

Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar  
Biológia Doktori Iskola  
Evolúciógenetika, evolúciós ökológia, konzervációbiológia

# BAKTERIÁLIS DIVERZITÁS VIZSGÁLÓ ELJÁRÁSOK ALKALMAZÁSA A SZENNYVÍZTISZTÍTÁS MIKROBIOLÓGIAI KUTATÁSÁBAN

Doktori értekezés

Készítette:

**SZÉKELY ANNA J.**

Témavezető:

**DR. MÁRIALIGETI KÁROLY**  
tanszékvez. egyetemi docens

Doktori iskola vezető:

**PROF. DR. ERDEI ANNA**  
tanszékvez. egyetemi tanár

Programvezető:

**PROF. DR. SZATHMÁRY EÖRS**  
egyetemi tanár



Budapest,  
2008

## BEVEZETÉS

Napjaink számtalan környezetvédelmi kihívása közül az egyik legelőkelőbb helyen élővizeink és ivóvízbázisaink védelme áll, amelyeket a mezőgazdasági, ill. az ipari és kommunális szennyezők egyaránt veszélyeztetnek. Utóbbiak okozta károk kivédésére elengedhetetlen a szennyvíztisztítás kapacitásának és hatékonyságának fejlesztése. A szén, nitrogén és foszfor körforgásának elsődleges mozgatóiként ill. a legkülönbélebb anyagok biodegradációjára való képességük révén a mikroorganizmusoknak kulcsszerepe van ebben a folyamatban. Ezért a szennyvíz-mikrobiológiai kutatások szükségessége vitathatatlan, hiszen eredményei révén remélhető, hogy a szennyvíztechnológusok reaktorokat leíró matematikai modelljeiben „fekete dobozként” kezelt biológiai rendszereket ne csak empirikusan, fizikai és kémiai tulajdonságaik alapján befolyásolhassuk, hanem a bennük lévő mikrobákat tudatosan szabályozzuk és szelektáljuk.

A szennyvíztisztítók azonban nemcsak környezetvédelmi és műszaki szempontból érdekesek, hanem egyben a mikrobiális ökológiai kutatások egyik legkiválóbb terepei, hiszen kevés ilyen élőhely létezik, amelyben jól meghatározott és kontrollált körülmények között lehet komplex mikrobiális közösségeket vizsgálni. Az elmúlt évtizedekben ez a tudományterület a tenyésztés független eljárásoknak köszönhetően hatalmas fejlődésen ment keresztül. Mégis, gyors és egyszerű, szennyvíztisztításban használható monitorozó eljárásokra továbbra is nagy az igény.

Munkánk során egy molekuláris közösségi ujjlenyomat technika alkalmazhatóságát elemeztük két különböző szennyvíztisztító mikrobiótájának a vizsgálatán keresztül. E két üzemegység a tisztítandó szennyvíz jellegében és a kezelés módjában is jelentősen eltért.

Egyik egy kommunális szennyvíztisztító, a Dél-pesti Szennyvíztisztító Telep (DpSzt) harmadik fokozata, a nitrogén-eltávolító fixágyas Biofor egység volt. A fixágyas rendszerekben a mikrobák természetes biofilmképző sajátságai révén hozzák létre a hatékony szennyvíztisztításhoz elengedhetetlen nagy sejtkoncentrációkat. A Biofor rendszerben a nitrogén-mentesítést két lépcsőben végzik. Az elsőben az ammónium nitráttá történő oxidációját, a nitrifikációt segítik elő levegőztetéssel, míg a másodikban anoxikus viszonyok és metanol adagolással a légköri nitrogénig történő denitrifikációt serkentik. Bár az év nagy részében a folyamat tökéletesen működik, mégis időszakosan előfordul, hogy az elfolyó ammónium koncentrációk meghaladják a határértéket. Ezért ennél a rendszernél a nitrifikáció első, sebesség-meghatározó lépését, az ammónia nitritté oxidálását katalizáló csoportot, a  $\beta$ -*Proteobacteria* szubdivízióba tartozó ammónia-oxidáló baktériumokat (AOB) vizsgáltuk.

