

# Ismeretlen fototróf mikroorganizmusok hazai vizekben – az infravörös mikroszkópi technika jelentősége a limnológiában

Tugyi Nóra<sup>1</sup>, Vörös Lajos<sup>1</sup>, Boros Emil<sup>1</sup>, Felföldi Tamás<sup>2</sup>, Márialigeti Károly<sup>2</sup>, Somogyi Boglárka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>MTA ÖK Balatoni Limnológiai Intézet, 8237 Tihany, Klebelsberg Kuno u. 3.

<sup>2</sup>Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/C.

## Kivonat:

A fototróf mikroorganizmusok egy különleges, az infravörös fényt hasznosító csoportjának (aerob anoxikus fototróf [AAP] szervezetek) széleskörű elterjedését és jelentős ökológiai szerepét tengerekben és óceánokban az elmúlt egy évtizedben fedezték fel. Kontinentális vizekben az AAP szervezetek előfordulását még alig ismerjük, ez idáig csehországi és közép-ázsiai tavakban mutatták ki jelenlétüket. A hagyományos mikroszkópi eljárásokkal ezek az élőlények nem detektálhatók, ehhez ugyanis a spektrum közeli infravörös tartományára kell az észlelést kiterjesztenünk. Célunk volt az AAP szervezetek előfordulásának megismerése hazai vizeinkben 2014 nyarán egy újonnan beszerzett Olympus XM10-IR infravörös kamera segítségével, epifluoreszcens mikroszkópi technikával. A kapott eredmények igazolták, hogy az AAP szervezetek hazai vizeinkben is nagyszámban megtalálhatóak: a Balatonból, a Fertőzug szikes tavaiból, a Somogy-meyei halastavakból és a Duna-Tisza közti szikes tavakból egyaránt kimutattuk jelenlétüket, egyes produktív tavakban kiemelkedően magas (közel 100 millió sejt milliliterenként) abundancia értékekkel. Az AAP szervezetek mennyisége a fitoplankton biomaszra (a-klorofil) növekedésével jelentősen nőtt. Ezen mikroorganizmusok a bakterioplankton abundanciájának 4-40 %-át tették ki, amely igen jelentős anyagforgalmi szerepre utal.

## Kulcsszavak:

aerob anoxigenikus fototrófok (AAP), fotoheterotróf életforma, sekély tavak, infravörös mikroszkópia.

## Bevezetés

Sekély tavaink algavilágát már az 1800-as évek végétől kezdve tanulmányozzák. Ugyanakkor a hagyományos fénymikroszkópos módszerekkel csupán a nagyobb méretű algák (mikro- és nanoplankton) vizsgálatára volt lehetőség. Az 1970-es évek végén a fluoreszcens technikák alkalmazásának köszönhetően felfedezték, hogy apró, bakteriális méretű algák – fotoautotróf pikoplankton; < 3 µm - népesítik be az óceánok és tengerek felső régióját, csakúgy, mint a kontinentális tavak többségét (Johnson & Sieburth, 1979; Waterbury és mtsai., 1979; Vörös és mtsai., 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 és mtsai., 1983).

Az ezredfordulón a fluoreszcens mikroszkóp képalkotásának kiterjesztése az infravörös tartományba egy hasonló jelentőségű felfedezéshez vezetett (Kolber és mtsai., 2000, Kolber és mtsai., 2001). Óceánokban és tengerekben ugyanis leírták, hogy nagy számban vannak jelen infravörös autofluoreszcenciát mutató baktériumok, amelyek a-bakterioklorofil tartalmuk révén képesek a közeli infravörös tartomány (800-900 nm) hasznosítására (Kolber és mtsai., 2000, Kolber és mtsai., 2001). Ezek az ún. AAP-szervezetek (aerob anoxigenikus fototrófok) alapvetően kemoorganoheterotróf életmódot folytatnak: energiaszükségletüket (ATP-termelés), valamint a redukáló erőt (redukált koenzimek, pl. NADH+H<sup>+</sup> termelése) szerves anyagokra alapozva fedezik és hasonlóképp szénforrásként is szerves szubsztrátokra van szükségük, minthogy az algákkal szemben a szerves szén megkötésére nem képesek (Koblízek és mtsai., 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 (Koblízek és mtsai., 2007). Az elmúlt évek kutatásai kimutatták, hogy az AAP-szervezetek a tengerekben és óceánokban igen jelentős anyagforgalmi szereppel rendel-

keznek: a heterotróf baktériumok biomaszájának akár 10-20 %-át is alkotják (Masin és mtsai., 2006; Salka és mtsai., 2008; Cottrell és Kirchman, 2009; Chen és mtsai., 2011). Szaporodási rátájuk ráadásul a heterotróf baktériumokénál jelentősen nagyobb lehet (Sieracki és mtsai., 2006; Koblízek és mtsai., 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 és mtsai., 1991; Biebl és mtsai., 2005).

