a cianobaktériumok evolúciójára *(Ting és mtsai. 2002)*. A mai óceánokban is meglehetősen kevés a biológiailag hozzáférhető vas mennyisége, korlátozva ezáltal a fitoplankton szaporodását *(Martin és mtsai. 1994, Mann és Chisholm 2001)*. Édesvízi *Synechocystis* és *Synechococcus* törzseknél kimutatták, hogy a hozzáférhető vas kimerülésével párhuzamosan a fikobiliszóma gyors degradációja és a stressz hatására egy Chl *a*-kötő fehérje (*IsiA* vagy CP43')

szintézise figyelhető meg, amely gyűrűt formál a PS I körül, megnövelve ezáltal a rendszer fénygyűjtő kapacitását *(Park és mtsai. 1999, Bibby és mtsai. 2001a, Boekema és mtsai. 2001)*. A nagyfokú szerkezeti hasonlóság miatt valószínűsíthető, hogy a *Prochlorococcus*ok fő fénygyűjtő antennája egy *IsiA*-szerű komplexből alakult ki *(Bibby és mtsai. 2001b, Ting és mtsai. 2002)*, amely szelektív előnyhöz juttathatott egy fikobiliszóma nélküli ősi cianobaktérium típust bizonyos fény- és tápanyagviszonyok mellett. Miután a Chl a_2/b-típusú antenna vált ezeknek a sejteknek az elsődleges fénygyűjtő komplexévé, a fikobiliszómát alkotó fehérjéket kódoló gének egy része is eltűnt a *Prochlorococcus*ok genomjából *(Hess és mtsai. 2001; II/11. táblázat)*.

A rendelkezésre álló fény hullámhossza, valamint az egyes tápelemek (*pl.* nitrogén, vas) korlátozott hozzáférhetősége tehát vélhetőleg együttesen határozta meg a fikobiliszóma nélküli *Prochlorococcus*ok kialakulását.

F4. Miért képeznek a pikoalgák kolóniákat és aggregátumokat?

A kolóniák, amik hasonló vagy azonos típusú sejtek esetenként nehezen különböztethetők meg az aggregátumoktól, amelyek akár különböző sejtek összetapadásából is létrejöhetnek. Ennek oka, hogy a legáltalánosabban használt sejtszámlálási módszerek nem adnak lehetőséget a különböző genotípusú, de hasonló morfológiájú planktonikus pikoalgák megkülönböztetésére. Az értékelést tovább nehezíti, hogy a mintafeldolgozás szűrési lépése során feldarabolódhatnak, széteshetnek *(Weisse 1993)*. Mivel maguk a kolóniák már 2-3 μm-nél nagyobbak, ezért több szerző nem számolja a pikofitoplankton közé, helytelenül, hiszen a lazán összekapcsolódó sejtek a *piko* méretkategóriába tartoznak és olykor nagyon jelentős részét (akár > 50%) képviselhetik a planktonikus pikoalga közösségnek *(Weisse 1993, Callieri és Stockner 2002)*. Ráadásul szeles időben feldarabolódhatnak, széteshetnek, és laboratóriumi körülmények között is bebizonyosodott, hogy ugyanannak a törzsek létezhetnek egysejtű és kolóniás formái *(Fawley és mtsai. 2005, Jezberová és Komárková 2007a)*. Tehát a kolóniaképzés nem jó taxonómiai bélyeg *(Luo és mtsai. 2010)*. A kolóniás formákkal kapcsolatos legizgalmasabb kérdés azonban az, hogy miért alakulnak ki egyáltalán.

Mivel a kolóniás formák főként a pikocianobaktériumokra jellemzőek[95] *(Mózes és mtsai. 2005; F/2. ábra)*, ezért a vizsgálatok és elméletek is leginkább rájuk vonatkoznak.

A kolóniaképződés összefüggésben állhat például a predáció elleni védekezéssel *(Stockner 1991, Jezberová és Komárková 2007a)*. *Jezberová és Komárková (2007a) Cyanobium* sejtek felszínén több

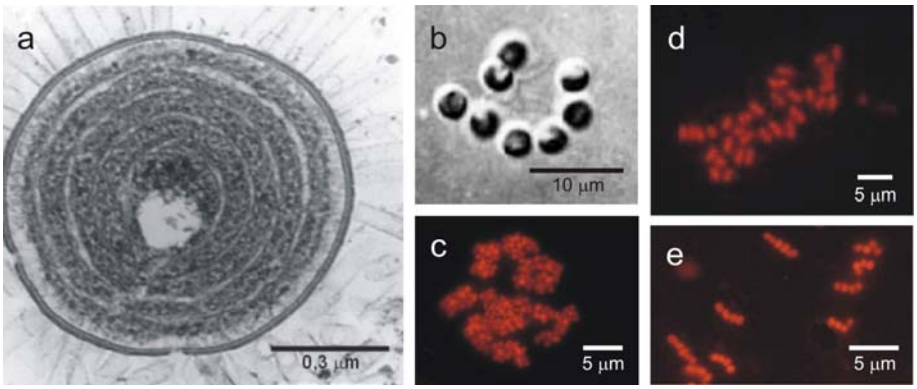
[95] természetesen az eukarióta pikoalgák között is előfordulnak *(pl. Pseudodictyosphaerium) (Padisák és mtsai. 1997, Fawley és mtsai. 2005)*

száz, predációs hatásra megjelenő, 0,1-1 μm hosszú, apró csövecskét (*spinae*) figyelt meg *(F/2.a. ábra)*, amiket a sejtek aggregálódásával hoztak összefüggésbe.

Egyes kutatók a kolóniák képződését a hatékonyabb tápanyag-újrahasznosítással ('nutrient recycling') kapcsolják össze *(Stockner és mtsai. 2000)*. Többször megfigyelték ugyanis, hogy tápanyag-limitáció esetén a kolóniás pikofitoplankton formák száma megnőtt *(Schallenberg és Burns 2001, Sarmento és mtsai. 2008)*. *Mózes és mtsai. (2006)* is szoros negatív korrelációt találtak a hozzáférhető nitrogénformák (ammónium, nitrát és urea) és a kolóniák száma között a Balatonban. A kolónián belüli tápanyagok újrahasznosításának ellentmond, hogy a kiválasztott kocsonyás anyag erőteljesen gátolhatja a tápanyagok diffúzióját. Az exkrétum adszorpciója és a perifériális sejtek tápanyagfelvétele miatt így a kolónia belsejéhez közeli sejtek éhezni fognak, végeredményben pedig a kolóniát alkotó sejtek növekedése lassabb lesz, mint a szabadon élőké *(Ploug és mtsai. 1999)*. A hozzáférhető tápanyagokkal összekapcsolható magyarázatot ad viszont az, hogy a kocsonyaburok belsejében a nitrogenáz enzim működéséhez szükséges anoxikus mikrohabitatok jöhetnek létre, elősegítve a kolóniához asszociált diazotróf baktériumok nitrogén-kötését *(Postius és Böger 1998, Schallenberg és Burns 2001)*.

Az ellentmondást, ami szerint a sejtek aktív fotoszintézissel szervesanyagban gazdag kocsonyaburkot termelnek tápanyagban szegény viszonyok mellett, magyarázhatja, hogy ez a folyamat valójában megvédi a sejteket az esetleges fotokémiai károsodástól *(Wood és Van Valen 1990, Crosbie és mtsai. 2003c)*. Mivel a sejtek csak korlátozottan képesek tárolni a fotoszintézis során keletkezett termékeket, és a fény szakaszban keletkező redukáló erő *(II/2. ábra)* felhalmozódása is kedvezőtlen folyamatokhoz vezethet, ezért a képződött szerves termékek kimosódása és kiválasztása megoldást jelent *(Wood és Van Valen 1990)*. Ezt támasztják alá *Crosbie és mtsai*nak *(2003c)* megfigyelései, amely szerint a kolóniás formák nagy száma a felszíni vízréteghez és a szélcsendes, napsütéses időszakokhoz volt köthető a szubalpin Mond-tóban (Mondsee). Érdekes módon a Duna esetében is, amely nem tekinthető tápanyag-limitáltnak és a zooplankton tömege is meglehetősen kevés, a kolóniás formák száma a vízhőmérséklettel mutatott pozitív korrelációt *(Mózes 2008)*.

Mindezek alapján elképzelhető tehát, hogy az egyes vízterekben, *ill.* az egyes fajok és filotípusok esetében eltérő tényezők határozzák meg a kolóniák kialakulását. A kolónia-képződésnek pedig fontos következményei lehetnek a planktonikus pikoalgák eloszlására is, ugyanis míg az egysejtű formáknál nem jellemző a lesüllyedés a kis sejtméret miatt, az aggregátumoknál már jelentősebb az ülepedési sebesség *(Weisse 1993)*. Így a kolóniák lejuthatnak az eufotikus zóna aljára is, ahol viszont már eltérő fizikokémiai paraméterekkel találkozhatnak, *pl.* nagyobb a tápanyagtartalom.



F/2. ábra. A planktonikus pikoalgák kolóniaképzése
a: *az édesvízi Cyanobium sp. 10-NR predációs hatásra növesztett sejtfelszíni csövecskékkel (Jezberová és Komárková 2007a),* ***b:*** *Pseudodictyosphaerium jurisii SAG 37.98 kolóniája szálszerű képződményekkel összekötött sejtekel (Krienitz és mtsai. 1999),* ***c, d és e:*** *tengeri Synechococcus sejtek által képzett kisebb-nagyobb kolóniák és láncok (Masquelier és Vaulot 2008 alapján)*

F5. A pikoalgák tenyésztéséről

A pikoalgák tenyésztésével kapcsolatosan két fő probléma említhető, a tenyésztés szelektivitásának kérdése és az axenikus törzsek előállításának nehézségei.

Az általánosan használt szélesztési technika a PC-pigment-dominanciájú törzsek növekedésének kedvez *(Ernst 1991)*, a megfelelő méretű fikoeritrines telepek kifejlődéséhez akár 40 hetet is kell várni *(Ernst 1991)*. Ennek egyik oka lehet, hogy az általánosan használt nagy tápanyagtartalmú BG-11 tápközeg *(Rippka és mtsai. 1979)* szelektív a PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumokra. Ezt támasztják alá azok a megfigyelések, amelyek során nitrogénszegény tápközegben a PE-gazdag törzsek dúsulását tapasztalták *(Becker és mtsai. 2004)*, *ill.* alacsony tápanyag-koncentrációk (nitrát és foszfát) mellett egyes fikoeritrines *Synechococcus*ok jobban növekedtek *(Ernst és mtsai. 2005)*. A PE-pigment-dominanciával rendelkező törzsek izolálására a további megoldásokat alkalmazták sikeresen: *(i)* dúsító tenyészetek és 'flow sorting'[96] *(Crosbie és mtsai. 2003b, Le Gall és mtsai. 2008)*; *(ii)* kiegészítő színnel (zöld fénnyel) történő megvilágítás az inkubáció során a szelekciós nyomás fenntartása érdekében *(Becker és mtsai. 2004)*; *(iii)* a minta kihígítása, hogy a domináns fikoeritrines sejteket ne nőjék túl a gyorsabban növő, de a közösség kisebb részét alkotó PC-pigment-dominanciájú pikocianobaktériumok *(Crosbie és mtsai. 2003a)*.

Axenikus tenyészeteket legtöbbször lehetetlen előállítani, az algasejtek mellett sokszor heterotróf baktériumok vagy protisták és gombák is megtalálhatók a tenyészetekben. Az axenikus törzsek előállítására az alábbi megoldásokkal találkozhatunk a szakirodalomban: *(i)* a heterotróf

[96] az áramlási citometria kombinálása a sejtek fizikai szeparációjával

baktériumok szupresszálása antibiotikum-kezeléssel *(Vaara és mtsai. 1979, Ferris és Hirsch 1991)*; *(ii)* mikromanipuláció *(Bowyer és Skerman 1968)*; *(iii)* gradiens centrifugálás *(Sitz és Schmidt 1973)*; *(iv)* 'flow sorting' *(Crosbie és mtsai. 2003b)*; *(v)* elektroforetikus szeparáció *(Palinska és Krumbein 1995)*.

A tenyésztéssel kapcsolatos további problémaként jelentkezik az elkülönülő kolóniák hiánya, valamint a szilárd és folyadékkultúra közötti transzfer nehézsége *(Rippka és mtsai. 2000, Ernst és mtsai. 2003)*.

F6. A hazai szikesek egyedisége

Részben a tápanyagok bőségének köszönhetően, ezekben a tavakban regisztrálták a valaha mért legmagasabb pikoalga sejtszám értékeket, mind a pikoeukarióták ($1{,}08 \times 10^8$ sejt/mL a szabadszállási Büdös-székben, *Somogyi és mtsai. 2009b*), mind a pikocianobaktériumok esetében ($1{,}03 \times 10^8$ sejt/mL a Zab-székben, *Vörös és mtsai. 2005*). A vizek extrém produktivitásához az a különleges tulajdonság is kapcsolódik, hogy ezek a zavaros vizű[97], hipertróf tavak nem követik *(Vörös és V.-Balogh 2003, Vörös és mtsai. 2005)* azt a tengerekben és édesvizekben egyaránt általános jelenséget, miszerint a fotoautotróf pikoplankton részesedése a fitoplankton teljes tömegéből és produkciójából a trofitás növekedésével csökken *(Stockner 1991, Bell és Kalff 2001, Callieri 2008)*, sőt olykor akár 100% pikoalga dominanciával is rendelkezhetnek *(Somogyi és mtsai. 2009b)*. A Fertő tónál is meghaladja a pikoalgák részesedése a hasonló mezo-eutróf vízterekre jellemző értékeket *(Padisák és Dokulil 1994, Vörös és mtsai. 1998, Callieri 2008, Somogyi és mtsai. 2010a)*. Ennek oka az ilyen turbid, szegényes fényviszonyokkal rendelkező vizekben a fénylimitáció és a csökkent predációs nyomás lehet *(Hart 1988, Felföldi és mtsai. 2009a, Somogyi és mtsai. 2010a)*. A kedvező felület-térfogat arány miatt ugyanis a kisebb sejtek vélhetőleg jobb fényhasznosítási képességgel rendelkeznek *(Agustí 1991, Raven 1998)*, és ezáltal a *piko* méretű algák szelektív előnyhöz jutnak a nagyobbakhoz képest fénylimitált környezetben. A szűrögető életmódot folytató predátorokra (kerekesférgek, *Daphnia* fajok) pedig egyértelműen negatívan hat egy szervetlen lebegőanyagokat nagy koncentrációban tartalmazó víztér, hiszen nem tudnak válogatni a táplálék- és *„ballaszt"*-részecskék között. A zavarosság predációra gyakorolt (hasonlóan kedvezőtlen) hatását mutatták ki a pikoalgák legjellemzőbb fogyasztói, a heterotróf ostorosok és csillósok esetében is *(ld. Somogyi és mtsai. 2010a hivatkozásait)*.