A másik vizsgált rendszer egy ipari szennyvíztisztító, a DUNAFERR Zrt. alvállalatának, az ISD-Kokszoló Kft-nek (ISD-K) kokszolóművi szennyvizét kezelő biológiai egység volt. A modern kohászathoz elengedhetetlen koksz gyártása során egy erősen szennyezett elegy keletkezik, amely nagy koncentrációban tartalmaz fenolt és származékait, cianidot, rodanidot (tiocianát,  $\text{SCN}^-$ ) és ammóniát. Ennek az elegynek a tisztítására, különböző előkezelések után egy eleveniszapos rendszert használnak, amelynek hatására csökken a víz pH értéke, több szennyező (pl. fenol, nitrát) megfelelő hatásfokkal eltávolítódik, mások koncentrációja nő (pl. ammónium), rodanid esetében pedig előfordulnak időszakos hatásfokromlások.

Az eleveniszapos rendszereknél hordozó nélkül, a sejtek bioflokulációs folyamatait kihasználva jönnek létre a szükséges nagy sejtkoncentrációk. Bár a kommunális szennyvíztisztításban alkalmazott eleveniszapok mikrobiótájáról széleskörű ismereteink vannak, a kokszolóművek különleges, toxikus szennyvizét kezelő mikroorganizmusokról gyakorlatilag semmit sem tudunk. Ezért ennél a szennyvíztisztítónál a teljes baktérium közösséget vizsgáltuk.

## CÉLKITŰZÉSEK

A DpSzT esetében elsődlegesen egy olyan vizsgáló eljárás fejlesztését tűztük ki célul, amellyel lehetőség nyílik a nitrogén eltávolítási ingadozásokkal feltételezeten együttjáró AOB közösség változások nyomon követésére. Míg a kokszolóművi szennyvíznél a mikrobióta megismerése mellett a rodanideltávolítás hatásfokromlásainak mikrobiológiai hátterét szerettük volna tisztázni.

Az első esetben kutatómunkánk célul kitűzött mérföldkövei a következők voltak:

1. Egy adatbázis létrehozása, amely segítségével a domináns ammónia-oxidáló csoportok molekuláris ujjlenyomat mintázatuk alapján azonosíthatók;
2. Az adatbázis alapján történő azonosítás hatékonyságának tesztelése;
3. A monitorozó rendszer használata szezonális változások nyomon követésére.

A kokszolóművi szennyvíztisztító esetében pedig a következők voltak a céljaink:

1. Az ismeretlen eleveniszapos kezelőegység mikrobiális közösségének feltérképezése;
2. A rendszer mikrobiótájának összetétel- és aktivitásbéli változásainak nyomon követése a rodanidbontás hatásfokának ingadozása során.

## AZ ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

A szennyvíztisztító-rendszerek diverzitás monitorozásához olyan költségkímélő és gyors molekuláris mikrobiális ökológiai módszert kerestünk, amely hosszútávon összehasonlítható eredményeket ad, továbbá lehetővé teszi a legfontosabb csoportok és azok egymáshoz viszonyított arányának a megállapítását.

A tenyésztés független mikrobiális ujjlenyomat módszerek áttekintése után úgy találtuk, hogy ezeknek a feltételeknek a legjobban a terminális restrikciós fragmenthossz polimorfizmus (TRFLP) molekuláris ujjlenyomat eljárás felel meg, mivel:

- optimalizált körülmények között viszonylag gyorsan (kb. 2 nap) eredményt ad;
- egyszerűségének köszönhetően költségkímélő;
- a kapilláris elektroforézis és a belső standard révén nem kell az összehasonlítandó mintákat egyszerre futtatni szemben a géralapú módszerekkel (pl. DGGE);
- tekintve, hogy a mintázata közvetlen szekvencia tulajdonságokon alapszik (restrikciós hasítóhelyek), lehetőséget ad a csúcsokat képező filotípusok azonosítására, ill. a módszer szemikvantitatív voltának köszönhetően azok arányainak megállapítására.

### **A DpSzT nitrifikáló medencéinek vizsgálata**

A DpSzT nitrifikáló medencéinek monitorozására alkalmas eljárás kidolgozását egy olyan adatbázis létrehozásával kezdtük, amely segítségével a mintákban domináns ammónia-oxidálókat TRFLP mintázatuk alapján azonosítani lehet. Ehhez szekvencia-adatbázisokból az AOB-ra specifikus ammónia-monooxygenáz gén A alegységét kódoló (*amoA*) szekvenciákat válogattunk ki. A szekvenciák legfontosabb jellemzőikkel (pl. származási hely), ill. különböző endonukleázokkal képzett terminális restrikciós fragmentjeikkel (TRF) kerültek az adatbázisba.

