

Bevezetés

A 2003-ban indult pályázat keretében, a korábbi évek előtanulmányaira is alapozva kijelöltük a hazánkban lévő bakteriális méretű algákban (pikoplankton) gazdag víztereket. Egész éves vizsgálatsorozattal meghatároztuk a fitoplankton számára releváns környezeti tényezőket és azok szezonális változását a kiválasztott hét jellegzetes vízterben. Vizsgáltuk a pikoplankton összetételének évszakos változását és részesedését a fitoplankton össz-tömegéből Duna-Tisza közti szikes tavakban (turbid vízterek), a Fertő-tóban és a Balatonban. A két legjellegzetesebb felső kiskunsági szikes tóban, a Zab-székben és a Kelemen-székben havi gyakoriságú mérésekkel meghatároztuk a pikoplankton uralta fitoplankton elsődleges termelését. Meghatároztuk a pikoplankton részesedését a planktonikus elsődleges termelésből a Balatonban is. Tekintettel arra, hogy a folyó vizek pikoplanktonja úgy hazai, mint világviszonylatban is teljesen ismeretlen, ötven állóvízre és ötven folyóvízre kiterjedő egyidejű vizsgálattal jellemeztük a hazai folyó vizek pikoplanktonjának alapvető sajátosságait. Alapvető és mindeddig hiányzó ismereteket szereztünk a hazai vizek pikoplanktonjának taxonómiai státuszáról. Két új morfortaxon tömeges előfordulását mutattuk ki a Fertő-tóból, Duna-Tisza közti szikes tavakból és a Balatonból. Molekuláris módszerekkel jellemeztük a Balaton, a Fertő-tó, a hazai és a vajdasági szikes tavak pikocianobaktérium együtteseit, valamint az általunk izolált édesvízi és szikes tavi pikoalga törzseket. Meghatároztuk egy szikes tavi pikocianobaktérium és egy pikoeukarióta törzs fotoszintézisének hőmérséklet és fényintenzitás függését, a kapott eredmények pedig meggyőző magyarázattal szolgáltak a természetben megfigyelhető eltérő viselkedésükre. A továbbiakban a felsorolt kutatások eredményeit foglaljuk össze.

A pikoplankton fizikai és kémiai környezete szikes tavakban

Hazánk Európa szikes vizekben leggazdagabb területe. Limnológiai kutatásuk közel félévszázados múltú, de elsősorban különleges kemizmusukra fókuszált. Eddig teljesen hiányzott a vízalatti fényviszonyok ismerete, továbbá algológiai kutatásuk a minőségi viszonyokra fókuszált és nem rendelkezünk mennyiségi adatokkal a legjellegzetesebb, ún. fehér-vízű szikes tavak planktonikus alga-együtteseiről. Tekintettel arra, hogy ezek a tavak pikoalgákban egyedülállóan gazdagok, 2004-ben vizsgálatsorozatot indítottunk vizük komplex, az alga együttesek létfeltételei szempontjából releváns tulajdonságai feltárására. Ennek keretében havi gyakorisággal vizsgáltunk 7 (Kelemen-szék, Zab-szék, Szabadszállási Büdös-szék, Kardoskúti-fehér-tó, Solti Bogárfő-szék, Böddi-szék, Pusztaszeri Büdös-szék)

jellegetes szikes tavat. Mértük vizükben a fotoszintetikusan aktív sugárzást radiométerrel, a Secchi-átlátszóságot. A lebegőanyagok koncentrációját, az oldott és a formált szerves szén koncentrációt, a víz színét (Pt-egység), a N és P formák koncentrációit, a fajlagos elektromos vezetőképességet, az oldott oxigént és a pH-t, valamint a nyolc fő-ion koncentrációját is meghatároztuk.

A vizsgált tavakra a Solti Bogárfő-szék kivételével a piszkosfehér szín volt a jellemző – azaz a hazai terminológia szerint fehér vizű szikes tavak – ami a magas lebegőanyag koncentráció következménye (maximum=37000 mg/l). Hasonlóan zavaros vizek Ausztráliából ismertek, bár a közölt legmagasabb lebegőanyag koncentráció ott csupán 1150 mg/l volt. Figyelemreméltó, hogy a tavak nemcsak az oldott és a formált ásványi anyagokban rendkívül gazdagok, hanem oldott és formált szerves anyagokban is. Az oldott szerves szén koncentrációk nagyságrenddel haladták meg pl. a Balaton értékeit, 100 mg/l felettiak voltak. Ezek az oldott anyagok barnás színűek, de ez a barna szín a lebegő részecskék miatt nem látszik. A víz alatti fényviszonyokat ezekben a tavakban a lebegő anyagok és az oldott szerves anyagok együttesen határozták meg, a kapcsolat szoros és szignifikáns volt. Ugyancsak szoros szignifikáns függvénykapcsolatot találtunk a Secchi-átlátszóság és a fotoszintetikusan aktív sugárzás extinkciója között. Egyértelműen megállapítottuk, hogy a fitoplankton szaporodását a tápanyagok nem limitálják ezekben a vizekben, a foszforból óriási a túlkínálat (>1000 µg/l), az ásványi N koncentráció rendszerint ennél kisebb, de mindig mérhető mennyiségű (Vörös et al. 2006).

Összefoglalva megállapítottuk, hogy vizük kemizmusát alapvetően a Na⁻, és a HCO₃⁻ ionok túlsúlya jellemzi, de jelentős bennük a Cl-ion mennyisége is, a pH értéke jellemzően 9-10 közötti. A fajlagos elektromos vezetőképesség értéke a 40000 µS/cm-t is elérheti. A tavak másik közös jellemzője a rendkívül kicsi átlátszóság, ami a fitoplankton számára fénylimitációt jelent, valamint a növényi tápanyagok túlkínálata. A néhány centiméteres (2-10 cm) eufotikus mélység különlegesen alacsony érték, amelyre a világon kevés példa van. Kirk (1996) összefoglaló munkájában a legkisebb eufotikus mélységet a világ felszíni vizeiben 20 cm körülre teszi. Townsend (2002) Ausztrália félszáraz trópusi területeinek „extrém turbid” vizeiben az „extrémén alacsony” eufotikus mélységet 19-49 cm mélynek találta.