[97] fénylimitáció miatt fordul elő az is, hogy a tavak sekélysége ellenére rendszerint csak planktonikus algák fordulnak elő bennük és hiányzik belőlük a fitobentosz *(Vörös és mtsai. 2009b)*

A kiskunsági szikesek protozoon közösségéről és kerekesférgeinek mennyiségi viszonyairól nincsenek ismereteink *(Vörös és mtsai. 2009b)*. Az algákat és baktériumokat egyaránt fogyasztó Cladocera és Copepoda plankton mennyisége jelentősen, legalább egy nagyságrenddel meghaladja a fitoplankton tömege alapján várható mennyiséget ezekben a vizekben *(Boros 2007)*, ami alapján *Vörös és mtsai. (2009b)* azt a következtetést vonják le, hogy az állatvilág produkciója alapvetően nem a planktonikus elsődleges termelésre épül[98], hanem más külső, madarak által bevitt szénforrásokra. A vízi poloska és tócsarák dominálta nekton[F] fogyasztói a felszíni vizek túlnyomó többségéhez hasonlóan nem a halak (amik hiányoznak ezekből a tavakból), hanem a vízimadarak. Megállapítják, hogy a hazai fehér vizű szikesek olyan különleges ökológiai rendszerek, ahol a kulcsszereplők az energiaáramlás kezdeti és végpontján egyaránt ott álló madarak, és ez limnológiai tekintetben egyedülálló.

F7. Mindenki mindenhol jelen van?

Az a tény, hogy a mikroszkopikus méretű élőlények jelentős része kitartó képletekkel rendelkezik, *ill.* könnyedén átvészelik a számukra kedvezőtlen életfeltételeket és ezáltal könnyen szétterjedhetnek bolygónkon, parázs vitákat szült.

A *mindenki mindenhol jelen van hipotézis* ('everything is everywhere') szerint *(Finlay és Clark 1999, Finlay 2002)* az 1 μm-nél kisebb, szabadon élő mikrobák vélhetőleg mindenhová eljuthatnak és az adott helyen a környezeti feltételek határozzák meg túlélésüket. Mégis sokszor találkozunk olyan csoportokkal vagy fajokkal, amelyek kizárólag egy meghatározott földrajzi területre jellemzőek. Kézenfekvő magyarázatként szolgálhat az, hogy az alulmintázottság miatt nem találkozunk minden olyan környezetben az adott mikrobacsoporttal, ahol elméletileg előfordulhatna *(Pollock és mtsai. 2002, Crosbie és mtsai. 2003a)*.

Egy másik megközelítést ad *Medlin (2007)* hipotézise, amely szerint a globális elterjedtség és az endemikus fajok között folyamatos evolúciós átmenet lehetséges. Szerinte ugyanis az egyes fajok (vagy átültetve a mi esetünkre pikoalga csoportok) esetében különböző evolúciós pillanatfelvételeket látunk vizsgálatainkkor. Egy új faj megjelenésekor elképzelhető, hogy sikeressége miatt globálisan elterjed, a faj evolúciójának ebben a pillanatában „mindenki mindenhol jelen van". Az idő előrehaladtával azonban a közös génállomány fragmentálódik, és az egyes populációk alkalmazkodnak a helyi körülményekhez, más helyeken esetleg kihalnak. Végül a morfológiai

[98] ezt bizonyítja az a tény is, hogy a heterotróf baktériumok sejtszáma nem korrelál a fitoplankton tömegének koncentrációjával, ami egyébként általános jelenség tavakban és tengerekben *(Vörös és mtsai. 2009b)*

és fiziológiai differenciálódás új faj(ok) megjelenését eredményezi; ebben a pillanatban az adott faj előfordulása csak egy bizonyos területre jellemző, azaz endemikus. Innen természetesen ez a faj ismét globálisan elterjedhet minden olyan élőhelyen, ahol szaporodásához megfelelő életfeltételeket talál, itt aztán újabb adaptációk újabb fajok kialakulását idézik elő.

FOGALOMTÁR

akinéta: vegetatív sejtből képződő vastag falú, mozdulatlan kitartó képlet

allofikocianin (APC): a fénygyűjtő fikobiliproteinek kékes színű pigment típusa (A_{max}= ~650-655 nm)

autospóraképzés (autosporuláció): osztódási típus, amelynél az autospórák az anyasejten belül jönnek létre, alakjuk azzal megegyező; pikoeukarióta algáknál az anyasejt fala a leánysejteknél nem őrződik meg

axenikus tenyészet: tiszta tenyészet, ami minden más „szennyező" mikroorganizmustól mentes

bentosz: a vízfenéken (aljzaton) található élőlények összessége

bimbózás ('budding'): nem szimmetrikus osztódási típus, amelynél a pikoeukarióta algák esetében az anyasejtfal nem válik le a leánysejtekről, nem degenerálódik és a leánysejtfalhoz tapadva a következő osztódási ciklusban is megfigyelhető

diazotróf: légköri nitrogént kötő

edafikus: talajon vagy talajban élő

eufotikus vízmélység: az a vízmélység, ahová még elég fény jut le a fotoszintézishez; megfeleltethető annak a vízmélységnek, ahová a fotoszintetikus szempontból hasznosítható fény 1%-a lehatol

fikobilin: a fikobiliproteinekhez kovalensen kötődő kromofór, amely a fényenergia szelektív abszorpciójáért felelős; négy típusa: fikocianobilin (PCB), fikoeritrobilin (PEB), fikourobilin (PUB) és fikobiliviolin (PVB)

fikobiliprotein: a klorofilloktól eltérően vízoldékony pigment (fehérje), amely kovalensen kapcsolódik a fikobilinekhez; a fikobiliszóma fő strukturális alkotója; három típusa: allofikocianin (APC), fikocianin (PC) és fikoeritrin (PE)

fikobiliszóma: szupramolekuláris fotoszintetikus antenna (makromolekulák fénygyűjtő komplexe), amit fikobiliproteinek és a hozzájuk kovalens kötéssel kapcsolódó kromofórok, más néven fikobilinek alkotnak; a II fotorendszerhez (PS II) kapcsolódik; kékalgákban és vörösmoszatokban fordul elő

fikocianin (PC): a fénygyűjtő fikobiliproteinek kékes színű pigment típusa (A_{max}= ~615-640 nm)

fikoeritrin (PE): a fénygyűjtő fikobiliproteinek vöröses színű pigment típusa (A_{max}= ~565-575 nm); felosztása történhet előfordulás (R-PE: Rhodophyta-típus, B-PE: Bangiophyceae-típus, C-PE: egyéb cianobaktériumokban) vagy felépítés szerint (PE I: öt kromofór kötőhely, jellemzően csak PEB kapcsolódik; PE II: hat kötőhely, PEB és PUB egyaránt kapcsolódik)

filotípus: biológiai típus, ami a szervezeteket más szervezetekhez viszonyított filogenetikai (evolúciós) viszonyai alapján csoportosítja; maga a fogalom taxon-semleges, azaz bármilyen filogenetikai szinten alkalmazható (*pl.* faj, nemzetség, adott genetikai hasonlóság)

fitoplankton: a vízben lebegő planktonikus algák összessége (a cianobaktériumok és eukarióta algák által képezett plankton frakció)

fotoautotróf anyagcsere: fényenergia hasznosítása szén-dioxidból szerves szénvegyületek előállítására

fotoinhibíció: nagy fényintenzitás által okozott stressz; fő célpontja elsősorban a PS II és a *psbA* gén által kódolt D1 protein; kivédése érdekében a D1 protein egy kevésbé érzékeny formája aktiválódik a sejtben egyéb folyamatok mellett

fotoszintézis: szén-dioxid konvertálása biomasszává, energiaszerzés és redukálóerő létrehozása fényenergia segítségével

fototrófia: azon anyagcseretípus, amelynek során a fényenergia kémiai energiává konvertálódik

genotípus: az adott szervezet genetikai összetétele; allélok (adott gének alternatív formáinak) kombi-nációja, ami az adott egyed bizonyos tulajdonságát/tulajdonságait meghatározza; a dolgozatban egy adott DNS szakasz (bázissorrendje vagy hossza) alapján megkülönböztethető szervezet

heterociszta: differenciálódott vastag falú sejt, amelyben a cianobaktériumok egyik típusára (fonalas nitrogénkötő kékalgák) jellemző nitrogénkötés zajlik

hormogónium: a fonalas kékalgák általában mozgásképes fonáldarabja, amely továbbnövekedve új fonalat hoz létre

littorális zóna: tó, tenger vagy óceán parti régiója

kettéosztódás: osztódási típus, amelynél általában két egyforma leánysejt jön létre; pikoeukarióta algáknál az anyasejtfal a következő osztódási ciklusban nem megfigyelhető

klád: közös őstől származtatható taxonok monofiletikus csoportja, amely valamennyi leszármazottat (és esetlegesen az őst is) magában foglalja

kromatikus adaptáció: a fotoszintetikus szervezetek pigment összetételének és/vagy tartalmának megváltoztatása az adott fényviszonyokhoz történő alkalmazkodás érdekében; a cianobaktériumok esetében ez sokszor a fikobiliszómák összetételének átalakítását jelenti

kromofór: kémiai anyag/csoport, amely adott hullámhosszú fény szelektív abszorpciójára képes

meroplanktonikus: az életciklus csak egy bizonyos szakaszában planktonikus

molekuláris kronométer: ha a véletlenszerű evolúciós változások állandó gyakorisággal fordulnak elő egy biopolimer szekvenciájában, akkor az ezáltal „molekuláris óra" (molekuláris vagy evolúciós kronométer) szerepet nyerhet; ideális esetben (legalább a vizsgált csoporton belül) *(i)* a változás sebessége összemérhető az evolúciós távolságokkal, *(ii)* a molekula megfelelő méretű az elegendő információ szolgáltatásához, *(iii)* univerzálisan előfordul, *(iv)* funkcionális szempontból állandó, és *(v)* nincs kitéve laterális géntranszfernek

nekton: a vízben aktív mozgásra képes élőlények összessége

niche: a környezeti tényezők által meghatározott sokdimenziós absztrakt térnek azon része, amelyben a populáció fennmaradni képes

ökotípus: egy adott faj genetikailag és fiziológiailag különböző populációja, amely bizonyos környezeti feltételekhez (ökológiai niche-hez) adaptálódott

pirenoid: kloroplasztiszon belüli régió, amely a szén-dioxid-fixáció és a tartalék tápanyag (keményítő) felhalmozódásának fő területe

plankton: vízben lebegő élőlények összessége (akár a közeghez adaptálódva, akár a szél és áramlatok hatására passzívan sodródva)

plasztoglobulus: olajcsepp(ek) a kloroplasztisz sztrómájában

proklorofita: cianobaktériumok azon csoportja, melyek divinil-Chl *a* és *b* (Chl a_2 és b_2) szintézisére képes és nem rendelkezik fikobiliproteinekkel; nem monofiletikus csoport; három genus tartozik közéjük: *Prochlorococcus* (egysejtű, csak tengerekben), *Prochlorothrix* (édesvízi fonalas alga) és *Prochloron* (tengeri zsákállatok szimbiontája)

RuBisCO: a fotoszintetikus CO_2-fixáció (Calvin-ciklus) kulcsenzime valamennyi planktonikus alga esetében; öt szénatomos molekulából két darab három szénatomos molekula létrejöttét katalizálja egy szervetlen szénatom (CO_2) beépítésével, a folyamathoz szükséges energiát és redukáló erőt a fény szakasz során termelődött ATP és NADPH adja

Secchi-átlátszóság: a víz átlátszóságának gyors és egyszerű mérése (Secchi-)korong segítségével; az a mélység, ahol a vízben függőlegesen leengedve a korong eltűnik

tilakoidok: intracelluláris membrán rendszer, amely a fotoszintézis reakciócentrumát, klorofillt és néhány egyéb pigmentet tartalmaz

vertikális extinkciós koefficiens: $K_d = 1/n \times (\ln I_0 - \ln I_n)$, ahol I_0: a felszínre eső fényintenzitás, n: a vízmélység; I_n: az n mélységben mért fényintenzitás, K_d: az adott vízrétegre jellemző vertikális extinkciós koefficiens

vízalatti fényklíma: a víztest adott mélységében abszorbeálható fény intenzitása és spektrális összetétele

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

A_{max} – abszorpciós maximum
APC – allofikocianin ('allophycocyanin')
CA – kromatikus adaptáció ('chromatic adaptation')
Chl *a*/*b* – klorofill *a*/*b*
Chl a_2/b_2 – divinil-klorofill *a*/*b*
DEPC – dietil-pirokarbonát
DGGE – denaturáló gradiens gélelektroforézis
FISH – fluoreszcens *in situ* hibridizáció
HL – erős fényhez adaptálódott ('high light-adapted')
IGS – gének közötti nem kódoló szakasz ('intergenic spacer')
ITS – a strukturális RNS-t kódoló régiók közötti (általában) funkció nélküli szakasz ('internal transcribed spacer')
LH-PCR – hossz-heterogenitást eredményező PCR ('length heterogeneity PCR')
LL – gyenge fényhez adaptálódott ('low light-adapted')
PBS – fikobiliszóma ('phycobilisome')
PC – fikocianin ('phycocyanin')
PCB – fikocianobilin ('phycocyanobilin')
PCR – polimeráz láncreakció ('polymerase chain reaction')
PCy – pikocianobaktérium(ok) ('picocyanobacteria')
PE – fikoeritrin ('phycoerythrin')
PEB – fikoeritrobilin ('phycoerythrobilin')
Peuk – pikoeukarióta alga/algák
PS II – II fotorendszer ('photosystem II')
PUB – fikourobilin ('phycourobilin')
PVB – fikobiliviolin ('phycobiliviolin')
RuBisCO – ribulóz-1,5-biszfoszfát karboxiláz-oxigenáz
SEM – pásztázó elektronmikroszkópia ('scanning electron microscopy')
TEM – transzmissziós elektronmikroszkópia
T-RFLP – terminális restrikciós fragmentumhossz polimorfizmus

Ahol a rövidítés származtatása az angol terminus technicus alapján történik, abban az esetben ezek zárójelben feltüntetésre kerültek.