Ezt követően az adatbázis alapján történő azonosítást elemeztük. Ehhez elkészítettük az első minták (2002) TRFLP mintázatát, és párhuzamosan, ugyanazon izolált DNS mintából *amoA* gén klónkönyvtárat készítettünk, hogy szekvencia-analízis alapján is azonosítsuk a minták domináns ammónia-oxidálóit. A klónokat restrikciós mintázat (RFLP) alapján csoportosítottuk, és minden csoport egy-egy képviselőjét szekvencia-analízisnek vetettünk alá. Az így kapott szekvenciákat összehasonlítottuk az adatbázis által jósoltakkal.

A következő évben (2003) a rendszer segítségével már valós monitorozást végeztünk, és annak eredményeit összevetettük a rendszer víztisztító hatásfokával.

## **Az ISD-K eleveniszapos medencéinek vizsgálata**

Az ISD-K biológiai szennyvízkezelő egységének mikrobiológiai vizsgálatát a 16S rRNS gén alapján végeztük, ugyanis ennek az univerzális génnek a segítségével a teljes *Bacteria* domén vizsgálatára volt módunk, ami lehetővé teszi egy ilyen ismeretlen mikrobióta feltárását.

Először összehasonlítottuk az üzem hat párhuzamos eleveniszapos medencéjének négy különböző restrikciós enzimmel képzett TRFLP mintázatát. Ennek alapján a rendszeres monitorozáskor már csak egy medencét vizsgáltunk a két legnagyobb diverzitást adó endonukleáz segítségével.

A monitorozás során (2004. július-november) a mintáknak nemcsak a DNS-en kódolt 16S RNS génjük alapján készítettük el a TRFLP mintázatát, hanem a riboszómákat képező 16S rRNS segítségével is. Általában minél aktívabb egy baktérium, annál nagyobb a riboszóma állománya. Ezért ettől a vizsgálattól azt reméltük, hogy lehetővé teszi a mikrobióta külső hatásokra adott korai válaszainak az észlelését.

Mivel a kokszolóművi szennyvíztisztítók különleges közegének mikroorganizmusaival kapcsolatos ismereteink hiányosak, a TRF-k adatbázisok alapján történő azonosítása reménytelennek tűnt. Ezért a négy legkülönbözőbb mintából klónkönyvtárat készítettünk, és a klónokból képzett TRFLP mintázatokat hasonlítottuk össze a közösségi minták TRFLP ujjlenyomatával. Igyekeztünk a lehető legtöbb csúcsot klónokkal párosítani, majd utóbbiak szekvencia-analízise segítségével a domináns csoportokat azonosítani. Ezzel a módszerrel nemcsak az ujjlenyomat alapján még hiányzó közösségalkotók célzott „vadászata”, hanem a mintázatokat esetlegesen torzító pszeudo-terminális fragmentek (pszeudo-TRF) felismerése is lehetővé vált.

## **EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK**

### **A nitrifikáló medencék vizsgálatának az eredményei**

#### **1. Az *amoA* szekvenciák TRF adatbázisának létrehozása**

Sikeresen létrehoztunk egy könnyen használható, több mint ezer *amoA* szekvencia alapján készült TRF adatbázist. A szekvenciák filogenetikai elemzése alátámasztotta a legfőbb AOB leszármazási vonalak ismert viszonyait, továbbá több csak tenyésztetlen tagokkal bíró, faji szinten elkülönülő ág, az úgynevezett filospéciesz felismerését tette lehetővé.

## 2. Az adatbázis alapján történő azonosítás hatékonyságának tesztelése

A TRFLP ujjlenyomat és az adatbázis alapján történő AOB csoport meghatározás problematikusnak bizonyult, ugyanis a 2002-es mintákban TRFLP alapján az adatbázis segítségével 4-5 különböző, a *Nitrosomonas europaea* és *Nsm. oligotropha* ágakba tartozó AOB csoportot azonosítottunk. A klónok szekvencia-analízise azonban csak két csoport jelenlétét igazolta, amit a klónkönyvtár vizsgálatára használt RFLP módszer vagy a klónozás torzítása is okozhatott.