A szikes tavak pikoplanktonja

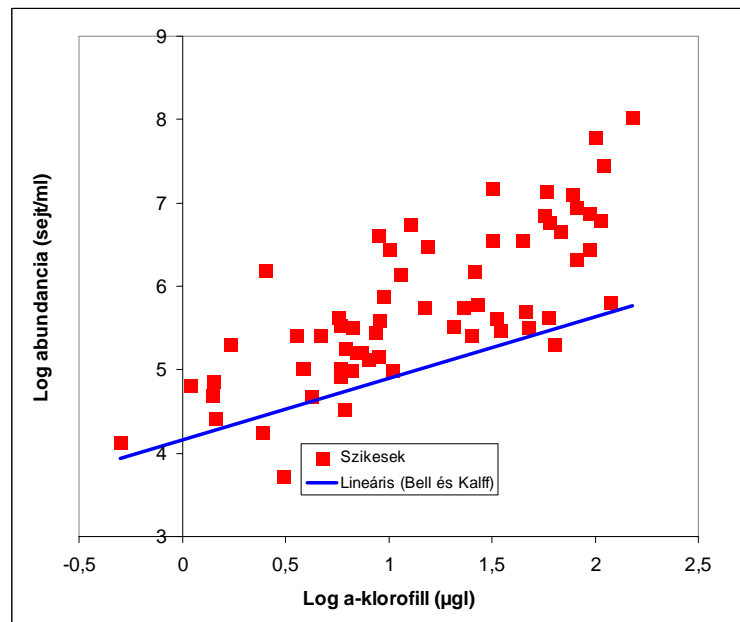
A pikoplankton mennyiségi vizsgálatát az előzőekben bemutatott szikes tavakon havi gyakorisággal végeztük. A pikoplanktont frissen gyűjtött rögzítetlen vízmintákban vizsgáltuk, a nano- és mikropikoplankton vizsgálatához Lugol-oldattal fixált mintát használtunk. A

pikoplankton vizsgálatára epifluoreszcens mikroszkópot (Nikon Optiphot 2) használtunk, kékesibolya és zöld gerjesztőfény alkalmazásával ily módon az eukarióta valamint a fikocianinban gazdag illetve a fikoeitrin pigmentdominanciájú sejtek elkülöníthetők (Vörös, 2004). A preparátumokról digitális kamerával (Spot RT) felvételeket készítettünk, amelyek feldolgozásával meghatároztuk a pikoplankton abundanciáját és pigment típusát. A piko-, nano- és mikropilankton biomasszáját a mikroszkópban felvett méretek alapján kiszámított sejtterfogatok és egyedsűrűségi adatok alapján becsültük ($10^9 \mu\text{m}^3=1 \text{ mg}$). A pigmenteket metanolban extraháltuk majd HITACHI F4500 fluoreszcens spektrofotométeren mértük a klorofill-a koncentrációját (Wetzel and Likens. 1991).

A 2003 (2001)- és 2006 között végzett rendszeres méréseink eredménye szerint a fehér vizű szikes tavakban időszakosan nagyon jelentős algalövegtömegek alakulnak ki, a fitoplankton tömege alapján mindegyikük vize hipertróf, az a-klorofill koncentrációk maximális értéke $100 \mu\text{g/l}$ feletti, a Szabadszállási Büdös-székben, és a Zab-székben megközelítette a $400 \mu\text{g/l}$ értéket. A mikroszkópi vizsgálatok szerint ezekben a tavakban a fitoplanktont kizárólag pikoeukarióták és pikocianobaktériumok alkotják, a vízmintákban előforduló nagyobb méretű algák a parti övből sodródhatnak be a nyíltvízbe. Télen és tavasszal a pikoeukarióták az uralkodók, nyáron pedig a fikocianin pigmentdominanciájú kokkoid pikocianobaktériumok. Fikoeitrines formát egy esetben sem észleltünk. A tavak pikoplankton gazdagsága önmagában is egyedülálló, azonban egyedülálló a tekintetben is, hogy hasonló trofitású tavakban részesezésük töredéke az itt észleltnek. A pikoplankton legnagyobb eddig közölt abundancia értéke a floridai Apopka tóban 10^7 sejt/ml nagyságrendű volt (Carrick and Schelske 1997), a Kiskunságban mennyiségük azonban meghaladta a 10^8 sejt/ml értéket.

A világ tavain és tengerein többek által megfigyelt és általános érvényűnek elfogadott összefüggés szerint, a pikoplankton részesezés oligotróf vizekben a legnagyobb és a trofitás növekedésével rohamosan csökken. Ezt az összefüggést igazoltuk hazai sekély édesvizeinkben is, kiegészítve néhány északi itáliai mély oligotróf tó adataival (Vörös et al. 1998). A vizsgált szikesek ezzel teljesen ellentétesen viselkednek, a trofitás növekedésével a pikoalgák részesezésük vizükben nő, és a legkisebb értékek is sokkal magasabbak, mint a nem szikes tavakban (Vörös et al. 2005). Ezért biztonssággal kijelenthető, hogy fehér vizű szikes tavaink algaösszetétel szempontjából rendkívül különlegesek, ami a már ismert kémiai és biológiai sajátosságokon túlmenően tovább növeli természeti értéküket. Bell és Kalff (2001) modellje szerint a világ tavaiban létezik egy összefüggés a pikoplankton abundanciája és a tó trofikus státusza között, a modell regressziós egyenese megfelel egy várható értéknek, amit a

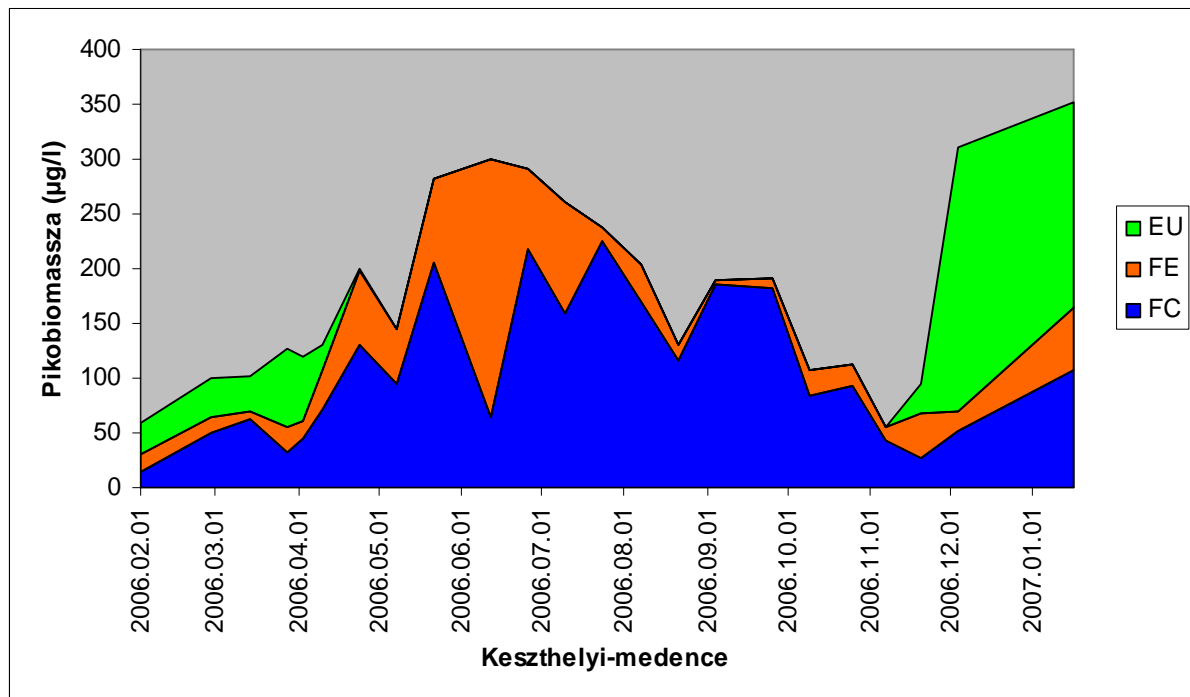
vizsgált szikes tavak jelentősen, egy-két nagyságrenddel túlszárnyalnak az 1. ábrán közöltek szerint.