Törzsgyűjtemények kódjai

ACT – Algal Culture Tihany, Balatoni Limnológiai Kutatóintézet, Tihany (Magyarország)
CCAIU – Culture Collection of Algae at Indiana University (IN, USA)
CCALA – Culture Collection of the Centre of Algology, Třeboň (Csehország)
CCAP – Culture Collection of Algae and Protozoa, Ambleside (Nagy-Britannia)
CCMP – Provasoli-Guillard National Center for Culture Collection of Marine Picoplankton, Boothbay Harbor (ME, USA)
DSM – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig (Németország)

IAM – Institute of Molecular and Cellular Biosciences, University of Tokyo (Japán)

KCTC – Korean Collection for Type Cultures, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejon (Dél-Korea)

MIT – Massachusetts Institute of Technology, Cambridge (MA, USA)

NIES – National Institute for Environmental Studies, Microbial Culture Collection, Onogawa (Japán)

NIVA – NIVA Culture Collection of Algae, Norwegian Institute for Water Research Oslo (Norvégia)

PCC – Pasteur Culture Collection of Cyanobacteria, Institut Pasteur (Franciaország)

RCC – Roscoff Culture Collection, Station Biologique de Roscoff (Franciaország)

SAG – Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen (Németország)

UTEX – University of Texas, Austin (TX, USA)

WH – Woods Hole Culture Collection, Woods Hole Oceanographic Institution (MA, USA)

KÉPEK JEGYZÉKE

Fénymikroszkópos felvételek

áteső fény, normál: *II/5. ábra b-g és i képei; II/6. ábra m és n képei* (tusfestés)*; II/10. ábra képei*

áteső fény, fáziskontraszt: *II/4. ábra képei; II/5. ábra a és h képei; II/6. ábra a-c, e, f, j, k, p, r és u képei; M/2. ábra A képsorozat;* F*/2. ábra b kép*

epifluoreszcens: *II/7. ábra a kép (kék gerjesztőfénnyel); II/13. ábra képei;* F*/2. ábra c, d és e képei (vörös gerjesztő-fénnyel)*

Elektronmikroszkópos felvételek

TEM: *II/2. ábra; II/6. ábra d, g, i, l, o, q, s, t és v képei; II/7. ábra b kép, II/9. ábra képei; M/2. ábra B és C képsorozat;* F*/1. ábra;* F*/2. ábra a kép*

SEM: *II/6. ábra h kép*

Valamennyi ábra saját szerkesztés a megadott források, *ill.* saját adatok alapján.

HIVATKOZÁSOK JEGYZÉKE

Abed RMM, Schönhuber W, Amann R, Garcia-Pichel F. 2002. Picobenthic cyanobacterial populations revealed by 16S rRNA-targeted *in situ* hybridization. *Environ. Microbiol.* 4: 375-382.

Acinas SG, Klepac-Ceraj V, Hunt DE, Pharino C, Ceraj I, Distel DL, Polz MF. 2004. Fine-scale phylogenetic architecture of a complex bacterial community. *Nature* 430: 551-554.

Agawin NSR, Duarte CM Agustí S. 2000. Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. *Limnol. Oceanogr.* 45: 591-600.

Agustí S. 1991. Allometric scaling of light absorption and scattering by phytoplankton cells. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 763-767.

Ahlgren NA, Rocap G. 2006. Culture isolation and culture-independent clone libraries reveal new marine *Synechococcus* ecotypes with distinctive light and N phylogenies. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 7193-7204.

Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402.

Amann RI, Zarda B, Stahl DA, Schleifer KH. 1992. Identification of individual prokaryotic cells by using enzyme-labeled, rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3007-3011.

Anderson LK, Rayner MC, Eiserling FA. 1984. Ultra-violet mutagenesis of *Synechococcus* sp. PCC 6701: mutations in chromatic adaptation and phycobilisome assembly. *Arch. Microbiol.* 138: 237-243.

Apt KE, Collier JL, Grossman AR. 1995. Evolution of the phycobiliproteins. *J. Mol. Biol.* 248: 79-96.

Badger MR, Price GD. 2003. CO_2 concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution. *J. Experimental Bot.* 54: 609-622.

Bailey-Watts AE, Bindloss ME, Belcher JH. 1968. Freshwater primary production by a blue-green alga of bacterial size. *Nature* 220: 1344-1345.

Becker S, Fahrbach M, Böger P, Ernst A. 2002. Quantitative tracing, by *Taq* nuclease assays, of a *Synechococcus* ecotype in a highly diversified natural population. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 4486-4494.

Becker S, Singh AK, Postius C, Böger P, Ernst A. 2004. Genetic diversity and distribution of periphytic *Synechococcus* spp. in biofilms and picoplankton of Lake Constance. *FEMS Microbiol. Ecol.* 49: 181-190.

Becker S, Richl P, Ernst A. 2007. Seasonal and habitat-related distribution pattern of *Synechococcus* genotypes in Lake Constance. *FEMS Microbiol. Ecol.* 62: 64-77.

Bell T, Kalff J. 2001. The contribution of picophytoplankton in marine and freshwater systems of different trophic status and depth. *Limnol. Oceanogr.* 46: 1243-1248.

Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Wheeler DL. 2006. GenBank. *Nucleic Acids Res.* 34: D16-D20.

Bergeron M, Vincent WF. 1997. Microbial food web responses to phosphorus and solar UV radiation in a subarctic lake. *Aquat. Microb. Ecol.* 12: 239-249.

Bibby TS, Nield J, Barber J. 2001a. Iron deficiency induces the formation of an antenna ring around trimeric photosystem I in cyanobacteria. *Nature* 412: 743-745.

Bibby TS, Nield J, Partensky F, Barber J. 2001b. Oxyphotobacteria. Antenna ring around photosystem I. *Nature* 413: 590.

Biegala IC, Not F, Vaulot D, Simon N. 2003. Quantitative assessment of picoeucaryotes in the natural environment using taxon specific oligonucleotide probes in association with TSA-FISH (tyramide signal amplification-fluorescent *in situ* hybridization) and flow cytometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 5519-5529.

Biegala IC, Raimbault P. 2008. High abundance of diazotrophic picocyanobacteria (< 3 μm) in a Southwest Pacific coral lagoon. *Aquat. Microb. Ecol.* 51: 45-53.

Bird DJ, Kalff J. 1987. Algal phagotrophy: regulating factors and importance relative to photosynthesis in *Dinobryon* (Chrysophyceae). *Limnol. Oceanogr.* 32: 277-284.

Boekema EJ, Hifney A, Yakushevska AE, Piotrowski M, Keegstra W, Berry S, Michel KP, Pistorius EK, Kruip J. 2001. A giant chlorophyllprotein complex induced by iron deficiency in cyanobacteria. *Nature* 412: 745-748.

Bonnet S, Biegala IC, Dutrieux P, Slemons LO, Capone DG. 2009. Nitrogen fixation in the western equatorial Pacific: Rates, diazotrophic cyanobacterial size class distribution, and biogeochemical significance. *Global Biochem. Cycl.* 23: GB3012.

Boros E. 2007. Vízimadarak és fontosabb háttérváltozók szerepe fehér szikes vizek trofikus kapcsolataiban. Doktori értekezés, Debreceni Egyetem, TTK.

Boros E, Nagy T, Pigniczki C, Kotymán L, V.-Balogh K, Vörös L. 2008. The effect of aquatic birds on the nutrient load and water quality of soda pans in Hungary. *Acta Zool. Acad. Sci. Hung.* 54: 207-224.

Boros E. 2009. Szikes vizeink jelentősége, kutatása, védelme: az MHT Szikes Vízi Munkacsoportjának bemutatása. A Magyar Hidrológiai Társaság XXVII. Országos Vándorgyűlésén (Baja, 2009. július 1-3.) elhangzott előadás. (Az előadás anyaga elérhető: *http://www.hidrologia.hu/vandorgyules/27/dolgozatok/12szekcio.html*)

Bowyer JW, Skerman WBD. 1968. Production of axenic cultures of soil-borne and endophytic blue-green algae. *J. Gen. Microbiol.* 54: 299-306.

Brahamsha B. 1996. An abundant cell-surface polypeptide is required for swimming by the nonflagellated marine cyanobacterium *Synechococcus*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 93: 6504-6509.

Bricaud A, Bédhomme A-L, Morel A. 1988. Optical properties of diverse phytoplanktonic species: experimental results and theoretical interpretation. *J. Plankton Res.* 10: 851-873.

Brock TD. 1967. Microorganisms adapted to high temperatures. *Nature* 214: 882-885.

Budinoff CR, Hollibaugh JT. 2007. Ecophysiology of a Mono Lake picocyanobacterium. *Limnol. Oceanogr.* 52: 2484-2495.

Callieri C, Amicucci E, Bertoni R, Vörös L. 1996. Fluorometric characterization of two picocyanobacteria strains from lakes of different underwater light quality. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 81: 13-23.

Callieri C, Piscia R. 2002. Photosynthetic efficiency and seasonality of autotrophic picoplankton in Lago Maggiore after its recovery. *Freshwat. Biol.* 47: 941-956.

Callieri C, Stockner JG. 2002. Freshwater autotrophic picoplankton: a review. *J. Limnol.* 61: 1-14.

Callieri C, Moro S, Caravati E, Crosbie ND, Weisse T. 2005. Strain-specific photosynthetic response of freshwater picocyanobacteria. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 29: 777-782.

Callieri C, Corno G, Caravati E, Galafassi S, Bottinelli M, Bertoni R. 2007a. Photosynthetic characteristics and diversity of freshwater *Synechococcus* at two depths during different mixing conditions in a deep oligotrophic lake. *J. Limnol.* 66: 81-89.

Callieri C, Modenutti B, Queimaliños C, Bertoni R, Balseiro E. 2007b. Production and biomass of picophytoplankton and larger autotrophs in Andean ultraoligotrophic lakes: differences in light harvesting efficiency in deep layers. *Aquat. Ecol.* 41: 511-523.

Callieri C. 2008. Picophytoplankton in freshwater ecosystems: the importance of small-sized phototrophs. *Freshwat. Rev.* 1: 1-28.

Camacho A, Miracle MR, Vicente E. 2003. Which factors determine the abundance and distribution of picocyanobacteria in inland waters? A comparison among different types of lakes and ponds. *Arch. Hydrobiol.* 157: 321-338.

Campbell L, Carpenter EJ, Iacono VJ. 1983. Identification and enumeration of marine chroococcoid cyanobacteria by immunofluorescence. *Appl. Environ. Microbiol.* 46: 553-559.

Campbell L, Carpenter EJ. 1987. Characterization of phycoerythrin-containing *Synechococcus* spp. populations by immunofluorescence. *J. Plankton Res.* 9: 1167-1181.

Campbell L, Iturriaga R. 1988. Identification of *Synechococcus* spp. in the Sargasso Sea by immunofluorescence and fluorescence excitation spectra performed on individual cells. *Limnol. Oceanogr.* 33: 1196-1201.

Campbell L, Liu H, Nolla HA, Vaulot D. 1997. Annual variability of phytoplankton and bacteria in the subtropical North Pacific Ocean at Station ALOHA during the 1991–1994 ENSO event. *Deep Sea Res. I.* 44: 167-192.

Caravati E, Callieri C, Modenutti B, Corno G, Balseiro E, Bertoni R, Michaud L. 2010. Picocyanobacterial assemblages in ultraoligotrophic Andean lakes reveal high regional microdiversity. *J. Plankton Res.* 32: 357-366.

Carr NG, Mann NH. 1994. The oceanic cyanobacterial picoplankton. *In:* The Molecular Biology of Cyanobacteria (*Ed:* Bryant DA). Kluwer Academic Publishers, pp. 27-48.

Carrick HJ, Schelske CL. 1997. Have we overlooked the importance of small phytoplankon in productive waters? *Limnol. Oceanogr.* 42: 1613-1621.

Casamayor EO, Pedrós-Alió C, Muyzer G, Amann R. 2002. Microheterogeneity in 16S ribosomal DNA-defined bacterial populations from a stratified planktonic environment is related to temporal changes and to ecological adaptations. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1706-1714.

Castenholz RW, Waterbury JB. 1989. Oxygenic photosynthetic bacteria. Group I. Cyanobacteria. *In:* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 3. (*Eds:* Stanley JT, Bryant MP, Pfennig N, Holt JG) Williams and Wilkins. pp. 1710-1728.

Castenholz RW, Norris TB. 2005. Revisionary concepts of species in the Cyanobacteria and their applications. *Algol. Stud.* 117: 53-69.

Chen F, Wang K, Kan J, Bachoon DS, Lu J, Lau S, Campbell L. 2004. Phylogenetic diversity of *Synechococcus* in the Chesapeake Bay revealed by Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase (RuBisCO) large subunit gene (*rbcL*) sequences. *Aquat. Microb. Ecol.* 36: 153-164.

Chen F, Wang K, Kan J, Suzuki M, Wommack KE. 2006. Diverse and unique picocyanobacteria in Chesapeake Bay, revealed by 16S-23S rRNA Internal Transcribed Spacer sequences. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 2239-2243.

Chisholm SW, Olson RJ, Zettler ER, Goericke R, Waterbury J, Welschmeyer NA. 1988. A novel free-living prochlorophyte abundant in the oceanic euphotic zone. *Nature* 334: 340-343.

Christaki U, Vazquez-Dominguez E, Courties C, Lebaron P. 2005. Grazing impact of different heterotrophic nanoflagellates on eukaryotic (*Ostreococcus tauri*) and prokaryotic picoautotrophs (*Prochlorococcus* and *Synechococcus*). *Environ. Microbiol.* 7: 1200-1210.

Christoffersen K. 1994. Variation of feeding activities of heterotrophic nanoflagellates on picoplankton. *Mar. Microb. Food-Web* 8: 111-123.

Chun J, Lee JH, Jung Y, Kim M, Kim S, Kim BK, Lim YW. 2007. EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 2259-2261.

Clark LL, Ingall ED, Benner R. 1998. Marine phosphorus is selectively remineralized. *Nature* 393: 426.

Clokie MRJ, Mann NH. 2006. Marine cyanophages and light. *Environ. Microbiol.* 8: 2074-2082.

Cole JR, Chai B, Marsh TL, Farris RJ, Wang Q, Kulam SA, Chandra S, McGarrell DM, Schmidt TM, Garrity GM, Tiedje JM. 2003. The Ribosomal Database Project (RDP-II): previewing a new autoaligner that allows regular updates and the new prokaryotic taxonomy. *Nucleic Acids Res.* 31: 442-443.

Corzó A, Jiménez-Gómez F, Gordilllo F, García-Ruíz R, Niell F. 1999. *Synechococcus* and Prochlorococcus-like populations detected by flow cytometry in a eutrophic reservoir in summer. *J. Plankton Res.* 21: 1575-1581.

Countway PD, Caron DA. 2006. Abundance and distribution of *Ostreococcus* sp. in the San Pedro Channel, California, as revealed by quantitative PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 2496-2506.