A közösség alkotók ilyen módon való filogenetikai besorolását nehezítették még a pseudo-TRF-ek. Egyöntetű közösség esetén (2003-as minták, lásd később) viszonylag könnyebb volt ezeket felismerni. Azonban az összetettebb, 2002-es mintáknál ez már korántsem volt ilyen egyszerű. Kiszűrésükre az azonos mintából származó monomolekuláris klónok TRFLP mintázatának vizsgálata javasolt. A pseudo-TRF-ek mellett azért is szükséges a klónok alaposabb szűrése, mert ahogy a 2002-es mintáinknál tapasztaltuk, még öt restriktív enzim használata esetén is előfordulnak olyan hasítási mintázat kombinációk, amelyek polifiletikus csoportokat fednek.

Klónkönyvtár készítésre azonban nincs szükség minden mintavételkor, ugyanis a hosszú generációs idejű AOB közösségei a drasztikus külső hatásokat kivéve, csak lassan, több hónap alatt reagálnak környezetük változásaira.

Eredményeink alapján az AOB szennyvíztisztítóban való monitorozására a következő javaslatokat tettük:

1. A vizsgálat kezdetekor, az első mintákból közösségi *amoA* TRFLP ujjlenyomat készítése a lehető legtöbb (4-6) restriktív enzim segítségével;
2. A TRFLP mintázatok adatbázisunkkal való összevetése alapján a valószínűsíthető filotípusok meghatározása;
3. A legdiverzebb és. az összes jelentősen eltérő mintából, ill. a későbbi mintáknál új csúcsok megjelenésekor klónkönyvtár készítése;
4. A klónok egyedi TRFLP mintázata alapján a közösségi TRFLP csúcsainak és az esetleges pseudo-TRF-eknek az egyértelmű azonosítása, majd amennyiben szükséges a kiválasztott klónok szekvencia-analízisének elvégzése;
5. A vizsgálandó egység egy-két havonkénti ellenőrzése az azonosított csoportokat egyértelműen megkülönböztető restriktív enzimekkel készített TRFLP ujjlenyomat segítségével.

### 3. A nitrifikáló medencék monitorozásának eredményei

Monitorozásunk eredményei alapján megállapítottuk, hogy mintáink mind a vízkémiai paraméterek (nitrogén-eltávolítás), mind az AOB közösség összetétele alapján két részre oszthatók: a 2002-es és a 2003-as mintákra.

A 2002-es mintavételi időpontkor a levegőztetett nitrifikáló Biofor medencékben a nitrifikáción túl, csekély mértékű, 4 %-os teljes nitrogén-eltávolítást észleltünk. Mindeközben a mikrobióta egy komplexebb, szekvencia-analízissel is bizonyítottan kettő, TRFLP alapján feltételezhetően akár öt különböző csoportból álló AOB közösséggel volt jellemezhető. A két egyértelműen azonosított csoport tagjai az AOB közösség egy-egy harmadát tették ki. Mindkét filotípus csak tenyésztetlen közeli rokonokkal rendelkezik, ezért csak azok előfordulása alapján következtethettünk jellemzőikre.

Ezek alapján elmondható, hogy az egyik, TRFLP mintázata alapján HM3-nak elnevezett csoport a *Nitrosomonas europaea* ág *Nitrosococcus oceani* törzseihez közelálló, szennyvizekre jellemző nagyobb ammónium- és szervesanyag-terhelést jól toleráló, nagy oxigénaffinitású, a biofilmben való életmódot előnyben részesítő filospéciesz.

A másik, HM5.7 nevű filotípus a *Nsm. oligotropha* ág *Nsm. ureae* törzseivel rokon csoport, amely valószínűsíthetően hasonló tulajdonságokkal bír, mint az előbbi, csak a biofilmek preferenciája itt nem állítható, hiszen a lebegő flokkulumok (adatbázis szekvenciák) és a biofilmek (a mi klónjaink) fele-fele arányban vannak jelen a származási helyek tekintetében.

