

# *Ecology of Lake Balaton/ A Balaton ökológiája*

MTA ÖK BLI Elektronikus folyóirata  
2016. 3: 8-15.



## **AEROB ANOXIGENIKUS FOTOTRÓF BAKTÉRIUMOK MENNYISÉGE ÉS SZEZONÁLIS DINAMIKÁJA A BALATONBAN**

**Tugyi Nóra\*, Vörös Lajos, Somogyi Boglárka**

MTA Ökológiai Kutatóközpont, Balatoni Limnológiai Intézet, 8237 Tihany,  
Klebelsberg Kuno u. 3.

\*tugyi.nora@okologia.mta.hu

**Kulcsszavak:** aerob anoxigenikus fototrófok (AAP), infravörös mikroszkópia, abundancia

**Kivonat:** Az aerob anoxigenikus fototróf baktériumok (AAP) infravörös sugárzást hasznosító baktériumok, amelyek aerob életmódot folytatnak és csupán másfél évtizede ismert, hogy a tengerek, óceánok mikroszkópikus élővilágának fontos szereplői Kontinentális vizekben az AAP szervezetek előfordulását még alig ismerjük, ez idáig csehországi és közép-ázsiai tavakban mutatták ki előfordulásukat. A hagyományos mikroszkópi eljárásokkal ezek az élőlények nem detektálhatók, ehhez a spektrum közeli infravörös tartományára kell az észlelést kiterjesztenünk. Célunk volt az AAP szervezetek előfordulásának megismerése a Balatonban 2014 és 2015 között, Olympus XM10-IR infravörös kamera segítségével, epifluoreszcens mikroszkópi technikával. A kapott eredmények alapján az AAP szervezetek a Balatonban jelentős abundancia értékekkel ( $4 \cdot 10^4$  -  $42 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$ ) képviseltették magukat. Ezek nagyságrendileg megfeleltek a korábban tengeröblökben leírtaknak. Jellegzetes szezonális dinamikát figyeltünk meg az év során, nyári magasabb és téli alacsonyabb abundancia értékekkel. Az AAP szervezetek a produktívabb nyugati területeken fordultak elő nagyobb mennyiségben: a Siófoki-medencében az AAP szervezetek abundanciája körülbelül a fele volt a Keszthelyi-medencében megfigyeltnek.

## Bevezetés

Az 1970-es évek végén a fluoreszcens technikák alkalmazásának köszönhetően felfedezték, hogy apró, bakteriális méretű algák – fotoautotróf pikoplankton;  $< 3\mu\text{m}$  - népesítik be az óceánok és tengerek felső régióját, csakúgy, mint a kontinentális tavak többségét (JOHNSON & SIEBURTH, 1979; WATERBURY *et al.*, 1979; VÖRÖS *et al.*, 1991). Az autotróf pikoplankton felfedezése teljesen átalakította a vízi táplálékhálózatról és anyagforgalomról korábban kialakult képet. Kiderült továbbá, hogy az algák által fixált szén jelentős része (akár 90 %) a mikrobiális táplálékhálózaton ('microbial loop') halad keresztül, amelyben az autotróf pikoplankton és a heterotróf bakterioplankton produkciója a heterotróf nanoflagelláták közvetítésével jut el a magasabb trofikus szintek felé (AZAM *et al.*, 1983). A bakteriális méretű, fényenergiát hasznosító szervezetek között mindemellett olyan mikroorganizmusok is megtalálhatóak, amelyek nem termelnek oxigént.