Kontinentális vizekben kutatásuk csupán az elmúlt évtizedben kezdődött (2008-tól), ez idáig hegyvidéki tavakban, víztározókban és sós sztyepptavakban igazolták az AAP szervezetek jelenlétét (Masin és mtsai., 2008; Medová és mtsai., 2011; Cuperová és mtsai., 2013). Irodalmi adatok alapján az AAP szervezetek abundanciája a nyílt óceánokban  $3 \times 10^2$  és  $1.94 \times 10^5$  sejt mL<sup>-1</sup> között volt (I. ábra; Schwalbach és Fuhrman, 2005; Lami és mtsai., 2007). A hegyvidéki tavakban, Cuperová és munkatársai (2013) hasonló abundancia értékeket tapasztaltak ( $1 \times 10^3$  -  $1.3 \times 10^5$  sejt mL<sup>-1</sup>). Nagyobb abundancia értékeket ( $1 \times 10^5$  -  $5.1 \times 10^5$  sejt mL<sup>-1</sup>) közöltek tengeröblökben (Waidner és Kirchman, 2007), valamint a Nyugat-Szibéria déli részén elterülő sós sztyepptavakban, ahol mennyiségük  $10 \times 10^5$  sejt mL<sup>-1</sup> és  $170 \times 10^5$  sejt mL<sup>-1</sup> között volt (Medová és mtsai., 2011).

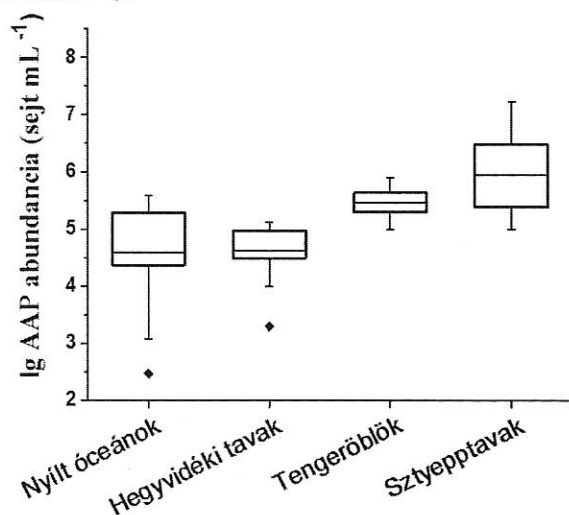
## Célkitűzés

Célunk volt az aerob anoxigenikus fototrófok (AAP) előfordulásának megismerése hazai sekély tavakban. Célunk volt továbbá az AAP-szervezetek, a pikoalgák és a heterotróf baktériumok mennyisége közötti esetleges kapcsolatok feltárása.

## Anyag és módszer

Az AAP szervezetek vizsgálatához a vízmintavétel 2014 nyarán történt összesen 27 mintavételi ponton, amelyek különböző víztípusokat reprezentáltak. A Balatonban a Keszthelyi-, Szigligeti-, Szemesi- és a Siófoki-medencében (Tihany és Balatonfüzfő) 2014. július 21. és szeptember 8. között 4 alkalommal vettünk vízmintát. A Fertőzug esetében a Fertő tó nyílt vízi területén (BO és a Fertőrákosi-öböl), a belső tavakban (Kis-Herlakni, Nagy-Herlakni), és továbbá három szikes tóban (Nyéki-szállás, Borsodi-dűlő [Magyarország], Darscho-ban [Au

sztria]) egyszeri mintavétel történt 2014. július 16-án. A Somogy-megyei halastavak közül kilenc tóban 2014. augusztus 11-én (Irmapuszta II-IX. sz. tó, Marcali-tározó) vettünk vízmintát. A Duna-Tisza közti szikes tavak esetében a Szabadszállási Büdös-székben, a Zab-székben, a Kelemen-székben, a Böddi-székben, a Fehér-székben és a Sósérben 2014 július 8. és augusztus 28. között, négy alkalommal vizsgáltuk az AAP szervezetek mennyiségét. Az a-klorofill koncentrációt frissen szűrt mintából, forró metanolos extrakciót követően, spektrofotométer (Shimadzu UV-VIS 160A) segítségével határoztuk meg (Németh, 1998).