A 2003-as mintavételeinkkor jelentős teljes nitrogén-eltávolítás (25-30 %) történt a nitrifikáló Biofor medencékben, ami egy szerkezetét tekintve komplexebb, a denitrifikációhoz szükséges anoxikus zónákat is tartalmazó biofilmre utal. Ezekben a mintákban a feltételezeten biofilmeket preferáló HM3 filospéciesz volt a mikrobiális közösség egyeduralgó AOB csoportja, ami szintén a biofilm érettségét jelezheti. A hatékonyabb és költségkímélőbb (kevesebb metanolt kell a denitrifikáló medencékbe adagolni) nitrogén-mentesítést lehetővé tevő strukturáltabb biofilm valószínűleg azért jöhetett létre, mert időközben bevezették a fixágyas rendszer mosatási fázisainak nyomásesésen alapuló szabályozását, így csak akkor mosták le a hordozóról a biofilmet, ha annak vastagsága már a rendszer eltömődéséhez vezetett volna.

## A kokszolóművi eleveniszapos medencék vizsgálatának az eredményei

### 1. A kokszolóművi eleveniszapos medencék mikrobiótájának feltérképezése

Az AOB esetében tapasztaltak miatt a kokszolóművi eleveniszapos medencék baktériumainak az azonosítására a monomolekuláris klónok egyedi TRFLP mintázatát hasonlítottuk a közösségi TRFLP ujjlenyomathoz. Így felismertük a pseudo-TRF-eket, ill. a közösségalkotók célzott „vadászatával” a medencék baktérium közösségének 90 %-át sikeresen azonosítottuk.

A közösséget *Proteobacteria* és *Bacteroidetes* divízióba tartozó filotípusok alkották, amelyek közül a medencék optimális működése esetén más szennyvíztisztítókhöz hasonlóan a  $\beta$ -*Proteobacteria* szubdivízió tagjai bizonyultak a legnépesebbnek. Közülük a legjelentősebbnek a K-stratégistának tekinthető fenolbontó és flokkulumképző *Comamonas badia*, valamint a *Thiobacillus* nemzetségbe tartozó baktériumok bizonyultak. Utóbbi csoport egyes tagjai bizonyítottan képesek rodanidbontásra, amely folyamat során ammónia és kénhidrogén képződik. A kénhidrogént ugyanez a csoport szulfáig oxidálja jelentős pH csökkenés mellett, ami magyarázza a medencékben tapasztalt savanyodást. Az ammónia képződése pedig a biológiai kezelés során tapasztalt ammónium koncentrációnövekedést segít értelmezni.

Az üzemegység csökkent hatásfokú működésekor azonban a  $\gamma$ -*Proteobacteria* szubdivízióba tartozó *Pseudomonas putida* filotípus volt a domináns. Ez a csoport szintén képes fenolbontásra, viszont flokkulumképzésre nem, és a *C. badia* filotípussal szemben gyors szaporodása, széles környezeti optimuma miatt tipikus r-stratégista baktériumnak tekinthető.

Az azonosított csoportok közül a különféle aromás vegyületek bontására képes filotípusok érdemelnek még említést. Ilyenek az  $\alpha$ -*Proteobacteria* szubdivízióba tartozó *Bosea thioxidans*-szal és *Sphingomonas spp.* fajokkal rokon baktériumok vagy a  $\gamma$ -*Proteobacteria* *Rhodanobacter lindanoclasticus* rokonsági kör. Utóbbi csoport korábbi kimutatásai alapján valószínűleg szerepet játszhat a rodanidbontásban is.

Azonosítottunk továbbá számos nitrát redukcióra, denitrifikációra képes filotípust is (*Bosea thioxidans*, *Comamonas denitrificans*, *Diaphorobacter nitroreducens*, *Thiobacillus denitrificans*, *Thiocalvivibrio thiocyanodenitrificans*), ami magyarázza a kiegészítő méréseink által tapasztalt jelentős nitrátszökkenést a medencékben.

Összességben a közösség azonosított tagjai és azok legközelebbi rokonai alapján feltételezett anyagcsere aktivitása jól magyarázza a biológiai kezelőegységnél tapasztalt víztisztító hatást.