Courties C, Vaquer A, Trousselier M, Lautier J, Chrétiennot-Dinet MJ, Neveux J, Machado C, Claustre H. 1994. Smallest eukaryotic organism. *Nature* 370: 255.

Crosbie ND, Pöckl M, Weisse T. 2003a. Dispersal and phylogenetic diversity of nonmarine picocyanobacteria, inferred from 16S rRNA gene and *cpcBA*-intergenic spacer sequence analyses. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 5716-5721.

Crosbie ND, Pöckl M, Weisse T. 2003b. Rapid establishment of clonal isolates of freshwater autotrophic picoplankton by single-cell and single-colony sorting. *J. Microbiol. Meth.* 55: 361-370.

Crosbie ND, Teubner K, Weisse T. 2003c. Flow-cytometric mapping provides novel insights into the seasonal and vertical distributions of freshwater autotrophic picoplankton. *Aquat. Microb. Ecol.* 33: 53-66.

Daley RJ, Hobbie JE. 1975. Direct counts of aquatic bacteria by a modified epifluorescent technique. *Limnol. Oceanogr.* 20: 875-882.

Diaz M, Pedrozo F, Reynolds C, Temporetti P. 2007. Chemical composition and the nitrogen-regulated trophic state of Patagonian lakes. *Limnologica* 37: 17-27.

Díez B, Pedrós-Alió C, Marsh TL, Massana R. 2001. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to study the diversity of marine picoeukaryotic assemblages and comparison of DGGE with other molecular techniques. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 2942-2951.

Dillon A, Parry JD 2008. Characterization of temperate cyanophages active against phycocyanin-rich *Synechococcus* species. *Freshwat. Biol.* 53: 1253-1261.

Dinka M, Ágoston-Szabó E. 2004. A vízkémiai paraméterek térbeli alakulása a Fertőn. *Hidrol. Közl.* 84: 31-33.

Dinka M, Ágoston-Szabó E, Berczik Á, Kutrucz Gy. 2004. Influence of water level fluctuation on the spatial dynamic of the water chemistry at Lake Fertő/Neusiedler See. *Limnologica* 34: 48-56.

Dinka M, Ágoston-Szabó E, Kiss A, Schöll K. 2009. A Fertő magyar tórészének térbeli eltérései a vízkémiai jellemzők és a zooplankton együttesek alapján. A Magyar Hidrológiai Társaság XXVII. Országos Vándorgyűlésén (Baja, 2009. július 1-3.) elhangzott előadás. (Az előadás anyaga elérhető: *http://www.hidrologia.hu/vandorgyules/27/dolgozatok/12szekcio.html*)

Dittrich M, Kurz P, Wehrli B. 2004. The role of autotrophic picocyanobacteria in calcite precipitation in an oligotrophic lake. *Geomicrobiol. J.* 21: 45-53.

Dokulil M, Padisák J. 1994. Long-term compositional response of phytoplankton in a shallow, turbid environment, Neusiedlersee (Austria/Hungary). *Hydrobiologia* 275/276: 125-137.

Dufresne A, Garczarek L, Partensky F. 2005. Accelerated evolution associated with genome reduction in a free-living prokaryote. *Genome Biol.* 6: R14.

Duleba M, Felföldi T, Somogyi B, Vajna B, Vörös L, Márialigeti K. 2008. A balatoni pikoalgák diverzitásának vizsgálata molekuláris módszerekkel. *Hidrol. Közl.* 88: 47-50.

DuRand MD, Olson RJ, Chisholm SW. 2001. Phytoplankton population dynamics at the Bermuda Atlantic time series station in the Sargasso Sea. *Deep Sea Res. II* 48: 1983-2003.

Eiler A, Farnleitner AH, Zechmeister TC, Herzig A, Hurban C, Wesner W, Krachler R, Velimirov B, Kirschner AK. 2003. Factors controlling extremely productive heterotrophic bacterial communities in shallow soda pools. *Microb. Ecol.* 46: 43-54.

Eiler A, Bertilsson S. 2004. Composition of freshwater bacterial communities associated with cyanobacterial blooms in four Swedish lakes. *Environ. Microbiol.* 6: 1228-1243.

Elliott RJ, Porter AG. 1971. A rapid cadmium reduction method for the determination of nitrate in bacon and curing brines. *The Analyst* 96: 522-527.

Ernst A. 1991. Cyanobacterial picoplankton from Lake Constance. I. Isolation by fluorescence characteristics. *J. Plankton Res.* 13: 1307-1312.

Ernst A, Postius C, Böger P. 1996. Glycosylated surface proteins reflect genetic diversity among *Synechococcus* species of Lake Constance. *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Adv. Limnol.* 48: 1-6.

Ernst A, Becker S, Hennes K, Postius C. 2000. Is there a succession in the autotrophic picoplankton of temperate zone lakes? *In:* Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology (*Eds:* Bell CR, Brylinski M, Johnson-Green P). Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada. pp. 623-629.

Ernst A., Becker S, Wollenzien UI, Postius C. 2003. Ecosystem-dependent adaptive radiations of picocyanobacteria interred from 16S rRNA and ITS-1 sequence analysis. *Microbiol.* 149: 217-288.

Ernst A, Deicher M, Herman PM, Wollenzien UI 2005. Nitrate and phosphate affect cultivability of cyanobacteria from environments with low nutrient levels. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 3379-3383.

Everroad RC, Wood AM. 2006. Comparative molecular evolution of newly discovered picocyanobacterial strains reveals a phylogenetically informative variable region of beta-phycoerythrin. *J. Phycol.* 42: 1300-1311.

Everroad C, Six C, Partensky F, Thomas J-C, Holtzendorff J, Wood AM. 2006. Biochemical bases of type IV chromatic adaptation in marine *Synechococcus* spp. *J. Bacteriol.* 188: 3345-3356.

Fahnenstiel GL, Carrick HJ. 1992. Phototrophic picoplankton in Lakes Huron and Michigan: abundance, distribution and contribution to biomass and production. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49: 379-388.

Fagerbakke KM, Heldal M, Norland S. 1996. Content of carbon, nitrogen, oxygen, sulfur and phosphorus in native aquatic and cultured bacteria. *Aquat. Microb. Ecol.* 10: 15-27.

Fawley MW, Fawley KP, Buchheim MA. 2004. Molecular diversity among communities of freshwater microchlorophytes. *Microb. Ecol.* 48: 489-499.

Fawley MW, Fawley KP, Owen HA. 2005. Diversity and ecology of small coccoid green algae from Lake Itasca, Minnesota, USA, including *Meyerella planktonica*, gen. et sp. nov. *Phycologia* 44: 35-48.

Fawley KP, Fawley MW. 2007. Observations on the diversity and ecology of freshwater *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae), with descriptions of new taxa. *Protist* 158: 325-336.

Feid J. 2002. A pikoplankton részesedése a fitoplanktonból a Duna gödi szakaszán. Szakdolgozat. Eötvös Loránd Tudományegyetem TTK, Mikrobiológiai Tanszék.

Felföldi T, Somogyi B, Márialigeti K, Vörös L. 2008. Duna-Tisza közi szikes tavak pikoplanktonjának molekuláris biológiai jellemzése. *Hidrol. Közl.* 88: 55-57.

Felföldi T. 2009. Szikes tavaink pikoalgáinak biodiverzitása. A Magyar Hidrológiai Társaság XXVII. Országos Vándorgyűlésén (Baja, 2009. július 1-3.) elhangzott előadás. (Az előadás anyaga elérhető: *http://www.hidrologia.hu/vandorgyules/27/ dolgozatok/12szekcio.html*)

Felföldi T, Somogyi B, Márialigeti K, Vörös L. 2009a. Characterization of photoautotrophic picoplankton assemblages in turbid, alkaline lakes of the Carpathian Basin (Central Europe). *J. Limnol.* 68: 385-395.

Felföldi T, Somogyi B, Vörös L, Márialigeti K. 2009b. A fotoszintetikus gének szerepe a pikoalgák molekuláris azonosításában és diverzitásuk vizsgálatában. *Hidrol. Közl.* 89: 105-109.

Felföldi T, Somogyi B, Vörös L, Vida M, Márialigeti K. 2010. Molekuláris biológiai módszerek alkalmazásának lehetőségei sekély tavaink mikroszkopikus méretű eukariótáinak azonosításában *Hidrol. Közl.* (nyomtatásban)

Ferris MJ, Hirsch CF. 1991. Method for isolation and purification of Cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 1448-1452.

Ferris MJ, Ward DM. 1997. Seasonal distributions of dominant 16S rRNA-defined populations in a hot spring microbial mat examined by denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 1375-1381.

Ferris MJ, Palenik B. 1998. Niche adaptation in ocean cyanobacteria. *Nature* 396: 226-228.

Fietz S, Bleiß W, Hepperle D, Koppitz H, Krienitz L, Nicklisch A. 2005. First record of *Nannochloropsis limnetica* (Eustigmatophyceae) in the autotrophic picoplankton from Lake Baikal. *J. Phycol.* 41: 780-790.

Finlay B, Clark K. 1999. Ubiquitous dispersal of microbial species. *Nature* 400: 828.

Finlay B. 2002. Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296: 1061-1063.

Foster RA, Carpenter EJ, Bergman B. 2006a. Unicellular cyanobionts in open ocean dinoflagellates, radiolarians, and tintinnids: Ultrastructural characterization and immuno-localization of phycoerythrin and nitrogenase. *J. Phycol.* 42: 453-463.

Foster RA, Collier JL, Carpenter EJ. 2006b. Reverse transcription PCR amplification of cyanobacterial symbiont 16S rRNA sequences from single non-photosynthetic eukaryotic marine planktonic host cells. *J. Phycol.* 42: 243-250.

Frias-Lopez J, Thompson A, Waldbauer J, Chisholm SW. 2009. Use of stable isotope-labelled cells to identify active grazers of picocyanobacteria in ocean surface waters. *Environ. Microbiol.* 11: 512-525.

Fuhrman J. 2003. Genome sequences from the sea. *Nature* 424: 1001-1002.

Fuller NJ, Marie D, Partensky F, Vaulot D, Post AF, Scanlan DJ. 2003. Clade-specific 16S ribosomal DNA oligonucleotides reveal the predominance of a single marine *Synechococcus* clade throughout a stratified water column in the Red Sea. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 2430-2443.

Fuller NJ, West NJ, Marie D, Yallop M, Rivlin T, Post AF, Scanlan DJ. 2005. Dynamics of community structure and phosphate status of picocyanobacterial populations in the Gulf of Aqaba, Red Sea. *Limnol. Oceanogr.* 50: 363-375.

Fuller NJ, Tarran GA, Yallop M, Orcutt KM, Scanlan DJ. 2006a. Molecular analysis of picocyanobacterial community structure along an Arabian Sea transect reveals distinct spatial separation of lineages. *Limnol. Oceanogr.* 51: 2515-2526.

Fuller NJ, Campbell C, Allen DJ, Pitt FD, Zwirglmaier K, Le Gall F, Vaulot D, Scanlan DJ. 2006b. Analysis of photosynthetic picoeukaryote diversity at open ocean sites in the Arabian Sea using a PCR biased towards marine algal plastids. *Aquat. Microb. Ecol.* 43: 79-93.

Gaedke U, Weisse T. 1998. Seasonal and interannual variability of picocyanobacteria in Lake Constance. *Arch. Hydrobiol.* 53: 143-158.

Giovannoni SJ, Turner S, Olsen GJ, Barns S, Lane DJ, Pace NR. 1988. Evolutionary relationships among Cyanobacteria and green chloroplasts. *J. Bacteriol.* 170: 3584-3592.

Goldman JC. 1986. On phytoplankton growth rates and particulate C:N:P ratios at low light. *Limnol. Oceanogr.* 31: 1358-1363.

Gradinger R, Lenz J. 1995. Seasonal occurrence of picocyanobacteria in the Greenland Sea and central Arctic Ocean. *Polar Biol.* 15: 447-452.

Grobbelaar N, Huang T-C, Lin H-Y, Chow T-J. 1986. Dinitrogen-fixing endogenous rhythm in *Synechococcus* RF-1. *FEMS Microbiol. Lett.* 37: 173-177.

Grossman AR, Schaefer MR, Chiang GG, Collier JL. 1993. The phycobilisome, a light-harvesting complex responsive to environmental conditions. *Microbiol. Rev.* 57: 725-749.

Guglielmi G, Cohen-Bazire G, Bryant DA. 1981. The structure of *Gloeobacter violaceus* and its phycobilisomes. *Arch. Microbiol.* 129: 181-189.

Guillou L, Jacquet S, Chretiennot-Dinet MJ, Vaulot D. 2001. Grazing impact of two small heterotrophic flagellates on *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *Aquat. Microb. Ecol.* 26: 201-207.

Hamilton AK, Lovejoy C, Galand PE, Ingram RG. 2008. Water masses and biogeography of picoeukaryote assemblages in a cold hydrographically complex system. *Limnol. Oceanogr.* 53: 922-935.

Hammer T. 1986. Saline lake ecosystems of the world. Dr W. Junk. Publishers.

Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: art. 4.

Hanagata N, Karube I, Chihara M, Silva PC. 1998. Reconsideration of the taxonomy of ellipsoidal species of *Chlorella* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), with establishment of *Watanabea* gen. nov. *Phycol. Res.* 46: 221-229.

Hanagata N, Malinsky-Russhansky N, Dubinsky Z. 1999. Eukaryotic picoplankton, *Mychonastes homosphaera* (Chlorophyceae, Chlorophyta) in Lake Kinneret, Israel. *Phycol. Res.* 47: 263-269.

Hardin G. 1960. The competitive exclusion principle. *Science* 131: 1292-1298.

Hart RC. 1988. Zooplankton feeding rates in relation to suspended sediment content: potential influences on community structure in a turbid reservoir. *Freshwat. Biol.* 19: 123-139.

Haverkamp T, Acinas SG, Doeleman M, Stomp M, Huisman J, Stal LJ. 2008. Diversity and phylogeny of Baltic Sea picocyanobacteria inferred from their ITS and phycobiliprotein operons. *Environ. Microbiol.* 10: 174-188.

Haverkamp T, Schouten D, Doeleman M, Wollenzien U, Huisman J, Stal LJ. 2009. Colorful microdiversity of *Synechococcus* strains (picocyanobacteria) isolated from the Baltic Sea. *The ISME Journal.* 3: 397-408.

Henley WJ, Hironaka JL, Guillou L, Buchheim MA, Buchheim JA, Fawley MW, Fawley KP. 2004. Phylogenetic analysis of the 'Nannochloris-like' algae and diagnoses of *Picochlorum oklahomensis* gen. et sp. nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *Phycologia* 43: 641-652.