Az ezredfordulóig a vízi ökoszisztémákban előforduló fototróf, oxigént nem termelő baktériumok közül elsősorban azok anaerob képviselőit ismertük (anaerob zöldbaktériumok, bíborbaktériumok, stb.). 2000-ben fedezték fel, hogy az aerob életmódot folytató, anoxigenikus fényhasznosító baktériumok (AAP) nagy abundanciával fordulnak elő a világ tengereiben, óceánjaiban (KOLBER *et al.*, 2000). Detektálásukat az ez tette lehetővé, hogy a fluoreszcens mikroszkóp képalkotását kiterjesztették az infravörös tartományba, amely révén láthatóvá vált a sejtek infravörös autofluoreszcenciája. Az AAP szervezetek a közeli infravörös tartományban (800-900 nm) képesek a fény hasznosítására a bakterioklorofill tartalmuk révén (KOLBER *et al.*, 2000, KOLBER *et al.*, 2001). Anyagcseréjükre alapvetően kemoorganoheterotróf életmód jellemző: energiaszükségletüket (ATP-termelés), valamint a redukáló erőt (redukált koenzimek, pl.  $\text{NADH}+\text{H}^+$  termelése) szerves anyagokra alapozva fedezik és hasonlóképp szénforrásként is szerves szubsztrátokra van szükségük, minthogy az algákkal szemben a szerves szén megkötésére nem képesek (KOBÍZEK *et al.*, 2010). Fényenergia hasznosító képességük révén (ciklikus fotofoszforiláció) ugyanakkor kiegészítő ATP forrásra tesznek szert. Ez kompetitív előnyt jelent számukra a csak heterotróf anyagcserére képes baktériumokkal szemben (KOBÍZEK *et al.*, 2007). Az óceánokból és tengerekből izolált AAP törzsek filogenetikailag a legtöbb esetben az *Alphaproteobacteria* osztályba tartoztak. Az osztályon belül pedig leginkább a *Roseobacter* és az *Erythrobacter* nemzetség tagjait azonosították (SHIBA *et al.*, 1991; BIEBL *et al.*, 2005).

Kontinentális vizekben kutatásuk csupán az elmúlt évtizedben kezdődött (2008-tól), ez idáig hegyvidéki tavakban, víztározókban és sós sztyepptavakban igazolták az AAP szervezetek jelenlétét (MASINE *et al.*, 2008; MEDOVÁ *et al.*, 2011; CUPEROVÁ *et al.*, 2013). Éppen ezért célunk volt az aerob anoxigenikus fototróf baktériumok (AAP) előfordulásának és szezonális dinamikájának megismerése a Balaton különböző területein.

## Anyag és módszer

Az AAP szervezetek vizsgálatához a Balaton Keszthelyi- és Siófoki-medencéjében mederközépen, vízoszlop mintavevővel gyűjtöttünk mintát 2016. augusztusa és 2015 júliusa között (**1. táblázat**). A hidegebb időszakban havi gyakorisággal, a produktív időszakban (júniustól októberig) kétheti gyakorisággal történt vízmintavétel. Mindemellett 2014 augusztusában a tó hossz tengelyében 5 mintavételi ponton végeztünk algológiai vizsgálatokat (**1. táblázat**). A mintavétel után 5 órán belül meghatároztuk a fotoautotróf pikofitoplankton (pikocianobaktériumok és a pikoeukarióta zöldalgák) abundanciáját

## *Aerob anoxigenikus fototróf baktériumok mennyisége és szezonális dinamikája*

epifluoreszcens mikroszkóppal, valamint az aerob anoxigenikus fototróf baktériumok (továbbiakban AAP szervezetek) abundancia és biomassza értékeit infravörös epifluoreszcens mikroszkópi technikával.

**1. táblázat.** A mintavételi helyek koordinátái és a mintavétel gyakorisága.

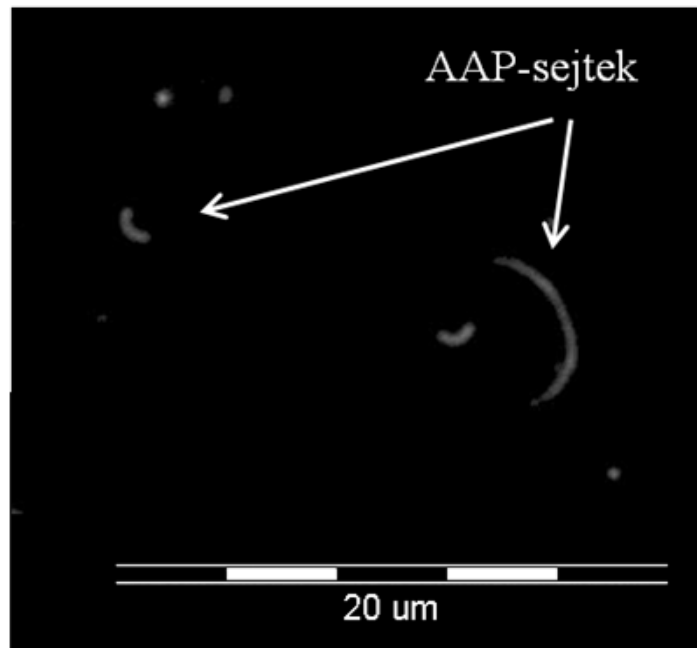
Mintavételi hely	Koordináták	Mintavétel ideje és gyakorisága
Keszthelyi-medence	46°44'05.8"N; 17°16'32.0"E	2014.08.13.-2015.07.23. kétheti/havi
Szigligeti-medence	46°44'33.1"N; 17°26'18.5"E	2014.08.13.
Szemesi-medence	46°50'40.3"N; 17°44'28.8"E	2014.08.13.
Siófoki-medence (T)	46°55'19.0"N; 17°55'53.6"E	2014.08.13.-2015.07.23. kétheti/havi
Siófoki-medence (Bf)	46°57'54,7"N; 18°03'48.8"E	2014.08.13.