## 2. Az eleveniszapos medencék monitorozásának az eredményei

Módszereink tekintetében az RNS alapú ujjlenyomatok időben változatosabb képet adtak, ugyanis így a baktériumok kisebb környezeti változásokra adott reakcióit tudtuk kimutatni, míg DNS alapon csak a drasztikusabb külső behatások esetén tapasztaltunk változást. Mindez igazolta, hogy a mikrobiális közösségek kisebb hatásokra csak funkcionális profiljukat változtatják, sejtszámbéli összetételüket nem, ezért az RNS alapú eljárás alkalmazása aktivitás monitorozás céljából kifejezetten javasolt.

Az általunk vizsgált időszakban az ISD-K eleveniszapos medencéire érkező előkezelt szennyvíz aránylag egyenletes összetételű volt. Egyedül a nitrát koncentráció mutatott két októberi mintavételünkön kiugró értéket. A biodegradáció a legtöbb szennyező esetében a korábbiakhoz hasonló hatásfokkal zajlott, a rodanid esetében azonban bekövetkezett egy jelentős, a korábbi években tapasztaltaknál is drasztikusabb bontásbéli visszaesés. Ez a hatásfokromlás egy műszaki átalakítás (egylépcsősről kétlépcsős üzemmenetre való átállás), és a medencék hőmérsékletének jelentős csökkenése (egy hét alatt 6°C-os csökkenés) után következett be. Továbbá együtt járt a biológiai kezelés során korábban tapasztalt savanyodás elmaradásával, és a medencék szárazanyagtartalmának csökkenésével.

A mikrobiológiai vizsgálataink azt mutatták, hogy a rodaniddegradáció leromlásával egyidejűleg a baktérium közösség összetétele is jelentősen átrendeződött. Így a korábban domináns fenolbontó és flokkulumképző *C. badia* filotípus tagjainak abundanciája csökkent, míg a szintén fenolbontó, de flokkulumot nem képző *P. putida* rokon csoport aránya jelentősen nőtt. Mindeközben a rodanidbontásért felelősnek tartott filotípusok, élükön a *Thiobacillus* nemzetség tagjaival gyakorlatilag eltűntek a medencékből.

Az RNS alapú ujjlenyomatok azt mutatták, hogy az ismert hőmérséklet-érzékeny *C. badia* filotípus már két korábbi, alacsonyabb hőmérsékletű mintavételkor is csökkent aktivitású volt. Az üzemmenet váltással kismértékben megnőtt a medencék fenolterhelése, amit a lassult anyagcseréjű *C. badia* sejtek nem tudtak kellő gyorsasággal bontani, és ezért annak koncentrációja lokálisan megnövekedhetett. A nagyobb fenoltartalomra és a környezeti változásokra kevésbé érzékeny *Pseudomonas* nemzetség tagjai így képesek voltak a *C. badia* helyébe lépni, és annak fenolbontó szerepét átvenni, aminek köszönhetően a fenolbontás hatásfokában nem történt visszaesés. A *C. badia* intenzív flokkulumképzését viszont nem pótolta másik filotípus, amit a szárazanyagtartalom csökkenés is mutatott. A rossz szerkezetű eleveniszapban aztán számos filotípus, így a rodanidbontó *Thiobacillus* nemzetség tagjai sem tudtak fennmaradni, ami a rodanidbontás visszaeséséhez vezetett.

Hasonló hatások elkerülése végett az üzemeltetőknek a medencék temperálását javasoltuk, valamint azt, hogy amennyiben lehetséges a nagyobb üzemmenet váltásokat és karbantartási munkákat stabil külső paraméterekkel (hőmérséklet, terhelés) jellemezhető időszakokban végezzék.

Az ISD-K eleveniszapos medencéinek temperálását a kocszolóblokkok felesleges hőjét kihasználva, egy kisebb beruházás keretében már 2005 őszén megvalósították és a beszámolók szerint azóta nem tapasztaltak rodanidbontás visszaesését. Munkánk tehát nem csak mikrobiális ökológiai jelenségeket tárt fel, hanem hozzájárult a stabilabb üzemeltetés megvalósulásához is.