1. ábra. Összefüggés a pikoplankton abundancia és a trofikus státusz (a-klorofill) között szikes tavakban. A tavak adatai egy-két nagyságrenddel meghaladják a Bell és Kalff (2001) modell által reprezentált várható értéket.

A pikoplankton szezonális dinamikája a Balatonban és a Fertő tóban

A pikoplankton abundanciájának és összetételének változását 2003- és 2006 között folyamatosan vizsgáltuk a Balatonban, kétheti gyakoriságú mintavételekkel a Siófoki- és a Keszthelyi-medencében. Eredményeink határozott szezonális dinamikát mutattak ki a pikoplankton összetételében és abundanciájában. A pikoplanktonnak három típusát különítettük el: 1. fikoeritrinben gazdag cianobaktériumok, amelyek a tó keleti mezotróf területére jellemzőek a nyári időszakban. 2. fikocianinban gazdag cianobaktériumok, amelyek a tó eutróf területének jellemző nyári szervezetei. 3. Piko-eukarióták, a téli pikoplankton jellemzői a tó egész területén (2. ábra).



2. ábra. A pikoplankton szezonális dinamikája a Balatonban (EU=pikoeukarióta, FE=fikoeritrin-, FC=fikocianin pigmentdominanciájú cianobaktériumok)

Az észlelt maximális pikeukarióta abundancia értékek (5×10^5 sejt/ml) a legmagasabbak, amit az irodalomban eddig közöltek. Szoros és szignifikáns összefüggést észleltünk a hozzáférhető N-formák koncentrációja és a kolóniás pikoalgák abundanciája között (Mózes et al. 2006). A pikoeukarióták hideg időszaki elszaporodását szikes tavakban is kimutattuk, az mindegyik vizsgált tóban karakterisztikus jelenség volt. Balatoni adatainkra támaszkodva összefüggést állapítottunk meg a pikocianobaktériumok pigment típusa és a víz alatti fény spektrális összetétele között, megállapítottuk továbbá, hogy a lebegő ásványi anyagok mennyisége, az oldott színes szerves anyagok koncentrációja valamint maguk az algák okozta önárnyékolás mértékével arányosan változik a pikoplankton pigment típusa. Megállapítottuk továbbá (holland-magyar kooperációban), hogy ez az összefüggés nem korlátozódik a Balatonra, és tengeri körülmények között is fennáll (Stomp et al. 2007).

A Fertő tóban 2004 április és október között vizsgáltuk a fitoplankton (piko-, nano- és mikroplankton) tömegének és összetételének változását a nyílt vízben valamint a nádasokban lévő un. belső tavakban, ily módon első ízben kaptunk teljes képet a tó fitoplanktonjáról/fitoszesztonjáról. Megállapítottuk, hogy a tó nyíltvizében tavasszal és ősszel a pikocianobaktériumok alkották a biomassza túlnyomó hányadát (maximum=75 %). A pikoalgák jelentős számbeli előfordulása a Fertőből eddig is ismert volt, de részesedésükről az

összes algabiomasszában eddig nem volt adat. A tó legtömegesebb szervezete egy eddig ismeretlen és általunk leírt pikocianobaktérium, az *Aphanothece pannonica* volt.

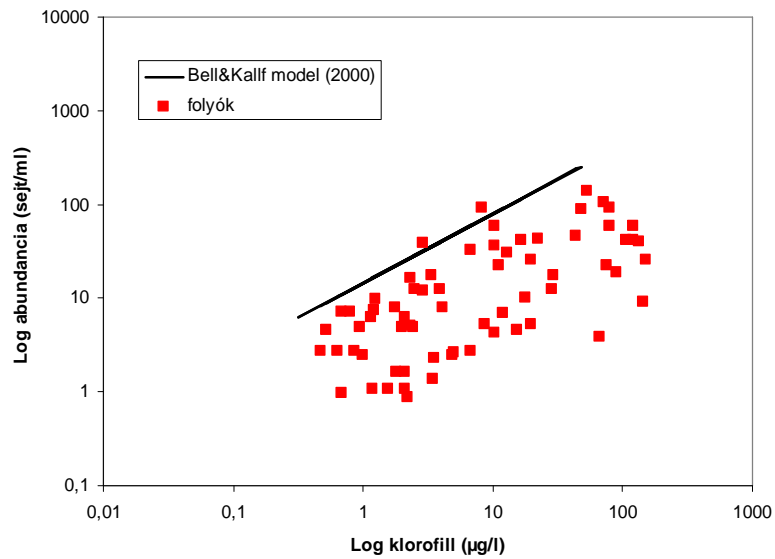
Alacsony pikoplankton abundancia folyó vizekben

A pikofitolankton tavakban illetve tengerekben való előfordulásáról, évszakos dinamikájáról, valamint produkciójáról számos közlemény született. A folyó tölcértorkolatok és a tengerparti lagúnák autotróf pikoplanktonjáról is viszonylag sok publikáció jelent meg. Az előzőekkel szemben jelenleg még igen keveset tudunk az autotróf pikoplankton (APP) folyóvizekben való elterjedéséről, mennyiségi viszonyairól, viselkedéséről. A Cambridge Scientific Abstract szerint tavi és tengeri pikoplanktonról napjainkig 1300 publikációt közöltek, miközben folyó vizek pikoplanktonjáról eddig csak 4 tanulmány készült. A folyóvízi pikoplanktonra vonatkozó nagyfokú ismerthiányból kiindulva célul tűztük ki, hogy átfogó képet kapjunk a magyarországi folyóvizek pikoplanktonjáról.

Munkánk során 50 magyarországi folyóvíz pikoplanktonját vizsgáltuk egyidejűleg. Ezzel párhuzamosan az összehasonlítás érdekében 54 állóvízből is mintákat vettünk. A mintavételt követően a vízmintákat azonnal lefagyasztottuk és a mikroszkópos vizsgálat bekövetkeztéig -20°C -on tároltuk. A pikoplankton vizsgálatához epifluoreszcens mikroszkópot használtunk. Az általunk vizsgált vizek esetében az APP abundanciája igen széles skálán mozgott, 1 ezer és 14 millió sejt ml^{-1} között változott. A vizsgált vizek egyharmadánál (36 víztér esetében) az APP egyedsűrűsége alacsony volt 10.000 sejt ml^{-1} alatti értékeket mutatott, a másik egyharmadnál mérsékelt 10.000 és 100.000 sejt ml^{-1} közötti volt az egyedsűrűség, a további 34 mintavételi helyen, pedig magas volt az APP abundanciája: 100.000 és $1.000.000$ sejt ml^{-1} . Öt víztér esetében különösen magas 10^6 sejt ml^{-1} fölötti értéket észleltünk, ebből 4 fehér vizű sekély, extrém turbiditással rendelkező Duna-Tisza közti szikes tó, egy pedig hipertróf holtág volt. A sekély tavi pikoplankton adatainkat összevetve a folyó vízi pikoplanktonnal a különbségek igen szembetűnőek, de figyelemreméltó a különbség a Bell és Kalff (2001) tavi modell és a folyóvizek adatai között is. (3. ábra).