Hepperle D, Krienitz L. 2001. Systematics and ecology of chlorophyte picoplankton in German inland waters along a nutrient gradient. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 86: 269-284.

Hepperle D, Schlegel I. 2002. Molecular diversity of eukaryotic picoalgae from three lakes in Switzerland. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 87: 1-10.

Herdman M, Castenholz RW, Iteman I, Waterbury JB, Rippka R. 2001. Subsection I. (Formerly Chroococcales Wettstein 1924, emend. Rippka, Deruelles, Waterbury, Herdman and Stanier 1979). *In:* Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1. The archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria (*Eds:* Boone DR, Castenholz RW, Garrity GM). Springer. pp. 493-514.

Herodek S. 1984. The eutrophication of Lake Balaton: Measurements, modelling and management. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 22: 1087-1091.

Hess WR, Steglich C, Lichtlé C, Partensky F. 1999. Phycoerythrins of the oxyphotobacterium *Prochlorococcus marinus* are associated to the thylakoid membrane and are encoded by a single large gene cluster. *Plant. Mol. Biol.* 40: 507-521.

Hess WR, Rocap G, Ting CS, Larimer F, Stilwagen S, Lamerdin J, Chisholm SW. 2001. The photosynthetic apparatus of *Prochlorococcus*: Insights through comparative genomics. *Photosynth. Res.* 70: 53-72.

Hindák F. 1982. Taxonomic position of the chlorococcal alga *Chlorella zofingiensis* DÖNZ 1934 (Chlorophyceae). *Algol. Stud.* 30: 13-23.

Honda D, Yokota A, Sugiyama J. 1999. Detection of seven major evolutionary lineages in cyanobacteria based on the 16S rRNA gene sequence analysis with new sequences of five marine *Synechococcus* strains. *J. Mol. Evol.* 48: 723-739.

Huber JA, Morrison HG, Huse SM, Neal PR, Sogin ML, Welch DBM. 2009. Effect of PCR amplicon size on assessments of clone library microbial diversity and community structure. *Environ. Microbiol.* 11: 1292-1302.

Huisman J, Weissing FJ. 1999. Biodiversity of plankton by species oscillations and chaos. *Nature* 402: 407-410.

Huss VAR, Frank C, Hartmann EC, Hirmer M, Kloboucek A, Seidel BM, Wenzeler P, Kessler E. 1999. Biochemical taxonomy and molecular phylogeny of the genus *Chlorella* sensu lato (Chlorophyta). *J. Phycol.* 35: 587-598.

Hutchinson GE. 1961. The paradox of the plankton. *Am. Nat.* 95: 137-145.

Ivanikova NV, Popels LC, McKay ML, Bullerjahn GS. 2007. Lake Superior supports novel clusters of cyanobacterial picoplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 4055-4065.

Jansson M, Olsson H, Petterson K. 1988. Phosphates; origin, characteristic and function in lakes. *Hydrobiologia* 170: 157-175.

Jezberová J, Komárková J. 2007a. Morphological transformation in a freshwater *Cyanobium* sp. induced by grazers. *Environ. Microbiol.* 9: 1858-1862.

Jezberová J, Komárková J. 2007b. Morphometry and growth of three *Synechococcus*-like picoplanktic cyanobacteria at different culture conditions. *Hydrobiologia.* 578: 17-27.

Jing HM, Zhang R, Pointing SB, Liu HB, Qian P. 2009. Genetic diversity and temporal variation of the marine *Synechococcus* community in the subtropical coastal waters of Hong Kong. *Can. J. Microbiol.* 55: 311-318.

Johnson PW, Sieburth JM. 1979. Chroococcoid cyanobacteria in the sea: A ubiquitous and diverse phototrophic biomass. *Limnol. Oceanogr.* 24: 928-935.

Johnson PW, Sieburth JM. 1982. *In situ* morphology and occurrence of eukaryotic phototrophs of bacterial size in the picoplankton of estuarine and oceanic waters. *J. Phycol.* 18: 318-327.

Johnson ZI, Zinser ER, Coe A, McNulty NP, Woodward EMS, Chisholm SW. 2006. Niche partitioning among *Prochlorococcus* ecotypes along ocean-scale environmental gradients. *Science* 311: 1737-1740.

Junier P, Witzel K-P, Hadas O. 2007. Genetic diversity of cyanobacterial communities in Lake Kinneret (Israel) using 16S rRNA gene, *psbA* and *ntcA* sequence analyses. *Aquat. Microb. Ecol.* 49: 233-241.

Kákonyi Á. 2009. Szikes tavak a Duna-Tisza közén. A Magyar Hidrológiai Társaság XXVII. Országos Vándorgyűlésén (Baja, 2009. július 1-3.) elhangzott előadás. (Az előadás anyaga elérhető: *http://www.hidrologia.hu/vandorgyules/27/dolgozatok/12szekcio.html*)

Kalina T, Punčochářová M. 1987. Taxonomy of the subfamily Scotiellocystoideae Fott 1976 (Chlorellaceae, Chlorophyceae). *Algol. Stud.* 45: 473-521.

Kana TM, Glibert PM. 1987. Effect of irradiances up to 2000 μE m^{-2} s^{-1} on marine *Synechococcus* WH7803 – II. Photosynthetic responses and mechanisms. *Deep Sea Res.* 34: 497-516.

Katano T, Fukui M, Watanabe Y. 2001. Identification of cultured and uncultured picocyanobacteria from a mesotrophic freshwater lake based on the partial sequences of 16S rDNA. *Limnology* 2: 213-218.

Katano T, Nakano S, Ueno H, Mitamura O, Anbutsu K, Kihira M, Satoh Y, Drucker V Sugiyama M. 2005. Abundance, growth and grazing loss rates of picophytoplankton in Barguzin Bay, Lake Baikal. *Aquat. Ecol.* 39: 431-438.

Katano T, Nakano S, Mitamra O, Yoshida H, Azumi H, Matsuura Y, Tanaka Y, Maezono H, Satoh Y, Satoh T, Sugiyama Y, Watanabe Y, Mimura T, Akagashi Y, Machida H, Drucker VV, Tikhonova I, Belykh O, Fialkov VA, Han M-S, Kang, S-H, Sugiyama M. 2008. Abundance and pigment type composition of picocyanobacteria in Barguzin Bay, Lake Baikal. *Limnology* 9: 105-114.

Kawachi M, Inouye I, Honda D, O'Kelly CJ, Bailey JC, Bidigare RR, Andersen RA. 2002. The Pinguiophyceae classis nova, a new class of photosynthetic stramenopiles whose members produce large amounts of omega-3 fatty acids. *Phycol. Res.* 50: 31-47.

Kessler E, Schäfer M, Hümmer C, Kloucek A, Huss VAR. 1997. Physiological, biochemical and molecular characters for the taxonomy of the subgenera of *Scenedesmus* (Chlorococcales, Chlorophyta). *Botanica Acta* 110: 244-250.

Kirk JTO. 1994. Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems. Cambridge University Press.

Kisand V, Wikner J. 2003. Limited resolution of 16S rDNA DGGE caused by melting properties and closely related DNA sequences. *J. Microbiol. Meth.* 54: 183-191.

Komárek J, Kopecký J, Cepák V. 1999. Generic characters of the simplest cyanoprokaryotes *Cyanobium*, *Cyanobacterium* and *Synechococcus*. *Cryptogamie Algol.* 20: 209-222.

Komárková J, Jezberová J, Komárek O, Zapomělová E. 2010. Variability of *Chroococcus* (Cyanobacteria) morphospecies with regard to phylogenetic relationships. *Hydrobiolgia* 639: 69-83.

Koncz E, Vörös L. 1998. Diverz pikoplankton együttesek a Balatonban. *Hidrol. Közl.* 78: 387-389.

Krienitz L, Huss VAR, Hümmer C. 1996. Picoplanktonic *Choricystis* species (Chlorococcales, Chlorophyta) and the problems surrounding the morphologically similar 'Nannochloris-like algae'. *Phycologia* 35: 332-341.

Krienitz L, Takeda H, Hepperle D. 1999. Ultrastructure, cell wall composition, and phylogenetic position of *Pseudodictyosphaerium jurisii* (Chlorococcales, Chlorophyta) including a comparison with other picoplanktonic green algae. *Phycologia* 38: 100-107.

Krienitz, L, Hepperle D, Stich H-B, Weiler W. 2000. *Nannochloropsis limnetica* (Eustigmatophyceae), a new species of picoplankton from freshwater. *Phycologia* 39: 219-227.

Krienitz L, Hegewald EH, Hepperle D, Huss VAR, Rohr T, Wolf M. 2004. Phylogenetic relationship of *Chlorella* and *Parachlorella* gen. nov. (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Phycologia* 43: 529-542.

Kühl M, Chen M, Ralph PJ, Schreiber U, Larkum AWD. 2005. A niche for cyanobacteria containing chlorophyll d. *Nature* 433: 820.

Lane DJ. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. *In:* Nucleic acid techniques in bacterial systematics (*Eds:* Stackebrandt E, Goodfellow M). John Wiley and Sons. pp. 115-175.

Láng F. 1998. Növényélettan – A növényi anyagcsere. ELTE Eötvös Kiadó.

Le Gall F, Rigaut-Jalabert F, Marie D, Garczareck L, Viprey M, Godet A, Vaulot D. 2008. Picoplankton diversity in the South-East Pacific Ocean from cultures. *Biogeosciences* 5: 203-214.

Legendre L, Gosselin M, Hirsch HJ, Katner G, Rosenberg G. 1993. Environmental control and potential fate of size-fractionated phytoplankton production in the Greenland Sea (75 °N). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 98: 297-313.

Le Moal M, Biegala IC. 2009. Diazotrophic unicellular cyanobacteria in the northwestern Mediterranean Sea: A seasonal cycle. *Limnol. Oceanogr.* 54: 845-855.

Leppard GG, Urciuoli D, Pick FR. 1987. Characterization of cyanobacterial picoplankton in Lake Ontario by transmission electron microscopy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44: 2173-2177.

Lewin RA, Krienitz L, Goericke R, Takeda H, Hepperle D. 2000. *Picocystis salinarum* gen. et sp. nov. (Chlorophyta) – a new picoplanktonic green alga. *Phycologia* 39: 560-565.

Li WKW, Subba Rao DV, Harrison WG, Smith JC, Cullen JJ, Irwin B, Platt T. 1983. Autotrophic picoplankton in the tropical ocean. *Science* 219: 292-295.

Li WKW, Wood AM. 1988. Vertical distribution of North Atlantic ultraphytoplankton: analysis by flow cytometry and epifluorescence microscopy. *Deep Sea Res. Part A* 35: 1615-1638.

Li WKW 1990. Particles in "particle-free" seawater: growth of ultraphytoplankton and implications for dilution experiments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47: 1258-1268.

Lindell D, Post AF. 1995. Ultraphytoplankton succession is triggered by deep winter mixing in the Gulf of Aqaba (Eilat), Red Sea. *Limnol. Oceanogr.* 40: 1130-1141.

Ludwig W, Strunk O, Klugbauer S, Klugbauer N, Weizenegger M, Neumaier J, Bachleitner M, Schleifer KH. 1998. Bacterial phylogeny based on comparative sequence analysis. *Electrophoresis* 19: 554-568.

Luo W, Pröschold T, Bock C, Krienitz L. 2010. Generic concept in Chlorella-related coccoid green algae (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Plant Biol.* 12: 545-553.

MacIsaac EA, Stockner JG. 1993. Enumeration of phototrophic picoplankton by autofluorescence microscopy. *In:* The handbook of methods in aquatic microbial ecology (*Eds:* Kemp PF, Sherr BF, Sherr EB, Cole JJ). CRC Press. pp. 187-197.

Mackereth FJH, Heron J, Talling JF. 1989. Water analysis: some revised methods for limnologists. Freshwater Biological Association Scientific Publication No. 36 (Ambleside).

Maeda H, Kawai A, Tilzer MM. 1992. The water bloom of cyanobacterial picoplankton in Lake Biwa, Japan. *Hydrobiologia* 248: 93-103.

Malinsky-Rushansky N, Berman T, Dubinsky Z. 1995. Seasonal dynamics of picophytoplankton in Lake Kinneret, Israel. *Freshwat. Biol.* 34: 241-254.

Malinsky-Rushansky N, Berman T, Dubinsky Z. 1997. Seasonal photosynthetic activity of autotrophic picoplankton in Lake Kinneret, Israel. *J. Plankton Res.* 19: 979-993.

Malinsky-Rushansky N, Berman T, Berner T, Yacobi YZ, Dubinsky Z. 2002. Physiological characteristics of picophytoplankton, isolated from Lake Kinneret: response to light and temperature. *J. Plankton Res.* 24: 1173-1183.

Mann E, Chisholm SW. 2001. Iron limits the cell division rate of *Prochlorococcus* in the Eastern Equatorial Pacific. *Limnol. Oceanogr.* 45: 1067-1076.

Mann NH, Cook A, Millard A, Bailey S, Clokie M. 2003. Marine ecosystems: Bacterial photosynthesis genes in a virus. *Nature* 424: 741.

Mann NH, Clokie MR, Millard A, Cook A, Wilson WH, Wheatley PJ, Letarov A, Krisch HM. 2005. The genome of S-PM2, a "photosynthetic" T4-type bacteriophage that infects marine *Synechococcus* strains. *J. Bacteriol.* 187: 3188-3200.

Marchant HJ, Davidson AT, Wright SW. 1987. The distribution and abundance of chroococcoid cyanobacteria in the Southern Ocean. *Proc. NIPR Symp. Polar Biol.* 1: 1-9.

Marbouty M, Mazouni K, Saguez C, Cassier-Chauvat C, Chauvat F. 2009. Characterization of the *Synechocystis* PCC6803 penicillin-binding proteins and cytokinetic proteins FtsQ and FtsW, and their network of interactions with ZipN. *J. Bacteriol.* 191: 5123-5133.

Martin JH, Coale KH, Johnson KS, Fitzwater SE, Gordon RM, Tanner SJ, Hunter CN, Elrod VA, Nowicki JL, Coley TL, Barber RT, Lindley S, Watson AJ, Van Scoy K, Law CS, Liddicoat MI, Ling R, Stanton T, Stockel J, Collins C, Anderson A, Bidigare R, Ondrusek M, Latasa M, Millero FJ, Lee K, Yao W, Zhang JZ, Friederich G, Sakamoto C, Chavez F, Buck K, Kolber Z, Greene R, Falkowski P, Chisholm SW, Hoge F, Swift R, Yungel J, Turner S, Nightingale P, Hatton A, Liss P, Tindale NW. 1994. Testing the iron hypothesis in ecosystems of the equatorial Pacific Ocean. *Nature* 371: 123-129.