A vizsgált fototrófok abundanciáját a sejtek autofluoreszcenciája révén becsültük JIAO *et al.* (2006), valamint MACISAAC és STOCKNER (1993) szerint. A vízmintákat 0,2 µm pórusmértű, fehér polikarbonát membránfilterre (Millipore) szűrtük, majd a szűrőpapírt glicerinbe ágyaztuk és a preparátumot Olympus BX51 epifluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk 1000x nagyítás mellett. Először a különböző pigment típusú pikoalgákat azonosítottuk kékesibolya (U-MWBV2) és zöld (U-MWG2) gerjesztőfény segítségével, a látható fényt érzékelő mikroszkóp kamerával (Olympus DP71) MACISAAC és STOCKNER (1993) szerint. A következő lépésben az AAP szervezeteket detektáltuk kék gerjesztőfényt alkalmazva (350-550 nm), infravörös emissziós filter (>780 nm) és infravörös kamera (Olympus XM10) segítségével (JIAO *et al.*, 2006). Az AAP szervezetek gerjesztése során alkalmazott fény hatására a pikoalgák is mutatnak közeli infravörös autofluoreszcenciát, amely kizárólag az infravörös kép elemzése révén nem különíthető el az AAP szervezetek autofluoreszcenciájától. Éppen ezért az AAP szervezetek és a pikoalgák elkülönítése az egyazon látótérrel a két különböző kamerával készített felvétel (minimum 10 látótér v. 300 sejt) összevetése alapján történt Cell<sup>D</sup> szoftverrel (a hagyományos kamerával csak a pikoalgák láthatóak, az infravörös kamerával a pikoalgák és az AAP szervezetek is láthatóak voltak). A mikroszkópos képek további elemzését Zeder és munkatársai által 2011-ben kidolgozott YABBA-2011 kép-analizáló szoftver segítségével.

Meghatároztuk továbbá a barna színű oldott szerves anyagok (Pt szín) koncentrációját, amelyet 45 µm pórusátmérőjű filterre szűrés, majd szárítás után a fényelnyelés mérésével kaptunk meg. Az a-klorofill koncentrációt frissen szűrt mintából, forró metanolos extrakciót követően szintén spektrofotométer (Hitachi U-2900) segítségével határoztuk meg (NÉMETH, 1998).

### **Eredmények és értékelésük**

A Balatonban számos AAP szervezetet detektálunk infravörös mikroszkópi technika alkalmazásával, a detektált szervezetek között elsősorban a vibrió, illetve a hajlított fonal sejtek voltak jellemző (1. ábra).