Eredményeink alapján a pikoplankton abundanciája sekély tavakban 20-szor nagyobb, mint a vizsgált síkvidéki folyók esetében, azonos fitoplankton biomassa (a-klorofill) esetén. A pikofitoplankton összetételét illetően ki kell emelnünk azt, hogy az eukarióta APP részesedése a teljes pikoalga biomasszából jóval magasabb volt a folyók esetében (átlagosan 36 %), mint a tavakban (átlagosan 11%). Megállapítottuk, hogy a folyóvizek pikoplankton

szegénységét a pikocianobaktériumok alacsony abundanciája okozza. A vizsgált álló és folyó vizek pikoeukarióta abundanciája nem különbözött (Mózes et al. 2007).



3. ábra. Összefüggés a pikoplankton abundancia és a trofikus státusz (a-klorofill) között folyó vizekben, összevetve a Bell és Kalf (2001) tavi modell várható értékével.

A pikoplankton elsődleges termelése szikes tavakban

A havi gyakoriságú sötét világos palackos mérések során a Kelemen- és Zab-széken meghatároztuk a (március-augusztus) bruttó oxigéntermelés és respiráció térfogategységre és felületre (m^2) vonatkoztatott fajlagos értékeit. Az összesített adatokból megállapítható, hogy a napi fajlagos respiráció átlaga a vizsgált időszakban mindkét tavon meghaladta a bruttó oxigéntermelés átlagát.

1. táblázat A napi bruttó oxigéntermelés és respiráció fajlagos értékeinek összesített adatai

	Terület	Kelemen-szék (n ₁)		Zab-szék (n ₂)	
		<i>Bruttó termelés</i>	<i>Respiráció</i>	<i>Bruttó termelés</i>	<i>Respiráció</i>
2002	Egység				
Minta-elemszám	(n)	32	32	28	28
Átlag	O ₂ mg m ⁻² nap ⁻¹	780,9	1230,2	394,8	1510,9
Minimum	O ₂ mg m ⁻² nap ⁻¹	-35,6	105,6	-265,0	139,4
Maximum	O ₂ mg m ⁻² nap ⁻¹	2398,4	4999,9	2336,0	4909,8
Szórás (SD)	O ₂ mg m ⁻² nap ⁻¹	942,4	1473,0	716,9	1641,3

A respiráció átlag és maximum értékei egyaránt közel kétszerese volt a termelésnek. A napi átlagos bruttó oxigéntermelés szénben kifejezett fajlagos értéke szerint (Felföldi, 1987) a Kelemen-szék (244 mgC m⁻² nap⁻¹) oligo-mezotrófikus, míg a Zab-szék oligotrófikus (124 mgC m⁻² nap⁻¹) állapotú volt. A termelés és fogyasztás éves átlagának aránya a Kelemen-széken 0,6, a Zab-széken 0,3 volt, azaz mindkét területen, de különösen a Zab-széken jelentősen kisebb volt az egyensúlyi 1-es értéknél. A fitoplankton minden időpontban kizárólagosan pikoeukarióták és pikocianobaktériumok alkották, a maximális a-klorofill koncentráció a Zab-székben 348 µg/l, a Kelemen-székben 110 µg/l volt, azaz az algák tömege alapján a tavak hipertrófikus termőképességűek. Ez látszólag ellentmond az elsődleges termelés mérsékelt voltának, a magyarázat vizük zavarosságában keresendő. Másképpen fogalmazva a fitoplankton termelését ezekben a tavakban nem a tápanyagok, hanem a nagyfokú zavarosságból eredő fénylimitáció korlátozza. A tavak másik jellegzetessége, hogy a planktonikus élőlény-együtteseik respirációja jelentősen meghaladja a fitoplankton elsődleges termelését (nettó heterotrófia). Ez a jelenség a parti öv növényzetének termelésével illetve a tavakat felkereső madártömegek szervesanyag terhelésével függ össze (Vörös et al. 2006).

A pikoplankton részesedése az elsődleges termelésből a Balatonban

Az elmúlt évtizedekben a Balaton, de különösképpen a Keszthelyi-medence trofitása jelentősen csökkent, ezért megvizsgáltuk, hogy a Balaton oligotrofizálódása hatással volt-e a

pikoalgák fitoplanktonban betöltött szerepére. Ezért 2005-augusztusában fotoszintetronban, balatonvízzel végzett kísérletekkel meghatároztuk a teljes fitoplankton illetve a piko-frakció fotoszintézisének fényintenzitás függését ^{14}C módszerrel 10 és 400 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ fényintenzitás tartományban. A mérésekkel meghatározott empirikus függvények megadták az egyes frakciók fotoszintézisének paramétereit (P_{\max} , I_k és α értékek).

A fitoplankton fotoszintézisének mérése során Keszthelynél kaptuk a legmagasabb, Tihanynál pedig a legalacsonyabb produktivitási értéket (P_{\max} : Keszthelyi-medence: 210 $\mu\text{gC}/\text{l}/\text{h}$, Szigligeti-medence: 157 $\mu\text{gC}/\text{l}/\text{h}$, Szemesi-medence: 103 $\mu\text{gC}/\text{l}/\text{h}$, Siófoki-medence: 72 $\mu\text{gC}/\text{l}/\text{h}$). A pikoalgák részesedése az elsődleges szervesanyag termelésből ezzel ellentétben a Keszthelyi-medencében volt a legalacsonyabb, míg a kevésbé eutróf Siófoki-medencében a legmagasabb. A Balaton hossz tengelyében a trofitás csökkenésével a Keszthelyi-medencétől a Siófoki-medence felé a pikoalgák részesedése az összes produktióból növekedett (Keszthelyi-medence: 23%, Szigligeti-medence: 35%, Szemesi-medence: 37%, Siófoki-medence: 54%). A jelenlegi eredmények és a korábbi, 1986-os mérések is azt mutatják, hogy a Balatonban más tavakhoz hasonlóan inverz kapcsolat van a pikoalgák részesedése és a tó trofikus állapota között (Somogyi és Vörös 2006).

Morfotaxonok a Balatonból, a Fertő-tóból és a Duna-Tisza közti szikesekből

A Balatonban először 2003 telén figyelték meg, hogy az alacsony hőmérséklet és a fényszegény körülmények ellenére gazdag pikoalga népeség alakult ki, melyben pikoeukarióták domináltak (Mózes és Vörös 2004). A pikoeukarióta algaközösség vizsgálata során egy igen jellegzetes, pálcika alakú, piko-méretű algataxont figyeltünk meg, amely a Balaton Keszthelyi-medencéjében az elmúlt három év (2004-2007) téli-tavaszi időszakában egyaránt előfordult. A 2006/2007-es enyhe tél folyamán a Keszthelyi-medencében egy jelentős pikoalga tömegprodukción figyeltünk meg ($1,3 \times 10^5$ sejt/ml-es abundanciával), mely során a pálcika-alakú pikoeukarióta alga mennyisége megközelítette az 1×10^5 sejt/ml-es értéket. A pálcika alakú sejtek színe halvány zöld, méretük 3,6- 13 μm (átlagosan 6 μm) x 0,8 és 1,4 μm (átlagosan 1,2 μm) között változik, egy kloroplasztiszt tartalmaznak, mely nem tölti ki az egész sejtet. Néhány esetben megfigyeltünk olyan nagy méretű (12-13 μm) sejteket, amelyekben két szélső elhelyezkedésű kloroplasztiszt találtunk, valószínűleg ezek a sejtek az osztódás előtt nyúltak meg és a kloroplasztisz is ezért duplázódott meg.