Masquelier S, Vaulot D. 2008. Distribution of microorganisms along a transect in the South-East Pacific Ocean (BIOSOPE cruise) from epifluorescence microscopy. *Biogeosciences* 5: 311-321.

Mazard SL, Fuller NJ, Orcutt KM, Bridle O, Scanlan DJ. 2004. PCR analysis of the distribution of unicellular cyanobacterial diazotrophs in the Arabian Sea. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 7355-7364.

Medlin LK. 2007. If everything is everywhere, do they share a common gene pool? *Gene* 406: 180-183.

Millard A, Clokie MRJ, Shub DA, Mann NH. 2004. Genetic organisation of the *psbAD* region in phages infecting marine *Synechococcus*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 30: 11007-11012.

Miller SR, Castenholz RW. 2000. Evolution of thermotolerance in hot spring cyanobacteria of the genus *Synechococcus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 4222-4229.

Mills MM, Ridame C, Davey M, La Roche J, Geider RJ. 2004. Iron and phosphorous co-limit nitrogen-fixation in the eastern tropical North Atlantic. *Nature* 429: 292-294.

Moon-van der Staay SY, De Wachter R, Vaulot D. 2001. Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. *Nature* 409: 607-610.

Moore LR, Goericke R, Chisholm SW. 1995. The comparative physiology of *Synechococcus* and *Prochlorococcus* - influence of light and temperature on growth, pigments, fluorescence, and absorptive properties. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 116: 259-275.

Moore LR, Rocap G, Chisholm SW. 1998. Physiology and molecular phylogeny of coexisting *Prochlorococcus* ecotypes. *Nature* 393: 464-467.

Moore LR, Post AF, Rocap G, Chisholm SW. 2002. Utilization of different nitrogen sources by the marine cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *Limnol. Oceanogr.* 47: 989-996.

Moore LR, Ostrowski M, Scanlan DJ, Feren K, Sweetsir T. 2005. Ecotypic variation in phosphorus acquisition mechanisms within marine picocyanobacteria. *Aquat. Microb. Ecol.* 39: 257-269.

Morel A, Ahn Y-H, Partensky F, Vaulot D, Claustre H. 1993. *Prochlorococcus* and *Synechococcus*: a comparative study of their optical properties in relation to their size and pigmentation. *J. Mar. Res.* 51, 617-649.

Moser M, Callieri C, Weisse T. 2009. Photosynthetic and growth response of freshwater picocyanobacteria are strain-specific and sensitive to photoacclimation. *J. Plankton Res.* 31: 349-357.

Moutin T, Thingstad TR, Van Wambeke F, Marie D, Slawyk G, Raimbault P, Claustre H. 2002. Does competition for nanomolar phosphate supply explain the predominance of the cyanobacterium *Synechococcus*? *Limnol. Oceanogr.* 47: 1562-1567.

Mózes A, Vörös L. 2004. Különleges pikoplankton együttesek a befagyott Balatonban. *Hidrol. Közl.* 84: 85-87.

Mózes A, Présing M, Vörös L. 2005. Pikoeukarióták és pikocianobaktériumok a Balaton fitoplanktonjában. *Hidrol. Közl.* 85: 97-99.

Mózes A, Présing M, Vörös L. 2006. Seasonal dynamics of picocyanobacteria and picoeukaryotes in a large shallow lake (Lake Balaton, Hungary). *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 91: 38-50.

Mózes A, Kiss B, Vörös L. 2007. Feltűnő pikoplankton szegénység folyó vizekben. *Hidrol. Közl.* 87: 101-103.

Mózes A. 2008. Pikoplankton a trofikus gradiens mentén. Doktori értekezés. Eötvös Loránd Tudományegyetem TTK.

Mózes A, Kiss KT, Vörös L. 2009. A pikoplankton szezonális dinamikája a Dunában. *Hidrol. Közl.* 89: 43-45.

Murphy LS, Haugen EM. 1985. The distribution and abundance of phototrophic ultraplankton in the North Atlantic. *Limnol. Oceanogr.* 30: 47-58.

Mühling M, Fuller NJ, Millard A, Somerfield PJ, Marie D, Wilson WH, Scanlan DJ, Post AF, Joint I, Mann NH. 2005. Genetic diversity of marine *Synechococcus* and co-occurring cyanophage communities: evidence for viral control. *Environ. Microbiol.* 7:499-508.

Müller H. 1996. Selective feeding of a freshwater chrysomonad, *Paraphysomonas* sp, on chroococcoid cyanobacteria and nanoflagellates. *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Adv. Limnol.* 48: 63-71.

Müller J, Friedl T, Hepperle D, Lorenz M, Day JG. 2005. Distinction between multiple isolates of *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) and testing for conspecificity using amplified fragment length polimorphism and ITS rDNA sequences. *J. Phycol.* 41: 1236-1247.

Nakahara M, Handa S, Watanabe S, Deguchi H. 2004. *Choricystis minor* as a new symbiont of simultaneous two-species association with *Paramecium bursaria* and implications for its phylogeny. *Symbiosis* 36: 127-151.

Naumann E. 1921. Notizen zur Systematik der Süßwasseralgen V. Über *Nannochloris*, eine neue Chlorophyceengattung. *Ark. Bot.* 16: 1-19.

Newell BS, Morgan B, Candy J. 1967. The determination of urea in seawater. *J. Mar. Res.* 25: 201-202.

Nikolausz M, Sipos R, Révész S, Székely A, Márialigeti K. 2005. Observation of bias associated with re-amplification of DNA isolated from denaturing gradient gels. *FEMS Microbiol. Lett.* 244: 385-390.

Not F, Valentin K, Romari K, Lovejoy C, Massana R, Töbe K, Vaulot D, Medlin LK. 2007. Picobiliphytes: A marine picoplanktonic algal group with unknown affinities to other eukaryots. *Science* 315: 253-255.

Nübel U, Garcia-Pichel F, Muyzer G. 1997. PCR primers to amplify 16S rRNA genes from Cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3327-3332.

OECD. 1982. Eutrophication of waters. Monitoring, assessment and control. OECD. pp. 154.

Ohki K, Gantt E, Lipschultz CA, Ernst MC. 1985. Constant phycobilisome size in chromatically adapted cells of the cyanobacterium *Tolypothrix tenuis*, and variation in *Nostoc* sp. *Plant Physiol.* 79: 943-948.

Olson RJ, Chisholm SW, Zettler ER, Armbrust EV. 1990a. Pigments, size, and distributions of *Synechococcus* in the North Atlantic and Pacific Oceans. *Limnol. Oceanogr.* 35: 45-58.

Olson RJ, Zettler ER, Altabet MA, Chisholm SW. 1990b. Spatial and temporal distributions of prochlorophyte picoplankton in the North Atlantic Ocean. *Deep Sea Res.* 37: 1033-1051.

Ong LJ, Glazer AN. 1987. R-phycocyanin II, a new phycocyanin occurring in marine *Synechococcus* species. Identification of the thermal energy acceptor bilin in phycocyanins. *J. Biol. Chem.* 262: 6323-6327.

Opaliński KW, Maciejewska K Georgieva LV. 1997. Notes of food selection in the Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Polar Biol.* 17: 350-357.

Oren A. 2004. A proposal for further integration of the cyanobacteria under the Bacteriological Code. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54: 1895-1902.

Overmann J, Garcia-Pichel F. 2006. The photosynthetic way of life. *In:* The Prokaryotes. Vol. 2. (*Eds:* Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E). Springer Science+Business Media, LLC. pp. 32-85.

Padisák J, Dokulil M. 1994. Meroplankton dynamics in a saline, turbulent, turbid shallow lake (Neusiedlersee, Austria and Hungary). *Hydrobiologia* 289: 23-42.

Padisák J, Istvánovics V. 1997. Differential response of blue-green algal groups to phosphorus load reduction in a large shallow lake: Balaton, Hungary. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 26: 574-580.

Padisák J, Krienitz L, Koschel R, Nedoma J. 1997. Deep-layer autotrophic picoplankton maximum in the oligotrophic Lake Stechlin, Germany: origin, activity, development and erosion. *Eur. J. Phycol.* 32: 403-416.

Padisák J, Reynolds CS. 1998. Selection of phytoplankton associations in Lake Balaton, Hungary, in response to eutrophication and restoration measures, with special reference to cyanoprokaryotes. *Hydrobiologia* 384: 41-53.

Padisák J, Barbosa F, Koschel R, Krienitz L. 2003. Deep layer cyanoprokaryota maxima in temperate and tropical lakes. *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Adv. Limnol.* 58: 175-199.

Padisák J, Reynolds CS. 2003. Shallow lakes: the absolute, the relative, the functional and the pragmatic. *Hydrobiologia* 506-509: 1-11.

Paerl HW. 1977. Ultraphytoplankton biomass and production in some New Zealand lakes. *N. Z. J. Mar. Freshwat. Res.* 11: 297-305.

Paerl HW, Mackenzie LA. 1977. A comparative study of the diurnal carbon fixation patterns of nanoplankton and net plankton. *Limnol. Oceanogr.* 22: 732-738.

Palatinszky M, Krett G, Nikolausz M, Márialigeti K. 2009. Effect of primer selection, preferential ligation and clone library size on the bacterial community composition picture of environmental samples. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 56 (Suppl.): 223. (Abstracts of the Second Central European Forum for Microbiology, October 7-9, 2009, Keszthely, Hungary)

Palenik B, Haselkorn R. 1992. Multiple evolutionary origins of prochlorophytes, the chlorophyll b-containing prokaryotes. *Nature* 355: 265-267.

Palenik B. 2001. Chromatic adaptation in marine *Synechococcus* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 991-994.

Palenik B, Brahamsha B, Larimer FW, Land M, Hauser L, Chain P, Lamerdin J, Regala W, Allen EE, McCarren J, Paulsen I, Dufresne A, Partensky F, Webb EA, Waterbury J. 2003. The genome of a motile marine *Synechococcus*. *Nature* 424: 1037-1041.

Palinska KA, Krumbein WE. 1995. Electrophoretic separation of two unicyanobacterial strains leading to purification. *J. Microbiol. Meth.* 24: 41-48.

Paoli A, Celussi M, Valeri A, Larato C, Bussani A, Umani SF, Vadrucci MR, Mazziotti C, Del Negro P. 2007. Picocyanobacteria in Adriatic transitional environments. *Estuar. Coast Shelf S.* 75: 13-20.

Park Y, Sandström S, Gustafsson P, Oquist G. 1999. Expression of the *isiA* gene is essential for the survival of cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942 by protecting photosystem II from excess light under iron limitation. *Mol. Microbiol.* 32: 123-129.

Partensky F, LaRoche J, Wyman K, Falkowski P G. 1997. The divinyl-chlorophyll a/b-protein complexes of two strains of the oxyphototrophic marine prokaryote *Prochlorococcus* - characterization and response to changes in growth irradiance. *Photosynth. Res.* 51: 209-222.

Partensky F, Hess WR, Vaulot D. 1999. *Prochlorococcus*, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63: 106-127.

Penno S, Lindell D, Post AF. 2006. Diversity of *Synechococcus* and *Prochlorococcus* populations determined from DNA sequences of the N-regulatory gene *ntcA*. *Environ. Microbiol.* 8: 1200-1211.

Pérez MC, Carillo A. 2005. Picocyanobacteria distribution in the Ebro Estuary (Spain). *Acta Bot. Croat.* 64: 237-246.

Pernthaler J, Šimek K, Sattler B, Schwarzenbacher A, Bobkova J, Psenner R. 1996. Short-term changes of protozoan control on autotrophic picoplankton in an oligomesotrophic lake. *J. Plankton Res.* 18: 443-462.

Pick FR. 1991. The abundance and composition of freshwater picocyanobacteria in relation to light penetration. *Limnol. Oceanogr.* 36: 1457-1462.

Pick FR, Agbeti M. 1991. The seasonal dynamics and composition of photosynthetic picoplankton communities in temperate lakes in Ontario, Canada. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 76: 565-580.

Platt T, Subba Rao DV, Irwin B. 1983. Photosynthesis of picoplankton in the oligotrophic ocean. *Nature* 301: 702-704.

Ploug H, Stolte W, Jørgensen BB. 1999. Diffusive boundary layers of the colony-forming plankton alga, *Phaeocystis* sp. - implications for nutrient uptake and cellular growth. *Limnol. Oceanogr.* 44: 1959-1967.

Pollock DD, Zwickl DJ, McGuire JA, Hillis DA. 2002. Increased taxon sampling is advantageous for phylogenetic inference. *Syst. Biol.* 51: 664-671.

Postius C, Kenter U, Wacker A, Ernst A, Böger P. 1995. Light causes selection among two phycoerythrin-rich *Synechococcus* isolates from Lake Constance. *FEMS Microbiol. Ecol.* 25: 171-178.

Postius C, Böger P. 1998. Different interactions of phycoerythrin- and phycocyanin-rich *Synechococcus* spp. with diazotrophic bacteria from the picoplankton of Lake Constance. *Arch. Hydrobiol.* 141: 181-194.

Postius C, Ernst A. 1999. Mechanisms of dominance: coexistence of picocyanobacterial genotypes in a freshwater ecosystem. *Arch. Microbiol.* 172: 69-75.

Potter D, Lajeunesse TC, Saunders GW, Anderson RA. 1997. Convergent evolution masks extensive biodiversity among marine coccoid picoplankton. *Biodivers. Conserv.* 6: 99-107.

Présing M, Herodek S, Preston T, Vörös L. 2001. Nitrogen uptake and the importance of internal nitrogen loading in Lake Balaton. *Freshwat. Biol.* 46: 125-139.

Rajaniemi-Wacklin P, Rantala A, Mugnai MA, Turicchia S, Ventura S, Komarkova J, Lepistö L, Sivonen K. 2005. Correspondence between phylogeny and morphology of *Snowella* spp. and *Woronichinia naegeliana*, Cyanobacteria commonly occuring in lakes. *J. Phycol.* 42: 226-232.

Rankin LM, Franzmann PD, McMeekin TA, Burton HR. 1997. Seasonal distribution of picocyanobacteria in Ace Lake, a marine-derived Antarctic lake. *In:* Antarctic Communities: Species, Structure and Survival (*Eds:* Battaglia B, Valencia J, Walton DWH). Cambridge University Press. pp. 178-184.

Raven JA. 1998. The twelfth Transley lecture. Small is beautiful: the picophytoplankton. *Funct. Ecol.* 12: 503-513.

Rippka R, Deruelles J, Waterbury JB, Herdman M, Stanier RY. 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.* 111: 1-61.