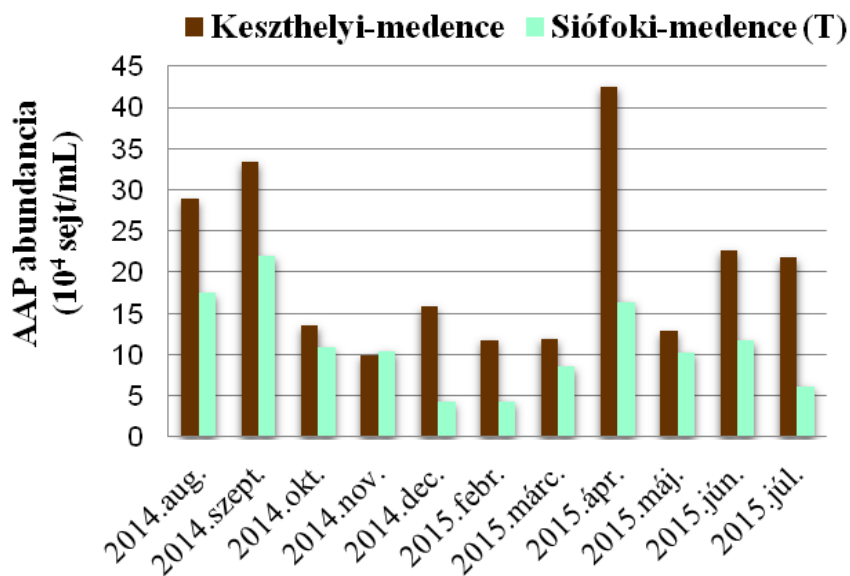


**1. ábra.** A Balatonban megfigyelt AAP szervezetek mikroszkópi képe. A sejteket nyilak jelölik, a felvétel infravörös kamerával (Olympus XM10), 1000 x-es nagyítással készült.

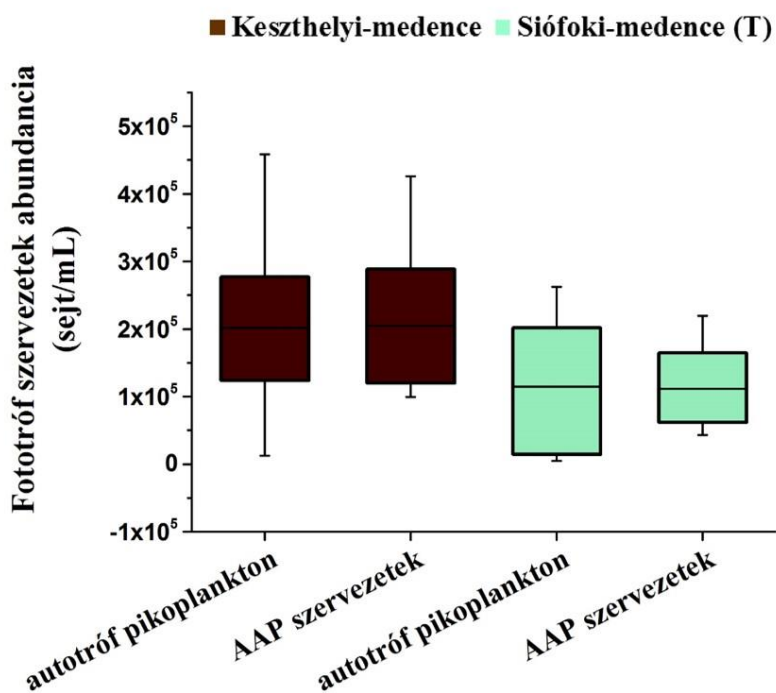
Az aerob anoxigenikus fototróf baktériumok mennyisége jellegzetes szezonális dinamikát mutatott a Balaton Keszthelyi-és Siófoki-medencéjében egyaránt (**2. ábra**). Mindkét medence esetében a magasabb abundancia értékeket melegebb időszakban figyeltük meg. A Keszthelyi-medencében az AAP szervezetek abundanciája  $9,9 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  és  $42 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  között változott, átlagosan  $20 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  volt. A legmagasabb abundancia értéket áprilisban figyeltük meg, míg a legalacsonyabbat novemberben (**2. ábra**). A Siófoki-medencében az AAP szervezetek abundanciája  $4 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  és  $22 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  között változott, átlagosan  $11 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  volt. A legmagasabb abundancia értéket szeptemberben figyeltük meg, míg a legalacsonyabbat decemberben (**2. ábra**). Az AAP szervezetek eloszlása jellegzetes szezonális dinamikát követett, ennek ellenére nem volt szignifikáns összefüggés a víz hőmérséklet és az AAP abundancia között.