**1. ábra:** Az irodalomban közölt AAP (aerob anoxigenikus fototróf baktérium) abundancia értékek. A nyílt óceán (Csendes-és Atlanti-óceán), a hegyvidéki tavak (Ausztria), a tengeröblök (New Jersey) és a sós sztyepptavak (Nyugat- Szibéria) esetében leírt abundancia értékeket Schwalbach és Fuhrman (2005), Lami és munkatársai (2007), Cuperová és munkatársai (2013), Waidner és Kirchman (2007), Medová és munkatársai (2011) munkái alapján ábrázoltuk.

Az aerob anoxigenikus fototrófok abundanciáját a sejtek infravörös autofluoreszcenciája révén becsültük Jiao és mtsai (2006) szerint. A vízmintákat 0,2  $\mu\text{m}$  átmérőjű, fehér polikarbonát membránszűrőre (Millipore) szűrtük, majd a szűrőt glicerinebe ágyaztuk és a preparátumot Olympus BX51 epifluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk 1000x nagyítás mellett. Először a különböző pigment típusú pikoalgákat azonosítottuk kékesibolya (U-MWBV-2) 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. Az AAP szervezetek gerjesztése során alkalmazott fény hatására a pikoalgák is mutatnak közeli infravörös autofluoreszcenciát, amely csak az infravörös kép elemzése révén nem különíthető el az AAP szervezetek autofluoreszcenciájától. Éppen ezért az AAP szervezetek és a pikoalgák elkülönítése az egyazon látótérről 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 lát-

hatók, az infravörös kamerával a pikoalgák és az AAP szervezetek is láthatóak voltak).

A teljes bakterioplankton mennyiségi meghatározásához DAPI (4',6'-diamidino-2-fenilindol-dihidroklorid) festési eljárást alkalmaztunk (Hobbie és mtsai, 1977). A vízmintákat a DAPI fluorokróm hozzáadása után 5 percig inkubáltuk, majd 0,2  $\mu\text{m}$  átmérőjű, fekete polikarbonát membránszűrőn (Millipore) átszűrtük. A preparátumokat Olympus BX51 mikroszkóppal vizsgáltuk 1000x nagyítás mellett, ultraibolya fényvel (UV-MNU2) gerjesztve. A preparátumokról digitális kamerával (Olympus DP71) felvételeket készítettünk (minimum 10 látótér v. 300 sejt), majd azok kiértékelésével határoztuk meg a sejtek abundanciáját.

#### Eredmények és értékelésük

A Balatonban a pikoalgák mennyisége átlagosan  $2,5 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  volt (2/a ábra). A legkisebb értéket a Szezesi-medencében kaptuk ( $9 \times 10^4$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ ), míg a legnagyobbat a Keszthelyi-medencében ( $4,5 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ ). Az AAP szervezetek hasonló abundancia értékekkel voltak jelen: átlagos abundanciájuk  $3 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  volt (2/b ábra). A maximális abundancia értékeket ( $5,9 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ ) a pikoalgákhoz hasonlóan a Keszthelyi-medencében kaptuk, míg a legkisebb abundancia értékeket ( $1,3 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ ) a Siófoki-medence balatonfüzfői mintavételi pontján tapasztaltuk. A heterotróf baktériumok abundanciája a Balatonban  $22,2 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  és  $178,8 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  között változott, átlagosan  $108,4 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  volt.

A Fertőzugban található szikes tavakban mind a pikoalgák, mind az AAP szervezetek abundanciája nagyobb volt, mint a Balatonban. A pikoalgák tekintetében az átlag érték  $6,4 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  volt (2/a ábra). A minimális abundancia értéket a Borsodi-dűlőben kaptuk ( $1,5 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ ), míg a legnagyobbat a Nagy-Herlakniban ( $16,5 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ ). Az AAP szervezetek abundanciája minden mintavételi ponton jelentősen felülmúlta a pikoalgákét: átlagosan  $17 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  abundancia értékeket tapasztaltunk (2/b ábra). A legkisebb abundancia értékeket a Fertő tó nyílt vízi területén ( $7 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ ), a legnagyobb értékeket pedig a Nyéki-szálláson ( $35 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ ) észleltük. A heterotróf baktériumok abundanciája a vizsgált szikesekben  $52,5 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  és  $91,6 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  között változott, átlagosan  $70 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  volt.