### LEGFONTOSABB EREDMÉNYEINK ÖSSZEGZÉSE

Összességében munkánk igazolta a szennyvizekhez köthető mikrobióta tenyésztés független eljárások segítségével történő vizsgálatának a létjogosultságát, hiszen mikrobiális ökológiai és szennyvíztechnológiai szempontból is fontos eredményeket értünk el, amelyeket a következőképp foglalhatunk össze:

1. Kidolgoztunk egy viszonylag gyors és egyszerű ammónia-oxidáló közösség monitorozó eljárást;
2. Hozzájárultunk szennyvizekre jellemző ezidáig tenyésztetlen ammónia-oxidáló filospéciesz jobb megismeréséhez;
3. Azonosítottuk egy eddig gyakorlatilag ismeretlen, fenolt, rodanidot és nitrátot bontó eleveniszap mikrobiális közösségének domináns tagjait;
4. Feltártunk mikrobiális szinten olyan ökológiai folyamatokat, mint egy adott niche-t (fenolbontás) betöltő K-stratégista (*Comamonas badia*) csoport drasztikus környezeti hatásokra bekövetkező leváltást egy r-stratégista (*Pseudomonas putida*) filotípussal
5. Eredményeink segítségével egyrészt igazoltuk egy műszaki újítás (nyomásesés szabályozású biofilm mosatás) kedvező mikrobiológiai hatását, másrészt olyan technológiai fejlesztésre (eleveniszapos medencék temperálása) tudtunk javaslatot tenni, amely azóta igazoltan stabilabbá tette egy szennyvíztisztító működését.

## A TÉZISEK ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

### Referált folyóiratokban megjelent cikkek

**Székely A.J.**, Sipos R., Berta B., Vajna B., Hajdú Cs., Márialigeti K. 2008. DGGE and T-RFLP analysis of bacterial succession during mushroom compost production and sequence aided T-RFLP profile of mature compost. *Microb Ecol.* 2008 Jul 25. *Epub ahead of print.*

Nikolausz M., Kappelmeyer U., **Székely A.**, Rusznyák A., Márialigeti K., Kästner M. 2008. Diurnal redox fluctuation and microbial activity in the rhizosphere of wetland plants. *Eur J Soil Biol.* 2008 May-June; 44(3):324-333.

Sipos R., **Székely A.J.**, 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.* 2007 May; 60(2):341-50. *Epub 2007 Mar 2.*

Tauber T., Berta B., **Székely A.J.**, Gyarmati I., Kékesi K., Márialigeti K., Tóth E.M. 2007. Characterisation of community structure of bacteria in parallel mesophilic and thermophilic pilot scale anaerobe sludge digesters. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2007 Mar; 54(1):47-55.

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.* 2005 Mar 15; 244(2):385-90.

**Székely A.J.**, Gorál R., Barkács K., Felföldi T., Márialigeti K. RNA and DNA based microbial community analysis of the effect of environmental changes on microbial community of coke plant wastewater activated sludge. *Előkészületben.*

### Fontosabb konferencia előadások és poszterek

**Székely A.J.** 2006. Molekuláris fingerprint a mikrobiális taxonómiában. A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2006. évi Nagygyűlése, Keszthely, Magyarország. *Felkért előadó.*

**Székely A.J.**, Gorál R., Barkács K., Tánicsics A., Révész S., Márialigeti K. 2006. Effect of environmental changes on microbial community of coke-oven wastewater treatment activated sludge. ISME-11, Bécs, Ausztria. *Poszter.*

**Székely A.J.**, Gorál R., Barkács K., Tánicsics A., Révész S., Márialigeti K. 2006. Microbial community analysis of activated sludge treating industrial wastewater. AXIOM Spring School, Lipcse, Németország. *Poszter - Best Scientific Poster Award.*

**Székely A.J.**, Felföldi T., Sipos R., Márialigeti K. 2004. Seasonal monitoring of the ammonia oxidizer bacteria of sewage treatment plant by TRFLP and real-time PCR. ISME-10, Cancun, Mexikó. *Poszter.*

Sipos R., **Székely A.J.**, Bujdosó L., Hajdú Cs., Márialigeti K. 2004. Tracking microbial communities during mushroom compost maturing with the prospect of selecting potential inoculants. ISME-10, Cancun, Mexikó. *Előadás.*

**Székely A.J.**, Felföldi T., Sipos R., Nikolausz M., Márialigeti K. 2003. Comparison of ammonia oxidizing community structure in different sewage treatment strategies by *amoA* TRFLP analysis. 14<sup>th</sup> International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Balatonfüred, Hungary. *Előadás –Legjobb előadás díja.*