A kapott abundancia értékeket összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy a Siófoki-medencében az AAP szervezetek mennyisége körülbelül a fele volt a Keszthelyi-medencében megfigyeltnek (**3. ábra**). Az AAP szervezetek mennyisége összevethető volt az autotróf pikoplanktonéval. A Keszthelyi-medencében ugyanis a pikoalgák abundanciája  $1,2 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  és  $45,8 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  között változott, átlagosan  $20 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  volt. A Siófoki-medencében  $0,5 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  és  $26,2 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  közötti abundancia értékeket tapasztaltunk, a pikoalgák abundanciája átlagosan  $11,5 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  volt (**3. ábra**).

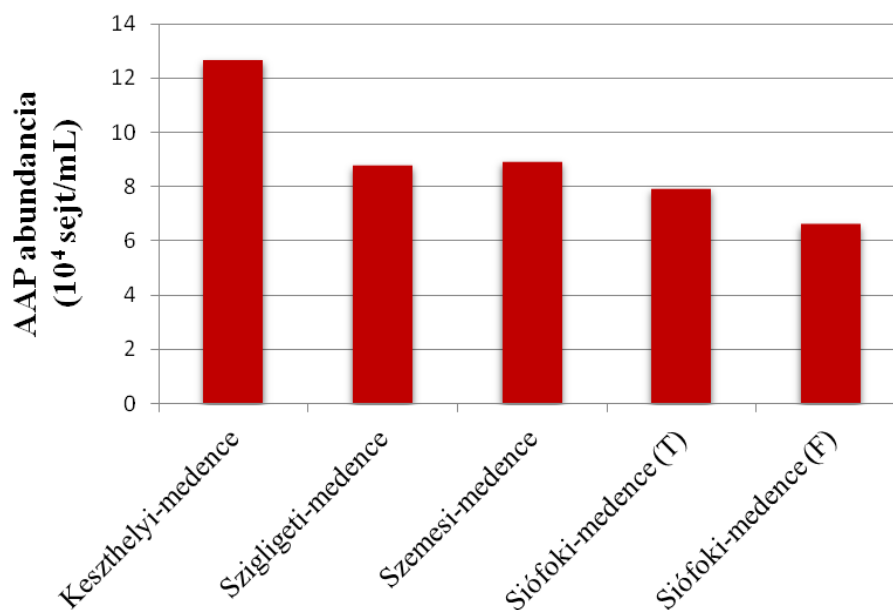
2014 augusztusában az AAP abundancia jellegzetesen változott a tó hossz tengelyében. A legmagasabb értéket a Keszthelyi-medencében tapasztaltuk, ahol mennyiségük meghaladta a 120 ezer sejtet milliliterenként. A Szigligeti- és a Szemesi-medencében alacsonyabb ( $8,7 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$ , illetve  $8,9 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$ ) értékeket tapasztaltunk. A Siófoki-medencében pedig még kisebb értékeket kaptunk: a tihanyi mintavételi ponton az AAP szervezetek abundanciája  $8 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$ , míg a balatonfüzfői mintavételi ponton  $7 \cdot 10^4$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  volt (**4. ábra**).



2. ábra: Aerob anoxigenikus fototróf baktériumok szezonális dinamikája a Balatonban.



3. ábra: Az autotróf pikoplankton és az aerob anoxigenikus fototróf baktériumok bundanciája a Keszthelyi- és a Siófoki-medencében.