Egy molekuláris technika, a fluoreszcens in situ hibridizáció lehetővé teszi a mikroorganizmusok tenyésztés nélküli csoport-szintű filogenetikai azonosítását, mely

segítségével bebizonyosodott, hogy a pálcika-alakú pikoekarióta alga a *Chlorophyta* törzsbe tartozik. A sejtek kis mérete, valamint a jellegzetes pálcika-alak alapján az új morfotaxon a *Chlorophyta* törzs *Stichococcus* nemzetségébe tartozik.

A múlt században a Duna-Tisza közti szikes tavak és a Fertő-tó algavilágát igen széles körben tanulmányozták, sok új alfafajt írtak le ezekből a speciális vizezerekből (PADISÁK & DOKULIL 1994, DOKULIL & PADISÁK 1994, SCHMIDT 2003), a bakteriális méretű pikoalgák vizsgálata azonban csak az elmúlt években kezdődött az epifluoreszcens mikroszkópia elterjedésével. A hazai szikes tavak pikoplanktonjának vizsgálata során egy igen jellegzetes, a tudományra nézve új kolóniás pikocianobaktérium tömegprodukciónját figyeltünk meg, a fajnak az *Aphanothece pannonica* nevet javasoltuk.

Ezt az algát 2005 áprilisában ($0,5 \times 10^6$ sejt/ml-es abundanciával) és júliusában (2×10^6 sejt/ml-es abundanciával) figyeltük meg a kiskunsági Kastély-tóban, 2005 májusában a Fertő-tó nyíltvízi részein (1×10^6 sejt/ml-es abundanciával), valamint 2006 novemberében a Böddi-székben ($1,4 \times 10^6$ sejt/ml-es abundanciával). Az új pikocianobaktérium taxon szabadon úszó kolóniái gömb, ritkábban ovális alakúak, gyakran 2-3 (6) kolónia egymáshoz kapcsolódva alkot egy szabálytalan formájú nagyobb kolóniát, melynek mérete még így sem haladja meg a $20 \mu\text{m}$ -t. A kolóniát felépítő sejtek száma átlagosan 4 vagy 8, de egyedülálló sejteket (monocitákat) is megfigyeltünk. A kolóniákat (és a magányos sejteket is) jellegzetes, határozott körvonalú kocsonyaburok határolja, melyhez ásványi szemcsék tapadnak. A sejtek alakja a gömbtől az ovális alakig változik, méretük $1,4-1,6 \times 1-1,2 \mu\text{m}$, színük halvány kékeszöld, epifluoreszcens mikroszkópban fikocianin pigmentdominanciát mutatnak. A sejtek a kolóniákban többé-kevésbé szabályosan, de lazán helyezkednek el. Az ovális sejtek igen kis mérete, valamint a sejtek körüli önálló kocsonyaburok hiánya alapján ez az új taxon az *Aphanothece* nemzetségbe tartozik, előfordulása pedig valószínűleg a tavak speciális kemizmusának tulajdonítható.

Természetes fitoplankton együttesek molekuláris vizsgálata

Munkánk során számos hazai sekély tó (Balaton, duna-tisza közti szikes tavak, Fertő-tó), valamint két vajdasági szikes tó planktonjának molekuláris biológiai jellemzését végeztük el PCR alapú technikákkal (DGGE, klónozás). Magyarországon a fotoautotróf pikoplankton ilyen részletes molekuláris biológiai elemzésére korábban még nem került sor.

Denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE) vizsgálatok

A denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE, Muyzer és Mtsai 1993) során a környezeti, kevert PCR termék elválasztása a DNS olvadási tulajdonságain alapul egy denaturáló szert tartalmazó gélben történő elektroforézissel, itt az egyedi sávok szintén alkalmasak szekvenciaanalízisre. Tíz víztérből származó 25 fitoplankton minta DGGE vizsgálatát végeztük el (PCR: 16S rDNS specifikus CYA359F-GC és CYA781R primerek segítségével) az elektroforetikus elválasztott egyedi sávok szekvencia-analízisével. A kapott környezeti klónok többsége (21 klón) a *Synechococcus* genushoz tartozott, melyek a pikofitoplankton kládon belül kilenc különböző csoportot (taxon?) alkottak. Ezek közül a csoportok közül ötöt csak egy környezeti klón, míg a négyet több klón (2-7) alkotott.

1. Kelemen-szék (28-as klón): közép európai szubalpin tavak csoportjával rokon
2. Fertő-tó (14-es, 31-es klón): *Cyanobium gracile* csoporthoz tartozik pl: Lake Constance, tengerparti mocsár, japán édesvíz.
3. Böddi-szék (33-as klón): thaiföldi sekély tóból izolált törzssel rokon.
4. Ruzsanda tó (32-es, 11-es és 8-as klón) és Böddi-szék (17-es klón): elkülönülő csoport (ismeretlen taxon?) a pikofitoplankton kládon belül.
5. Csongrád-Bokrosi kis-sóstó (7-es, 10-es, 16-os és 30-as klón), Böddi-szék (9-es, 12-es klón) Kiskunsági Kastély-tó (29-es klón) jól elkülönülő csoport melynek egyetlen ismert rokon képviselője környezeti klón formájában a Kinneret-tóból ismert.
6. Böddi-szék (27-es klón): a japán Biwa-tóból és félsós mangrove mocsárból izolált törzsekkel mutatott rokonságot.
7. Szabadszállási Búdös-szék (23-as klón), Zab szék (24-es klón), Csongrád-Bokrosi kis-sóstó (25-ös klón): jól elkülönülő csoport, legközelebbi rokonaik japán tengeröbölből, és félsós mocsárból kerültek elő.
8. Kiskunsági Kastély-tó (26-os klón): a Bajkál-tóból izolált pikocianobaktérium törzssel mutatott 100% szekvencia egyezést a vizsgált DNS szakasz alapján.
9. Kiskunsági Kastély-tó (20-as klón): szekvenciája relatíve mélyen helyezkedett el a *Synechococcus* izolátumok 16S rDNS alapú törzsfájában, semmiféle eddig ismert szekvenciával sem mutatva közeli hasonlóságot.

Ezek az elkülönülő csoportok, amelyek a szikes tavi fitoplankton minták DGGE vizsgálata során kerültek elő, mutatják, hogy ezek a sekély, turbid vizek eddig nem ismert típusú és 16S rDNS-üket tekintve meglehetősen változatos pikoalgákkal népesülnek be. Ezeket a különbségeket mikroszkópi vizsgálattal nem lehet kimutatni.

Klónozás és szekvenálás

A klónozás és szekvenálás (Giovannoni és mtsai 1990) során a környeti mintára végzett PCR eredményeként nyert különböző mikroorganizmusok DNS-ének keverékét kapjuk termékként, ezeket plazmidokba zárjuk, majd kompetens *E. coli* sejtek segítségével választjuk el egymástól, végül az így kapott klónok szekvencia analízise történik meg. Egy balatoni és egy szikes tóból (Zab-szék) származó minta 16S rDNS alapú klónozását végeztük el a cianobaktériumok (és kloroplasztiszok) 16S rDNS-ére specifikus CYA106F és CYA781R primereket alkalmazva *E. coli* DH5α sejteket transzformálva.