Rippka R, Coursin T, Hess W, Lichtle C, Scanlan DJ, Palinska KA, Iteman I, Partensky F, Houmard J, Herdman M. 2000. *Prochlorococcus marinus* Chisholm et al. 1992, subsp. nov. *pastoris*, strain PCC 9511, the first axenic chlorophyll a_2/b_2-containing cyanobacterium (Oxyphotobacteria). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 1833-1847.

Robertson BR, Tezuka N, Watanabe MM. 2001. Phylogenetic analyses of *Synechococcus* strains (cyanobacteria) using sequences of 16S rDNA and part of the phycocyanin operon reveal multiple evolutionary lines and reflect phycobilin content. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 861-871.

Rocap G, Distel DL, Waterbury JB, Chisholm SW. 2002. Resolution of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* ecotypes by using 16S-23S ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1180-1191.

Rocap G, Larimer FW, Lamerdin J, Malfatti S, Chain P, Ahlgren NA, Arellano A, Coleman M, Hauser L, Hess WR, Johnson ZI, Land M, Lindell D, Post AF, Regala W, Shah M, Shaw SL, Steglich C, Sullivan MB, Ting CS, Tolonen A, Webb EA, Zinser ER, Chisholm SW. 2003. Genome divergence in two *Prochlorococcus* ecotypes reflects oceanic niche differentiation. *Nature* 424: 1042-1047.

Roesler CS, Culbertson CW, Etheridge SM, Goericke R, Kiene RP, Miller LG, Oremland RS. 2002. Distribution, production, and ecophysiology of *Picocystis* strain ML in Mono Lake, California. *Limnol. Oceanogr.* 47: 440-452.

Romari K, Vaulot D. 2004. Composition and temporal variability of picoeukaryote communities at a coastal site of the English Channel from 18S rDNA sequences. *Limnol. Oceanogr.* 49: 784-798.

Sambrook J, Russell DW. 2001. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Sánchez-Baracaldo P, Hayes PK, Blank CE. 2005. Morphological and habitat evolution in the Cyanobacteria using a compartmentalization approach. *Geobiology* 3: 145-165.

Sánchez-Baracaldo P, Handley BA, Hayes PK. 2008. Picocyanobacterial community structure of freshwater lakes and the Baltic Sea revealed by phylogenetic analyses and clade-specific quantitative PCR. *Microbiol.* 154: 3347-3357.

Sanders RW, Porter KG, Bennet SJ, DeBiase AE. 1989. Seasonal patterns of bacterivory by flagellates, ciliates, rotifers and cladocerans in a freshwater planktonic community. *Limnol. Oceanogr.* 34: 673-687.

Sarmento H, Unrein F, Isumbisho M, Stenuite S, Gasol JM, Descy JP. 2008. Abundance and distribution of picoplankton in tropical, oligotrophic Lake Kivu, Eastern Africa. *Freshwat. Biol.* 53: 756-771.

Scanlan DJ, Silman NJ, Donald KM, Wilson WH, Carr NG, Joint I, Mann NH. 1997. An immunological approach to detect phosphate stress in populations and single cells of photosynthetic picoplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2411-2420.

Scanlan DJ, West NJ. 2002. Molecular ecology of the marine cyanobacterial genera *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 40: 1-12.

Schallenberg M, Burns CW. 2001. Tests of autotrophic picoplankton as early indicators of nutrient enrichment in an ultra-oligotrophic lake. *Freshwat. Biol.* 46: 27-37.

Scheer H. 2003. The pigments. *In:* Light-harvesting Antennas in Photosynthesis (*Eds:* Green BR, Parson WW). Kluwer Academic Publishers. pp. 29-81.

Scheffer M, Rinaldi S, Huisman J, Weissing FJ. 2003. Why plankton communities have no equilibrium: solutions to the paradox. *Hydrobiolgia* 491: 9-18.

Schindler DW. 2006. Recent advantages in understanding and management of eutrophication. *Limnol. Oceanogr.* 51: 351-355.

Schlesner H, Jenkins C Staley JT. 2006. The phylum Verrucomicrobia: A phylogenetically heterogeneous bacterial group. *In:* The Prokaryotes. Vol. 7. (*Eds:* Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E). Springer Science+Business Media, LLC. pp. 881-896.

Schmidt A, Fehér G. 2001. A kiskunsági szikes tavak (KNP II) vízkémiai és algológiai vizsgálata (1998-1999). *Hidrol. Közl.* 81: 455-456.

Schmidt A. 2003. Kiskunsági szikes tavak (KNP II) összehasonlító vízkémiai vizsgálata. *Természetvédelmi Közlemények* 10: 153-162.

Schönhuber W, Zarda B, Eix S, Rippka R, Herdman M, Ludwig W, Amann R. 1999. *In situ* identification of Cyanobacteria with horseradish peroxidase-labeled, rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 1259-1267.

Seaton GGR, Hurry VM, Rohozinski J. 1996, Novel amplification of non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching following viral infection in *Chlorella*. *FEBS Lett.* 389: 319-323.

Sekiguchi H, Tomioka N, Nakahara T Uchiyama H. 2001. A single band does not always represent single bacterial strains in denaturing gradient gel electrophoresis. *Biotechnol. Lett.* 23: 1205-1208.

Shapiro J. 1990. Current beliefs regarding dominance of blue-greens: the case for the importance of CO_2 and pH. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 24: 38-54.

Sieburth JMcN, Smetacek V, Lenz J. 1978. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnol. Oceanogr.* 23: 1256-1263.

Šimek K, Bobkova J, Macek M, Nedoma J, Psenner R. 1995. Ciliate grazing on picoplankton in a eutrophic reservoir during the summer phytoplankton maximum: a study at the species and community level. *Limnol. Oceanogr.* 40: 1077-1090.

Šimek K, Macek M, Pernthaler J, Straskrabová V, Psenner R. 1996. Can freshwater planktonic ciliates survive on a diet of picoplankton? *J. Plankton Res.* 18: 597-613.

Simon M, Grossart HP, Schweitzer B, Ploug H. 2002. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquat. Microb. Ecol.* 28: 175-211.

Sipos R, Székely AJ, Palatinszky M, Révész S, Márialigeti K, Nikolausz M. 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.

Sitz TO, Schmidt RR. 1973. Purification of *Synechococcus lividus* by equilibrium centrifugation and its synchronization by differential centrifugation. *J. Bacteriol.* 115: 43-46.

Six C, Thomas J-C, Garczarek L, Ostrowski M, Dufresne A, Blot N, Scanlan DJ, Partensky F. 2007. Diversity and evolution of phycobilisomes in marine *Synechococcus* spp.: a comparative genomics study. *Genome Biol.* 8: R259.

Šmarda J, Šmajs D, Komrska J, Krzyžánek V. 2002. S-layers on cell walls of cyanobacteria. *Micron* 33: 257-277.

Sommer U, Gliwicz ZM, Lampert W, Duncan A. 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Arch. Hydrobiol.* 106: 433-471.

Sommer U, Sommer F. 2006. Cladocerans *versus* copepods: the cause of contrasting top-down controls in freshwater and marine phytoplankton. *Oecologia* 147: 183-194.

Somogyi B, Vörös L. 2006. A pikoplankton fotoszintézisének karakterisztikái sekély tavakban. *Hidrol. Közl.* 84: 110-112.

Somogyi B, Vanyovszky J, Ágyi Á, Vörös L. 2007. Eukarióta és prokarióta pikoalga törzsek fotoszintézisének összehasonlító vizsgálata. *Hidrol. Közl.* 87: 119-121.

Somogyi B, Felföldi T, Solymosi K, Vanyovszki J, Böddi B, Márialigeti K, Vörös L. 2009a. Duna-Tisza közi szikes tavaink ismeretlen zöldalgái. *Hidrol. Közl.* 89: 59-62.

Somogyi B, Felföldi T, Vanyovszki J, Ágyi Á, Márialigeti K, Vörös L. 2009b. Winter bloom of picoeukaryotes in Hungarian shallow turbid soda pans and the role of light and temperature. *Aquat. Ecol.* 43: 735-744.

Somogyi B, Vörös L, Felföldi T, Solymosi K, Böddi B, Márialigeti K. 2009c. Téli pikoplankton tömegprodukciók szikes tavakban. A Magyar Hidrológiai Társaság XXVII. Országos Vándorgyűlésén (Baja, 2009. július 1-3.) elhangzott előadás. (Az előadás anyaga elérhető: *http://www.hidrologia.hu/vandorgyules/27/ dolgozatok/12szekcio.html*)

Somogyi B, Felföldi T, Dinka M, Vörös L. 2010a. Periodic picophytoplankton predominance in a large, shallow alkaline lake (Lake Fertő/Neusiedlersee). *Ann. Limnol. - Int. J. Lim.* 46: 9-19.

Somogyi B, Kürthy A, Németh B, Vörös L. 2010b. A pikoalgák jelentősége sekély tavak téli planktonjában. *Hidrol. Közl.* (nyomtatásban).

Søndergaard M. 1991. Phototrophic picoplankton in temperate lakes: seasonal abundance and importance along a trophic gradient. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 76: 505-522.

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. Bacteriol.* 44: 846-849.

Stackebrandt E, Ebers J. 2006. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiology Today* nov: 152-155.

Stal LC 1995. Physiological ecology of cyanobacteria in microbial mats and other communities. *New Phycol.* 131: 1-32.

Steglich C, Mullineaux CW, Teuchner K, Hess WR, Lokstein H. 2003. Photophysical properties of *Prochlorococcus marinus* SS120 divinyl chlorophylls and phycoerythrin *in vitro* and *in vivo*. *FEBS Lett.* 553: 79-84.

Steunou AS, Bhaya D, Bateson MM, Melendrez MC, Ward DM, Brecht E, Peters JW, Kühl M, Grossman AR. 2006. *In situ* analysis of nitrogen fixation and metabolic switching in unicellular thermophilic cyanobacteria inhabiting hot spring microbial mats. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 2398-2403.

Sterner RW. 1986. Herbivores' direct and indirect effects on algal populations. *Science* 231: 605-607.

Stockner JG, Antia NJ. 1986. Algal picoplankton from marine and freshwater: a multidisciplinary perspective. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43: 2472-2503.

Stockner JG. 1988. Photoautotrophic picoplankton: An overview from marine and freshwater ecosystems. *Limnol. Oceanogr.* 33: 765-775.

Stockner JG. 1991. Autotrophic picoplankton in freshwater ecosystems: The view from summit. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 76: 483-492.

Stockner JG, Shortreed KS. 1991. Autotrophic picoplankton: community composition, abundance and distribution across a gradient of oligotrophic British Columbia and Yukon Territory lakes. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 76: 581-601.

Stockner JG, Callieri C, Cronberg G. 2000. Picoplankton and other non-bloom forming cyanobacteria in lakes. *In:* The Ecology of Cyanobacteria: their Diversity in Time and Space (*Eds:* Whitton B, Potts M). Kluwer Academic Publishers. pp. 195-238.

Stomp M, Huisman J, de Jongh F, Veraart AJ, Gerla D, Rijkeboer M, Ibelings BW, Wollenzien UI, Stal LJ. 2004. Adaptive divergence in pigment composition promotes phytoplankton biodiversity. *Nature* 432: 104-107.

Stomp M, Huisman J, Stal LJ, Matthijs HCP. 2007a. Colorful niches of phototrophic microorganisms shaped by vibrations of the water molecule. *The ISME Journal* 1: 271-282.

Stomp M, Huisman J, Vörös L, Pick FR, Laamanen M, Haverkamp T, Stal LJ. 2007b. Colourful coexistence of red and green picocyanobacteria in lakes and seas. *Ecol. Lett.* 10: 290-298.

Stomp M. 2008. Colourful coexistence – A new solution to the plankton paradox. PhD thesis, University of Amsterdam (Hollandia).

Summerer M, Sonntag B, Sommaruga R. 2008. Ciliate-symbiont specificity of freshwater endosymbiotic *Chlorella* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *J. Phycol.* 44: 77-84.

Swanson RV, Ong LJ, Wilbanks SM, Glazer AN. 1991. Phycoerythrins of marine unicellular cyanobacteria. II. Characterization of phycobiliproteins with unusually high phycourobilin content. *J. Biol. Chem.* 266: 9528-9534.

Székely AJ, Sipos R, Berta B, Vajna B, Hajdú C, Márialigeti K. 2009. DGGE and T-RFLP analysis of bacterial succession during mushroom compost production and sequence-aided T-RFLP profile of mature compost. *Microb. Ecol.* 57: 522-533.

Szeląg-Wasielewska E. 2004. The smallest phototrophic organisms in a lowland river: Comparison with other components of the phytoseston. *Oceanol. Hydrobiol. Stud.* 23: 61-72.

Szigeti A. 2003. Három pikocianobaktérium ökofiziológiai vizsgálata. Diploma dolgozat. Debreceni Egyetem TTK, Növénytani Tanszék.

Tai V, Palenik B. 2009. Temporal variation of *Synechococcus* clades at a coastal Pacific Ocean monitoring site. *The ISME Journal* 3: 903-915.

Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24: 1596-1599.

Tang EPY, Tremblay R, Vincent WF. 1997. Cyanobacterial dominance of polar freshwater ecosystems: are high-latitude mat-formers adapted to low temperature? *J. Phycol.* 33: 171-181.

Thingstad TF, Lignell R. 1997. Theoretical models for the control of bacterial growth rate, abundance, diversity and carbon demand. *Aquat. Microb. Ecol.* 13: 19-27.

Thompson JB, Schultze-Lam S, Beveridge TJ, Des Marais DJ. 1997. Whiting events: Biogenic origin due to the photosynthetic activity of cyanobacterial picoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 42: 133-141.

Ting CS, Rocap G, King J, Chisholm SW. 2002. Cyanobacterial photosynthesis in the oceans: the origins and significance of divergent light-harvesting strategies. *Trends Microbiol.* 10: 134-142.

Toledo G, Palenik B. 1997. *Synechococcus* diversity in the California Current as seen by RNA polymease (*rpoC1*) gene sequences of isolated strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 4298-4303.

Toledo G, Palenik B, Brahamsha B. 1999. Swimming marine *Synechococcus* strains with widely different photosyntethic pigment ratios form a monophyletic group. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 5247-5251.

Toledo G, Palenik B. 2003. A *Synechococcus* serotype is found preferentially in surface marine waters. *Limnol. Oceanogr.* 48: 1744-1755.

Turner S, Pryer KM, Miao VPW, Palmer JD. 1999. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. *J. Eukaryot. Microbiol.* 46: 327-338.

Turner S, Huang TC, Chaw SM. 2001. Molecular phylogeny of nitrogen-fixing unicellular cyanobacteria. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 42: 181-186.

Urbach E, Robertson DL, Chisholm SW. 1992. Multiple evolutionary origins of prochlorophytes within the cyanobacterial raditation. *Nature* 355: 267-270.