**4. ábra:** Az aerob anoxigenikus fototróf baktériumok (AAP) abundanciája a Balaton hossz tengelye mentén.

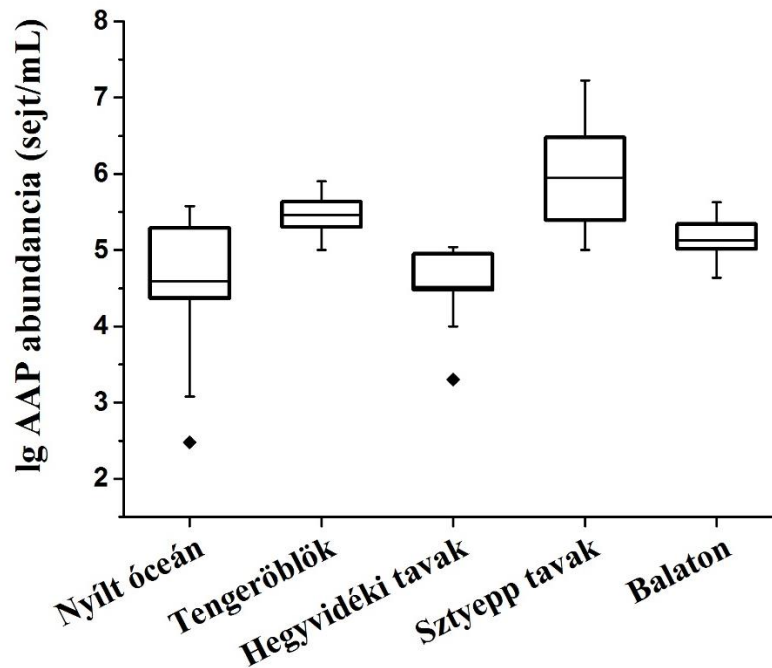
Az AAP szervezetek jellegzetes területi eloszlásának hátterében a tó hossz tengelye mentén megfigyelhető nyugat-kelet irányú trofikus grádiens, valamint a szintén nyugat-kelet irányban csökkenő barna színű oldott szerves anyagok (humanyag) mennyisége állhat. A fotoheterotróf életmódot folytató AAP szervezeteknek ugyanis szükségük van szerves szénforrásra, amelyet vagy az algák és azok bomlástermékei vagy a vízben oldott szerves anyagok szolgáltathatnak. A tó nyugati területein a-klorofill koncentráció jelentősen magasabb volt (11,6-11,8  $\mu\text{g l}^{-1}$ ), mint a Szemesi-medencében (6,5  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) és a Siófoki-medencében (5-8,6  $\mu\text{g l}^{-1}$ ; **2. táblázat**). A barna színű oldott szerves anyagok (Pt szín) koncentrációja szintén a nyugati területeken volt magasabb: a Keszthelyi-medencében 11 mg Pt  $\text{l}^{-1}$ , a Szigligeti-medencében 8 mg Pt  $\text{l}^{-1}$  értéket mértünk, míg a Szemesi-és a Siófoki-medencén már csak 4-5 mg-ot literenként **2. táblázat**). A nyugati medencékben tehát nagyobb mennyiségben áll rendelkezésre szerves anyag, amely a fototróf baktériumok (AAP) számára alapvető szubsztrátként szolgál.

**2. táblázat:** Az a-klorofill és a barna színű oldott szerves anyagok (Pt szín) koncentrációja a Balaton medencéiben 2014. augusztusában.

	a-klorofill koncentráció ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	Pt szín koncentráció (mg Pt $\text{l}^{-1}$ )
Siófoki-medence (T)	5	4
Siófoki-medence (F)	8,6	4
Szemesi-medence	6,5	5
Szigligeti-medence	11,8	8
Keszthelyi-medence	11,6	11

## *Aerob anoxigenikus fototróf baktériumok mennyisége és szezonális dinamikája*

Irodalmi adatok alapján az AAP szervezetek abundanciája a nyílt óceánokban  $3 \times 10^2$  és  $1.94 \times 10^5$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  között volt (SCHWALBACH & FUHRMAN, 2005; LAMI *et al.*, 2007). A hegyvidéki tavakban, CUPEROVA *et al.* (2013) hasonló abundancia értékeket tapasztaltak ( $1 \times 10^3$  -  $1.3 \times 10^5$  sejt  $\text{ml}^{-1}$ ). Magasabb értékeket ( $1 \times 10^5$  -  $5.1 \times 10^5$  sejt  $\text{ml}^{-1}$ ) közöltek tengeröblökben (WADNER & KIRCHMAN, 2007), valamint a Nyugat- Szibéria déli részén elterülő sós sztyepptavakban, ahol mennyiségük  $10 \times 10^5$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  és  $170 \times 10^5$  sejt  $\text{ml}^{-1}$  között volt (MEDOVÁ *et al.*, 2011) (5. ábra). Az általunk kapott értékeket összevetve az irodalomban közöltekkel azt tapasztaltuk, hogy a Balatonban az AAP szervezetek abundanciája nagyságrendileg a tengeröblökben leírtakhoz hasonló volt. Ennél kisebb értékeket írtak le hegyvidéki tavakban (CUPEROVA *et al.*, 2013), viszont sztyepptavakban magasabb értékeket is közöltek (MEDOVÁ *et al.*, 2011).



5. ábra: A nyílt óceánokban, tengeröblökben, hegyvidéki- és sztyepptavakban közölt AAP abundancia értékek összevetve a Balatonban kapott értékekkel.