A cianobakteriális klónok majdnem kizárólagosan a *Synechococcus* genus képviselői voltak. A klónok többsége édesvízből származó izolátumokkal mutatott 97,8-99,6 %-os szekvencia hasonlóságot, legtöbbjük közeli rokon szekvenciái az ausztriai oligo-mezotróf szubalpin tavak (Halstattersee és Mondsee) valamelyikéből (Crosbie és mtsai, 2003a, Crosbie és mtsai, 2003b) vagy a Japánban található Lake Biwa-ból származnak (Maeda és mtsai 1992). Legérdekesebb talán a Keszthelyi-medence egyik klónja, amelynek két legközelebbi rokona japán brakkvizes területről, illetve Balti-tengerből származó *Synechococcus* izolátumok.

Általánosságban elmondható, hogy a Zab-székről vett minta molekuláris biológiai elemzése kevésbé diverz fotoautotróf közösségre enged következtetni (kevesebb klónsalád, kevesebb cianobaktérium és plasztisz 16S rDNS típus). Mindez összefüggésbe hozható az extrém fizikai-kémiai környezettel (rosszabb fényviszonyok, nagyobb sókoncentráció).

Pikoalga törzsek izolálása

A Duna-Tisza közti szikes tavak pikoalga közösségeinek vizsgálata (DGGE) azt mutatta, hogy ezek a speciális élőhelyek sajátos, eddig nem ismert pikoalga taxonokkal népesülnek be. Epifluoreszcens mikroszkópi vizsgálatok alapján a szikes tavak pikoplanktonját a Balatonhoz és más vízterekhez hasonlóan túlnyomórészt cianobaktériumok, az év őszi-téli periódusában pedig piko-eukarióták alkotják. A tihanyi alga törzsgyűjteményben (Algal Culture Tihany = ACT) számos, a Balatonból izolált pikocianobaktérium törzs található, ezzel szemben a hazai szikes tavak pikoalga közössége csak a fitoplankton mintákból kivont közösségi DNS (környezeti klónok) alapján ismert, ezért célunk volt Duna-Tisza közti szikes tavakból

pikocianobaktérium és pikoeukarióta alगतörzsek izolálása, valamint az izolált törzsek azonosítása és jellemzése.

A szikes tavi pikoalgák izolálásához a megfelelő körülmények – táptalaj, fény, hőmérséklet – kikísérletezése volt az első feladat. A Göttingen-i alga törzsgyűjtemény BWM („brackish water medium”) jelzésű tápoldatának a szikes tavakban előforduló körülményekhez igazított változata bizonyult a legmegfelelőbbnek. Az eredeti BWM tápoldat összetételében használt tengervíz helyett 0,45 µm-es pórusméretű filteren átszűrt szikes tóvizet alkalmaztunk. A kész tápoldat vezetőképességét 5000 µS/cm értékre állítottuk NaCl és NaHCO₃ oldatok segítségével. A kihűlt és megszilárdult táptalajok felületére szélesztettük a tavak algaegyütteseit, majd a petricsészéket különböző hőmérsékleti és fényviszonyok között inkubáltuk: 21-26 °C és 20-100 µmol m⁻² sec⁻¹ fényintenzitás között. A törzsek izolálása során az első szélesztést követően kialakuló egyedi telepeket újabb agarlemezre szélesztve tisztítottuk, majd BWM tápoldatban kezdtük el szaporítani. Az egyedi telepek kialakulása átlagosan 4-6 hét alatt következett be. Az előbb ismertetett módszer segítségével hat pikocianobaktérium és négy pikoeukarióta törzset izoláltunk a Böddi-székből, valamint öt pikoeukarióta törzset a Zab-székből.

Izolált pikocianobaktérium törzsek azonosítása molekuláris módszerekkel

A pikoplankton közösségek diverzitásának analízise mellett 16, a Balatonból, Duna-Tisza közti szikes tavakból, és két székesfehérvári halastóból származó izolátum taxonómiai célú genetikai karakterizálása is megtörtént. Törzseink karakterizálását két filogenetikai markermolekula (Zuckerlandl és Pauling 1965) alapján végeztük el, a rokon törzsek közötti különbségek felderítésére genomi újjlenyomat vizsgálatot végeztünk (Welsh és McClelland 1990).

A tizenhat izolátum öt csoportot (taxon) alkotott:

1. A Balatonból izolált hét fikocianinos törzs a *Cyanobium gracile* csoporthoz (A) tartozott. A csoport többi képviselői finnországi, japáni, nyugat-európai édesvizetkből illetve francia tengerparti mocsárból ismertek.
2. Az egyetlen fikoeritrin pigment dominanciájú balatoni törzs a szubalpin (B) klaszterhez tartozott (közép-európai szubalpin tavak)
3. A két székesfehérvári izolátum az F csoporthoz mutatott közeli hasonlóságot (amerikai édesvizetkből ismertek)

4. A Böddi-székből származó *Synechococcus*ok (ACT-0611, ACT-0612, ACT-0613, ACT-0615) egy olyan csoportot (és egyben új taxont?) alkottak, amely mindezülig kizárólag egy a Kinneret tóból származó környezeti klónnal és a saját a Böddi-székből, a Csongrád-Bokrosi kis sóstóból, illetve a kiskunsági Kastély-tóból származó DGGE klónokkal volt reprezentálva
5. A Böddi-székből izolált ACT-0616 jelű törzs egy thaiföldi sekély tóból izolált törzssel, illetve egy böddi-széki környezeti klónnal mutatott rokonságot.

Az izolált törzsek molekuláris vizsgálati eredményei a környezeti DNS vizsgálatok eredményeivel egybehangzóan bizonyítják, hogy hazai vízterek *Synechococcus* flórája gazdag és diverz. Hazai *Synechococcus* taxonjaink nagyon sokféle, a világ különböző tájairól, édes és felsős vízi környezetből származó törzsekkel mutattak rokonságot. A böddi-széki törzsek a pikofitoplankton klád egy új, eddig tenyésztésbe nem vont csoportját képviselik. A kapott eredmények egyértelműen dokumentálják, hogy a pikoplankton diverzitásának vizsgálata molekuláris technikák nélkül nem valósítható meg, mikroszkópi vizsgálattal egy-két kivételes esettől eltekintve (lásd morfotaxonok fejezet) a pikoalgák diverzitása nem mutatható ki.