Urbach E, Scanlan DJ, Distel DL, Waterbury JB, Chisholm SW. 1998. Rapid diversification of marine picophytoplankton with dissimilar light-harvesting structures inferred from sequences of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* (Cyanobacteria). *J. Mol. Evol.* 46: 188-201.

Vaara T, Vaara M, Niemela S. 1979. Two improved methods for obtaining axenic cultures of cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 38: 1011-1014.

Vadstein O. 2000. Heterotrophic planktonic bacteria and cycling of phosphorus: phosphorus requirements, competitive ability and food web interactions. *In:* Advances in Microbial Ecology. Vol. 16 (*Ed:* B. Schink). Kluwer Academic Publisher. pp. 115-167.

Van Mooy BAS, Rocap G, Fredericks HF, Evans CT, Devol AH. 2006. Sulfolipids dramatically decrease phosphorus demand by picocyanobacteria in oligotrophic marine environments. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 103: 8607-8612.

Vanyovszki J, Fodorpataki L, Ágyi Á, Somogyi B, Vörös L. 2008. Prokarióta és eukarióta pikoalgák fotoszintézisének pH és szalinitás függése. *Hidrol. Közl.* 88: 222-224.

Vaulot D, Eikrem W, Viprey M, Moreau H. 2008. The divesity of small eukaryotic phytoplankton (≤ 3 μm) in marine ecosystems. *FEMS Microbiol. Rev.* 32: 795-820.

V-Balogh K, Németh B, Vörös L. 2009. Oldott és formált szervesanyagok a szikes tavak vizében. A Magyar Hidrológiai Társaság XXVII. Országos Vándorgyűlésén (Baja, 2009. július 1-3.) elhangzott előadás. (Az előadás anyaga elérhető: *http://www.hidrologia.hu/vandorgyules/27/ dolgozatok/12szekcio.html*)

Veldhuis MJW, Timmermans KR, Croot P, van der Wagt. 2005. Picophytoplankton; a comparative study of their biochemical composition and photosynthetic properties. *J. Sea Res.* 53: 7-24.

Vézina S, Vincent WF. 1997. Arctic cyanobacteria and limnological properties of their environment: Bylot Island, Northwest Territories, Canada (73 °N, 80 °W). *Polar Biol.* 17: 523-534.

Vincent WF, Bowman JP, Rankin LM, McMeekin TA. 2000. Phylogenetic diversity of picocyanobacteria in arctic and antarctic ecosystems. *In:* Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology (*Eds:* Bell CR, Brylinski M, Johnson-Green P). Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada. pp. 317-322.

von Witzengerode F, Göbel UB, Stackebrandt E. 1997. Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiol. Rev.* 21: 213-229.

Vörös L. 1987-88. Bakteriális méretű fotoautotrófikus szervezetek néhány európai sekély tóban. *Bot. Közlem.* 74-75: 141-151.

Vörös L. 1989. A pikoplankton jelentősége a Balatonban. *Hidrol. Közl.* 69: 321-327.

Vörös L. 1991. Importance of picoplankton in Hungarian shallow lakes. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 24: 984-988.

Vörös L, Gulyás P, Németh J. 1991. Occurrence, dynamics and production of picoplankton in Hungarian shallow lakes. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 76: 617-629.

Vörös L. 1997. Sekély és mély tavak fotoautotróf pikoplanktonja. *In:* Dissertationes in Honorem Iubilantis Gábor Uherkovich (*Szerk:* Borhidi A). *Stud. Limnol. Jubil.* pp. 55-64.

Vörös L, Callieri C, Balogh KV, Bertoni R. 1998. Freshwater picocyanobacteria along a trophic gradient and light quality range. *Hydrobiologia* 369/370: 117-125.

Vörös L, V.- Balogh K, Herodek S, Kiss KT. 2000. Underwater light conditions, phytoplankton photosynthesis and bacterioplankton production in the Hungarian section of the River Danube. *Arch. Hydrobiol. Suppl. (Large Rivers)* 11: 511-532.

Vörös L, V.-Balogh K. 2003. Fotoautotróf pikoplankton Duna-Tisza közi szikes tavakban. *Természetvédelmi Közlemények* 10: 185-189.

Vörös L, V.-Balogh K, Boros E. 2005. Pikoplankton dominancia szikes tavakban. *Hidrol. Közl.* 85: 166-168.

Vörös L, Somogyi B, V.-Balogh K, Németh B. 2006a. A Balaton planktonikus és üledéklakó algaegyütteseinek szerepe és szabályozó tényezői. A Balaton kutatásának 2005. évi eredményei. MTA, Budapest.

Vörös L, Boros E, Schmidt A, V.-Balogh K, Németh B, Somogyi B, Mózes A. 2006b. A fitoplankton fizikai és kémiai környezete fehér vizű szikes tavainkban. *Hidrol. Közl.* 86: 139-141.

Vörös L, Somogyi B, Boros E. 2008. Birds cause net heterotrophy in shallow lakes. *Acta Zool. Acad. Sci. Hung.* 54: 23-34.

Vörös L, Mózes A, Somogyi B. 2009a. A five-year study of autotrophic winter picoplankton in Lake Balaton, Hungary. *Aquat. Ecol.* 43: 727-734.

Vörös L, Boros E, V.-Balogh K, Németh B, Somogyi B. 2009b. Szikes tavaink különleges élővilága és ökológiai rendszere. A Magyar Hidrológiai Társaság XXVII. Országos Vándorgyűlésén (Baja, 2009. július 1-3.) elhangzott előadás. (Az előadás anyaga elérhető: *http://www.hidrologia.hu/vandorgyules/27/ dolgozatok/12szekcio.html*)

Wacklin P. 2006. Biodiversity and phylogeny of planktic cyanobacteria in temperate freshwater lakes. Academic dissertation. University of Helsinki (Finnország).

Waleron M, Waleron K, Vincent WF, Wilmotte A. 2007. Allochtonous inputs of riverine picocyanobacteria to coastal waters in the Arctic Ocean. *FEMS Microbiol. Ecol.* 59: 356-365.

Wang B, Liu C-Q, Wang F, Yu Y, Zhang L. 2008. The distributions of autumn picoplankton in relation to environmental factors in the reservoirs along the Wujiang River in Guizhou Province, SW China. *Hydrobiologia* 598: 35-45.

Waterbury JB, Watson SW, Guillard RRL Brand LE. 1979. Widespread occurrence of a unicellular, marine, planktonic cyanobacterium. *Nature* 277: 293-294.

Waterbury JB, Willey JM, Franks DG, Valois FW, Watson SW. 1985. A cyanobacterium capable of swimming motility. *Science* 230: 74-75.

Waterbury JB, FW Valois, DG Franks 1986. Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus. Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.* 214: 71-120.

Waterbury JB, Rippka R. 1989. Subsection I. Order Chroococcales Wettstein 1924, emed. Rippka et al., 1979. *In:* Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 3. (*Eds:* Stanley JT, Bryant MP, Pfennig N, Holt JG) Williams and Wilkins. pp. 1728-1746.

Wawrik B, Paul JH, Campbell L, Griffin D, Houchin L, Fuentes-Ortega A, Muller-Karger F. 2003. Vertical structure of the phytoplankton community associated with a coastal plume in the Gulf of Mexico. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 251: 87-101.

Weisse T, Müller H, Pinto-Coelho RM, Schweizer A, Springmann D, Baldringer G. 1990. Response of the microbial loop to the phytoplankton spring bloom in a large prealpine lake. *Limnol. Oceanogr.* 35: 781-794.

Weisse T, Kenter U. 1991. Ecological characteristics of autotrophic picoplankton in a prealpine lake. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 76: 493-504.

Weisse T. 1993. Dynamics of autotrophic picoplankton in marine and freshwater ecosystems. *In:* Advances in Microbial Ecology. Vol. 13. (*Ed:* Jones JG). Plenum Press. pp. 327-370.

West NJ, Scanlan DJ. 1999. Niche-partitioning of *Prochlorococcus* populations in a stratified water column in the Eastern North Atlantic Ocean. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 2585-2591.

West NJ, Schönhuber WA, Fuller NJ, Amann RI, Rippka R, Post AF, Scanlan DJ. 2001. Closely related *Prochlorococcus* genotypes show remarkably different distributions in two oceanic regions as revealed by *in situ* hybridization using 16S rRNA-targeted oligonucleotides. *Microbiol.* 147: 1731-1744.

Wetzel RG, Likens GE. 1991. Limnological Analyses. Springer-Verlag.

Wildman RB, Bowen CC. 1974. Phycobilisomes in blue-green algae. *J. Bacteriol.* 117: 866-881.

Willame R, Boutte C, Grubisic S, Wilmotte A, Komárek J, Hoffmann L. 2006. Morphological and molecular characterization of planktonic Cyanobacteria from Belgium and Luxembourg. *J. Phycol.* 42: 1312-1332.

Willey JM, Waterbury JB. 1989. Chemotaxis toward nitrogenous compounds by swimming strains of marine *Synechococcus* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1888-1894.

Wingard LL, Miller SR, Sellker JML, Stenn E, Allen MM, Wood M. 2002. Cyanophycin production in a phycoerythrin-containing marine *Synechococcus* strain of unusual phylogenetic affinity. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1772-1777.

Wood AM, Van Valen LM. 1990. Paradox lost? On the release of energy-rich compounds by phytoplankton. *Mar. Microb. Food Webs* 4: 103-116.

Wood AM, Phinney DA, Jentsch CS. 1998. Water column transparency and the distribution of spectrally distinct forms of phycoerythrin-containing organisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 162: 25-31.

Worden AZ, Chisholm SW, Binder BJ. 2000. *In situ* hybridization of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* (marine cyanobacteria) spp. with rRNA-targeted peptid nucleic acid probes. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 284-289.

Wyman M, Gregory RPF, Carr NG. 1985. Novel role for phycoerythrin in a marine cyanobacterium, *Synechococcus* strain DC2. *Science* 230: 818-820.

Yamamoto M, Nozaki H, Miyazawa Y, Koide T, Kawano S. 2003. Relationship between presence of a mother cell wall and speciation in the unicellular microalga *Nannochloris* (Chlorophyta). *J. Phycol.* 39: 172-184.

Yamamoto M, Fujishita M, Hirata A, Kawano S. 2004. Regeneration and maturation of daughter cell walls in the autospore-forming green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *J. Plant. Res.* 117: 257-264.

Yamamoto M, Kurihara I, Kawano S. 2005. Late type of daughter cell wall synthesis in one of the Chlorellaceae, *Parachlorella kessleri* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Planta* 221: 766-775.

Yamamoto M, Nishikawa T, Kajitani H, Kawano S. 2007. Patterns of asexual reproduction in *Nannochloris bacillaris* and *Marvania geminata* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Planta* 226: 917-927.

Zehr JP, Waterbury JB, Turner PJ, Montoya JP, Omoregie E, Steward GF, Hansen A, Karl DM. 2001. Unicellular cyanobacteria fix N_2 in the subtropical North Pacific Ocean. *Nature* 412: 635-638.

Zehr JP, Ward BB. 2002. Nitrogen cycling in the ocean: New perspectives on processes and paradigms. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1015-1024.

Zeidner G, Béjà O. 2004. The use of DGGE analyses to explore eastern Mediterranean and Red Sea marine picophytoplankton assemblages. *Environ. Microbiol.* 6: 528-534.

Zidarova R, Temniskova D, Dzhambazov B. 2009. Karyological and endosymbiotic notes on *Choricystis* species (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *Biologia* 64: 43-47.

Zubkov MV, Sleigh MA, Burkill PH. 2000. Assaying picoplankton distribution by flow cytometry of underway samples collected along a meridional transect across the Atlantic Ocean. *Aquat. Microb. Ecol.* 21, 13–20.

Zubkov MV, Fuchs BM, Tarran GA, Burkill PH, Amann R. 2003. High rate of uptake of organic nitrogen compounds by *Prochlorococcus* cyanobacteria as a key to their dominance in oligotrophic waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 1299-1304.

Zwart G, Kamst-van Agterveld MP, van der Werff-Staverman I, Hagen F, Hoogveld HL, Gons HJ. 2005. Molecular characterization of cyanobacterial diversity in a shallow eutrophic lake. *Environ. Microbiol.* 7: 365-377.

Zwirglmaier K, Jardillier L, Ostrowski, Mazard S, Garczarek L, Vaulot D, Not F, Massana R, Ulloa O, Scanlan DJ. 2008. Global phylogeography of marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus* reveals a distrinct partitioning of lineages among oceanic biomes. *Environ. Microbiol.* 10: 147-161.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom az ***ELTE Mikrobiológiai Tanszéké***n dolgozó jelenlegi és korábbi kollégáknak;

Márialigeti Károly témavezetőmnek, aki lehetővé tette számomra e dolgozat elkészítését, és egyéb kutatásokba történő bevonásommal szélesítette szakmai látókörömet, majd ezek mérséklésével a dolgozat elkészítésére biztosított lehetőséget;

Székely Annának, korábbi témavezetőmnek, aki bevezetett a gyakorlati mikrobiológiai munkába, és akivel néhány évvel később a tudományos eredmények közlési módját sikerült tökéletesíteni;

ők ketten azok, akik megszerettették velem a mikrobiológiát, és ehhez a pályához láncoltak;

Nikolausz Marcellnek, aki doktori kutatásom kezdeténél értékes tanácsokkal látott el;

Vajna Balázsnak, aki a hosszpolimorfizmus vizsgálat kivitelezésében és a statisztikai elemzéseknél segített,

Duleba Mónika szakdolgozómnak, akivel közösen a balatoni minták feldolgozását végeztük;

Sipos Riténak, fáradhatatlan angol nyelvi 'lektoromnak';

és a **többi tanszéki munkatárs**nak, akik a fent említettekkel együtt a száraz tudományt elviselhetővé tették;

az ***MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézete*** munkatársainak; különösen

Vörös Lajosnak, külső konzulensemnek, aki bármelyik pillanatban képes volt érdekes dolgokkal a limnológia irányába és szeretetére hangolni; és

Somogyi Boglárkának, akivel az elmúlt évek szoros szakmai kapcsolata, úgy érzem, végül mindkét fél részére meghozta gyümölcsét;

mindketten a klasszikus algológiai-limnológiai irányból támogatták meghatározóan munkámat; az ő kutatási eredményeik hiányában ez a dolgozat csupán egy torzó lenne;

a doktori program korábbi és jelenlegi vezetőjének, **Vida Gábor**nak és **Szathmáry Eörs**nek;

és főként köszönöm **családom**nak végtelen türelmüket.

A munkát a következő kutatási és ösztöndíj pályázatok segítették: OTKA T 042977, OTKA K 73369, DFÖ/0051/2009.