### Köszönetnyilvánítás

A kutatást az OTKA PD 112449 projekt támogatta, Köszönet illeti Németh Balázst, Dobos Gézát terepi mintavételezés során nyújtott segítségéért, valamint Szabó Tímeát a laboratóriumi munkákban nyújtott segítségéért.

### Irodalomjegyzék

BIEBL, H., M. ALLGAIER, H. LUNSDORF, R. PUKALL, B.J. TINDALL & I. WAGNER-DOBLER, 2005. *Roseovarius mucosus* sp. nov, a member of the *Roseobacter* clade with trace amounts of bacteriochlorophyll *a*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology **55**: 2377-2383.

- ČUPEROVÁ, Z., E. HOLZER, I. SALKÁ, R. SOMMARUGA & M. KOBLÍZEK, 2013. Temporal Changes and Altitudinal Distribution of Aerobic Anoxygenic Phototrophs in Mountain Lakes. *Applied and Environmental Microbiology* **79**: 6439-6446.
- JIAO, N., Y. ZHANG & Y. CHEN, 2006. Time series observation based InfraRed Epifluorescence Microscopic (TIREM) approach for accurate enumeration of bacteriochlorophyll-containing microbes in marine environments. *Journal of Microbiological Methods* **65**: 442-452.
- KOLBER, Z. S., C. L. VAN DOVER, R. A. NIEDERMAN & P. G. FALKOWSKI, 2000. Bacterial photosynthesis in surface waters of the open ocean. *Nature* **407**: 177-179.
- KOLBER, Z. S., F. G. PLUMLEY, A. S. LANG, J. T. BEATTY, R. E. BLANKENSHIP, C. L. VAN DOVER, *et al.*, 2001. Contribution of aerobic photoheterotrophic bacteria to the carbon cycle in the ocean. *Science* **292**: 2492-2495.
- KOBLÍZEK, M., J. MLCOUKOVÁ, Z. KOLBER & J. KOPECKY, 2010. On the photosynthetic properties of marine bacterium COL2P belonging to Roseobacter clade. *Archives of Microbiology* **192**: 41-49.
- LAMI, R., T. M. COTTRELL, J. RAS, O. ULLOA, I. OBERNOSTERER, H. CLAUSTRE, D. L. KIRCHMAN & P. LEBARON, 2007. High Abundances of Aerobic Anoxygenic Photosynthetic Bacteria in the South Pacific Ocean. *Applied and Environmental Microbiology* **73**: 4198-4205.
- MACISAAC, E. A. & J. G. STOCKNER, 1993. Enumeration of phototrophic picoplankton by autofluorescence, In: Kemp, P. F., B. F. Sherr, E. B. Sherr & J. J. Cole (eds) *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: 187-197.
- SCHWALBACH, M. S. & J. A. FUHRMAN, 2005. Wide-ranging abundances of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in the world ocean revealed by epifluorescence microscopy and quantitative PCR. *Limnology and Oceanography* **50**: 620-628.
- MEDOVÁ, H., E. N. BOLDAREVA, P. HROUZEK, S. V. BORZENKO, Z. B. NAMSARAEV, V. M. GORLENKO, B. B. NAMSARAEV & M. KOBLÍZEK, 2011. High abundances of aerobic anoxygenic phototrophs in saline steppe lakes. *FEMS Microbiology Ecology* **76**: 393-400.
- SHIBA, T., 1991. *Roseobacter litoralis* gen. nov., aerobic pink-pigmented bacteria which contain bacteriochlorophyll *a*. *Systematic and Applied Microbiology* **14**: 140-145.
- WADNER, L. A. & D. L. KIRCHMAN, 2007. Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria Attached to Particles in Turbid Waters of the Delaware and Chesapeake Estuaries, *Applied and Environmental Microbiology* **73**: 3936-3944.
- ZEDER, M., E. KOHLER, L. ZEDER, & J. PERNTHALER, 2011. A novel algorithm for the determination of bacterial cell volumes that is unbiased by cell morphology. *Microscopy and Microanalysis* **17**: 799-809.

*Érkezett: 2016. október 28*  
*Javítva: 2016. december 01*  
*Elfogadva: 2016. december 06*