A pikoalga törzsek fotoszintézisének fényintenzitás és hőmérséklet függése

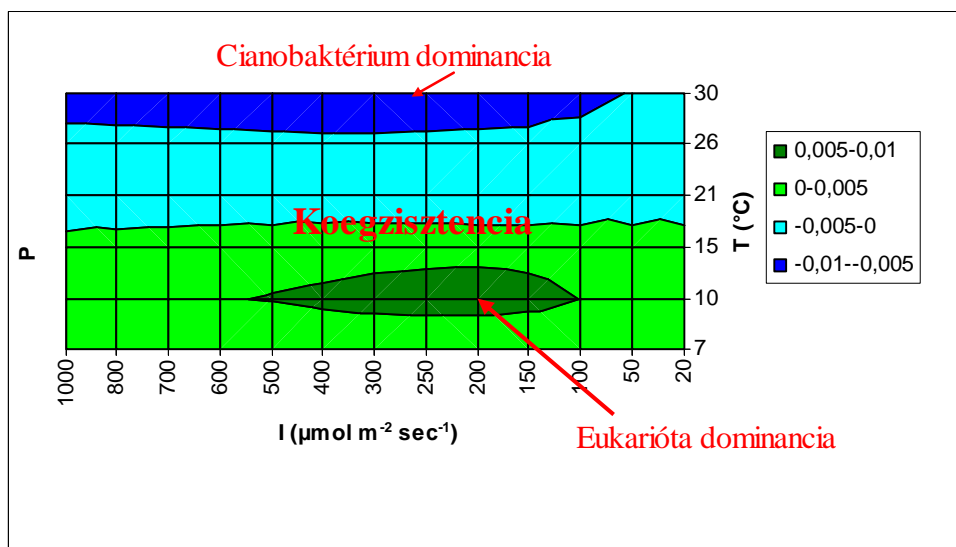
Ismeretes, hogy a pikoplankton a mérsékelt éghajlati övben sajátos szezonális dinamikát mutat: nyáron pikocianobaktériumok, míg ősztől tavaszig pikoeukarióták dominálnak (Porter et al., 1988; Søndergaard, 1991; Malinsky-Rushansky et al., 1995). Ugyanezt a jelenséget figyeltük meg a Balaton és egyes Duna-Tisza közti szikes tavak esetében is (Mózes et al. 2006, Vörös et al. 2005). A szezonális dinamika okainak megismerése céljából célul tűztük ki a Böddi-székből izolált ACT0608-as törzsszámú pikoeukarióta és az ACT0616-os törzsszámú pikocianobaktérium törzs fotoszintézisének vizsgálatát különböző hőmérsékleti és fényviszonyok között.

Az ACT0608-as törzsszámú pikoeukarióta törzset gömb alakú magányos sejtek jellemzik, melyek átmérője 1,5-2 μm . A sejtek klorofill-a tartalma 32 fg/sejt volt, ez biomasszára (nedves tömeg) vonatkoztatva 1%-ot jelentett. Az ACT0616-os törzsszámú fikocianin pigmentdominanciával rendelkező pikocianobaktérium törzs ellipszoid sejteinek hossza 1,2 μm , szélessége pedig 0,8 μm . A sejtek klorofill-a tartalma 5,2 fg/sejt volt, mely biomasszára vonatkoztatva ugyancsak 1%-ot jelentett. A két algatörzs fotoszintézisének mérése 10, 15, 21, 26 és 30 °C-on történt – az adott hőmérsékleten nevelve az algákat – az oldott oxigén mérésén alapuló sötét-világos palack módszerrel. A produkció mérését

fotoszintetronban, hét különböző fényintenzitáson ($15\text{-}1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$) minimum két órán keresztül végeztük, félóránként mérve a minták oxigén koncentrációját. A mérési adatokat az Eilers & Peeters (1988) modell segítségével értékeltük, meghatározva a fotoszintetikus paramétereket: a maximális fotoszintetikus rátát (P_{max}), a fényteltési paramétert (I_k) és a fény-hasznosítási koefficiens (α). Ezeken kívül bevezettünk egy, a fénygátlás jellemzésére szolgáló paramétert: a 25%-os fénygátlást.

A kapott fotoszintézis-fényintenzitás görbék összehasonlítása során a pikoeukarióta törzs elsődleges termelése (P_{max} : $0,012 \text{ mgO}_2 \mu\text{gChl}^{-1} \text{ h}^{-1}$) $10 \text{ }^\circ\text{C}$ -on minden fényintenzitáson jóval meghaladta a pikocianobaktérium elsődleges termelését (P_{max} : $0,0058 \text{ mgO}_2 \mu\text{gChl}^{-1} \text{ h}^{-1}$). A hőmérséklet emelkedésével ez a különbség csökkent: $15 \text{ }^\circ\text{C}$ -on az eukarióta törzs produkciója még mindig meghaladta a cianobaktériumét, de már nem olyan nagy mértékben, mint $10 \text{ }^\circ\text{C}$ -on. A hőmérséklet további emelkedésével megfordult a helyzet, $21 \text{ }^\circ\text{C}$ -on a pikocianobaktérium törzs produkciója volt magasabb a pikoeukarióta törzs elsődleges termelésénél, $30 \text{ }^\circ\text{C}$ -on pedig ez a különbség a többszörösére növekedett, a pikocianobaktérium elsődleges termelése (P_{max} : $0,025 \text{ mgO}_2 \mu\text{gChl}^{-1} \text{ h}^{-1}$) minden fényintenzitáson magasan felülmúlta a pikoeukarióta törzs elsődleges termelését (P_{max} : $0,0083 \text{ mgO}_2 \mu\text{gChl}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Az Eilers & Peeters modell segítségével a vizsgált hőmérsékleteken az illesztett P-I görbék paraméterei alapján kiszámítottuk a különböző fényintenzitásokhoz ($20\text{-}1000 \mu\text{mol/m}^2/\text{sec}$) tartozó produkció értékeket, majd ábrázoltuk azok két törzs között észlelt különbségeit (4. ábra).



4. ábra A vizsgált eukarióta (ACT 0608) és prokarióta (ACT 0616) pikoalga törzs fotoszintézisének fény és hőmérséklet függése

A kiszámított értékek alapján e két törzs között egyértelmű pikoeukarióta dominancia 9-13 °C és mintegy 100-500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ fényintenzitáson lehetséges, egyértelmű pikocianobaktérium dominancia pedig 26°C felett és szélesebb fényintenzitás tartományban: mintegy 100-1000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ között a legvalószínűbb.

A Duna-Tisza közti szikes tavakból izolált pikoalga törzsek fotoszintézis vizsgálata segített megérteni a pikoplankton sajátos szezonális dinamikájának okait. Megállapítottuk, hogy a hőmérséklet igen fontos szerepet játszik a pikoeukarióta algák szezonális dominanciájában a Duna-Tisza közti szikes tavak esetében. A hőmérséklet mellett a fény is fontos szabályozó tényező, hiszen e két törzs fotoszintézis adatai alapján az eukarióták alacsonyabb fényintenzitáson juthatnak dominanciához, mint a cianobaktériumok. A Duna-Tisza közti szikes tavakban (és minden bizonnyal más tavakban is) a fény és a hőmérséklet változása együtt szabályozza a pikoalgák szezonális szukcesszióját (ezekben a tavakban a növényi tápanyagok nem limitálnak).

Publikálásra váró eredmények

A következő lista a téma keretében közlésre már benyújtott illetve a 2007-évben tervezett publikációkat tartalmazza.

- FELFÖLDI, T., SOMOGYI, B., MÁRIALIGETI, K., VÖRÖS, L. (2007): Molecular characterization of picoplankton assemblages of inland saline lakes. – *Journal of Plankton Res.* (IF: 1,365)
- FELFÖLDI, T., SOMOGYI, B., NIKOLAUSZ, M., MÁRIALIGETI, K., VÖRÖS, L. (2007): Genetic analysis of picocyanobacterial isolates from Central European shallow lakes. – *Journal of Plankton Res.* (IF: 1,365)
- MÓZES A., B. KISS and L. VÖRÖS (2006): Low abundance of picoplankton in running waters. - *Internat. Rev. Hydrobiol.* (IF: 0,828) (submitted).
- SOMOGYI B., M. DINKA and L. VÖRÖS: Phytoplankton studies on the Hungarian part of Lake Fertő (Neusiedlersee) - *Acta Botanica Hung.*
- SOMOGYI B., J. VANYOVSKYI, Á. ÁGYI AND L. VÖRÖS (2006): Comparative study of the photosynthesis of eukaryotic and prokaryotic picoalgal strains – *Hydrobiologia* (IF:0,978) (submitted)
- SOMOGYI B., VANYOVSKYI J., ÁGYI Á., & VÖRÖS L. (2006) Eukarióta és prokarióta pikoalga törzsek fotoszintézisének összehasonlító vizsgálata – *Hidrológiai Közlemény* (elfogadva)
- SOMOGYI B., VÖRÖS L. (2007) *Aphanothece pannonica*, a new chroococcal blue-green alga from Hungarian shallow soda lakes – *Arch. Hydrobiol. Suppl.* (IF:1,324 - *Algalological Studies* (submitted)
- VÖRÖS L. B. SOMOGYI and E. BOROS (2006): Net heterotrophy in Hungarian soda lakes- *Acta Zoologica* (IF: 0,113) (submitted)

VÖRÖS L., E. BOROS and K. V.-BALOGH (2007): Picoplankton predominance in shallow turbid alkaline lakes. – *Journal of Plankton Research* (IF: 1,365)

Irodalomjegyzék

- BELL T. & KALFF J. (2001): The contribution of picoplankton in marine and freshwater system of different trophic status and depth. *Limnol. Oceanogr.*, 46: 1243-1248.
- CARRICK, H. J. and SCHELSKE, C. L. (1997) Have we overlooked the importance of small phytoplankton in productive waters? – *Limnol. Oceanogr.* 42: 1613-1621.
- CROSBIE, N.D., PÖCKL, M., WEISSE, T. (2003a) Rapid establishment of clonal isolates of freshwater autotrophic picoplankton by single-cell and single-colony soring. *J Microbiol Meth* 55: 361-370.
- CROSBIE, N.D., PÖCKL, M., WEISSE, T. (2003b) Dispersal and phylogenetic diversity of nonmarine picocyanobacteria, inferred from 16S rRNA gene and *cpcBA*-intergenic spacer sequence analyses. *Appl Environ Microbiol* 69: 5716-21.
- DOKULIL, M. T. & PADISÁK, J. (1994) Long-term compositional response of phytoplankton in a shallow, turbid environment, Neusiedlersee (Austria/Hungary). – *Hydrobiologia* 275/276:125-137.
- EILERS, P. H. C., & PEETERS, J. C. H. (1988) A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton. – *Ecological Modelling* 42:199-215.
- GIOVANNONI, S. J., T. B. BRITSCHGI, C. L. MOYER, K. G. FIELD. (1990) Genetic diversity in Sargasso Sea bacterioplankton. *Nature* 345:60-63.
- KIRK, J. T. O. (1996): Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Cambridge Univ. Press. pp. 509.
- MAEDA, H., A. KAWAI, M.M. TILZER. (1992) The water bloom of Cyanobacterial picoplankton in Lake Biwa, Japan. *Hydrobiol* 248: 93-103.
- MALINSKY-RUSHAANSKY, N., T. BERMAN & Z. DUBINSKY (1995) Seasonal dynamics of picophytoplankton in Lake Kinneret, Israel. – *Freshwater Biol.* 34: 241-254.
- MÓZES A., B. KISS and L. VÖRÖS (2007) Low abundance of picoplankton in running waters. - *Internat. Rev. Hydrobiol.* (submitted).
- MÓZES A., PRÉSING M. & VÖRÖS L. (2005) Piko-eukarióták és pikocianobaktériumok a Balaton fitoplanktonjában. *Hidrológiai Közlöny* 85: 97-99.
- MÓZES A., PRÉSING M. & VÖRÖS L. (2006) Seasonal dynamics of picocyanobacteria and picoeukaryotes in a large shallow lake (Lake Balaton, Hungary). – *Internat. Rev. Hydrobiol.* 91: 38-50.
- MÓZES, A. & VÖRÖS, L. (2004) Különleges pikoplankton együttesek a befagyott Balatonban. – *Hidrológiai Közlöny* 84: 180-182.
- MUYZER, G., E.C. DE WAAL ÉS A.G. UITTERLINDEN. (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol.* 59: 695-700.
- PADISÁK, J. & DOKULIL, M. T. (1994): Meroplankton dynamics in a saline, turbulent, turbid shallow lake (Neusiedlersee, Austria and Hungary). – *Hydrobiologia* 289:23-42.
- PORTER, K. G., H. PEARL, R. HODSON, M. PACE, J. PRISCU, B. RIEMANN, D. SCAVIA & J. STOCKNER (1988) Microbial interactions in lake food webs. – In: S.R. Carpenter (Ed.), *Complex interactions in lake communities*. Springer-Verlag, New York: 209-228.
- SCHMIDT, A. (2003) A kiskunsági szikes tavak (KNP II) összehasonlító vízkémiai vizsgálata – *Természetvédelmi Közlemények* 10:153-162.
- SOMOGYI B., VÖRÖS L. (2006) A pikoplankton fotoszintézisének karakterisztikái sekély tavakban. – *Hidrológiai Közlöny* 86:110-112.

- SØNDERGAARD, M. (1991) Phototrophic picoplankton in temperate lakes: seasonal abundance and importance along a trophic gradient. – *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 76(4): 505-522.
- STOMP, M., J. HUISMAN, L. VÖRÖS, F. PICK, M. LAAMANEN, T. HAVERKAMP, L. STAL (2007) Colourful coexistence of red and green picocyanobacteria in lakes and seas. – *Ecology Letters* 10: 290-299.
- VÖRÖS L., BOROS E., SCHMIDT A, V.-BALOGH K., NÉMETH B. SOMOGYI B. ÉS MÓZES A. (2006) A fitoplankton fizikai és kémiai környezete fehér vizű szikes tavakban. – *Hidrológiai Közlöny.* 86: 139-141.
- VÖRÖS L., V.-BALOGH K. & BOROS E. (2005) Pikoplankton dominancia szikes tavakban. *Hidrológiai Közlöny* 85: 166-168.
- VÖRÖS, L. (2004) A fotoautotróf pikoplankton mennyiségi és minőségi vizsgálata epifluoreszcens mikroszkóppal. – In: Ács É. és Kiss K.: *Algológiai praktikum*, ELTE Eötvös Kiadó, Budapest, p: 47-54.
- VÖRÖS, L., C. CALLIERI, K. V.-BALOGH & R. BERTONI (1998) Freshwater picocyanobacteria along a trophic gradient and light quality range. *Hydrobiologia* 369/370: 117-125.
- WELSH, J., M. MCCLELLAND. (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl Ac Res.* 18: 7213-18.
- WETZEL, R.G. and G.E. LIKENS (1991) *Limnological Analyses.* 2nd Ed. Springer-Verlag New York. 391 pp.
- ZUCKERKANDL, E; L. PAULING. (1965) Molecules as documents of evolutionary history. *Journal of Theoretical Biology* 8: 357-366.