A Somogy-megyei halastavakban nagyobb különbségeket figyeltünk meg a pikoalgák és az AAP szervezetek mennyisége között: a pikoalgák abundanciája átlagosan  $13 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  volt, ezzel szemben az AAP szervezetek maximális abundanciája meghaladta 4,5 milliót ( $49 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ ) (2/b ábra). A heterotróf baktériumok abundanciája  $140,5 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  és  $420 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  között változott, átlagosan  $272 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  volt.

Mind a pikoalgák, mind az AAP szervezetek esetében a legnagyobb abundancia értékeket a Duna-Tisza közti szikes tavakban észleltük. A pikoalgák mennyisége a kimutatási határ és  $341 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  között változott, átlagosan  $96 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  volt (2/a ábra). Az AAP szervezetek esetében a szikesekben jelentősen nagyobb abundancia értékeket tapasztaltunk (min:  $8 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ , max:  $943 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ , átlag:  $227 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$ ), mint a pikoalgáknál (2/b ábra). Az AAP szervezeteket tekint-

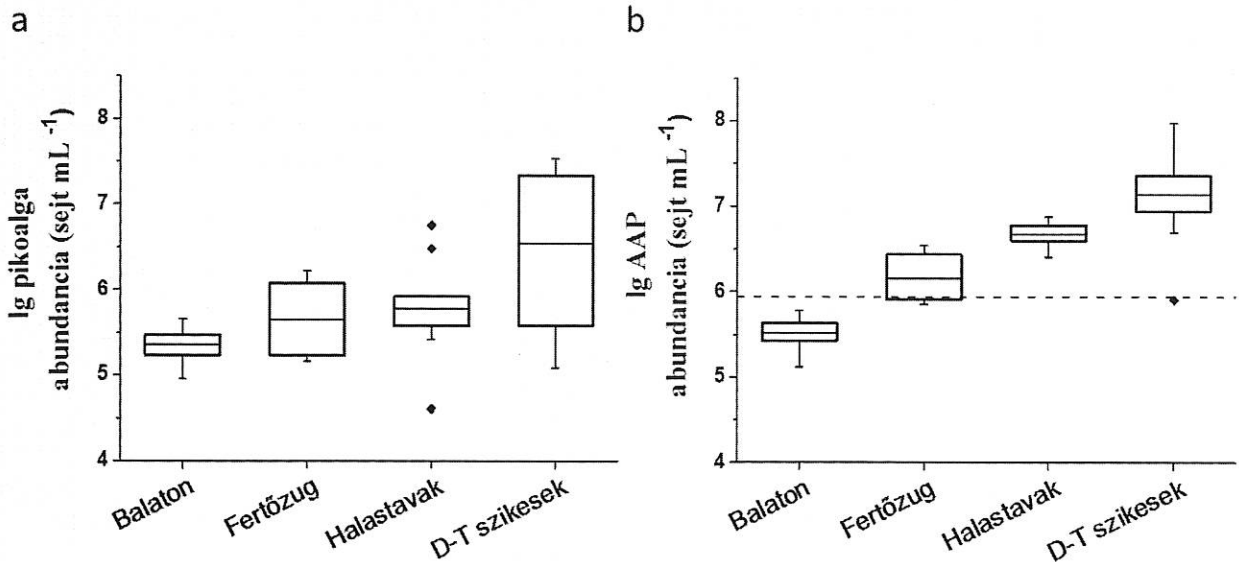
ve a Sósérben kimagaslóan nagy abundancia értékeket tapasztaltunk: a vizsgált időszakban mennyiségük elérte a 94 millió sejtet milliliterenként (2/b ábra). Ezzel szemben pikoalgák ebben a víztérben egyáltalán nem voltak megfigyelhetők. A heterotróf baktériumok abundanciája a Duna-Tisza közti szikes tavakban  $623 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  és  $9743 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  között változott, átlagosan  $2236 \times 10^5$  sejt  $\text{mL}^{-1}$  volt. A legnagyobb baktérium abundancia értékeket az AAP szervezetekhez hasonlóan, szintén a Sósérben észleltük.

Az irodalomban leírt AAP abundancia értékeket összehasonlítva az általunk megfigyelttel megállapítottuk, hogy a Balatonban nagyságrendileg hasonló abundancia értékeket tapasztaltunk, mint amit tengeröblök esetében leírtak (Waidner & Kirchman, 2007; 1. és 2/b ábra). A Fertőzug szikes tavaiban, a Somogy-megyei halastavakban, valamint a Duna-Tisza közti szikes tavakban ezzel szemben az AAP szervezetek átlagos abundanciája messze meghaladta az irodalomban közölteteket (2/b. ábra).

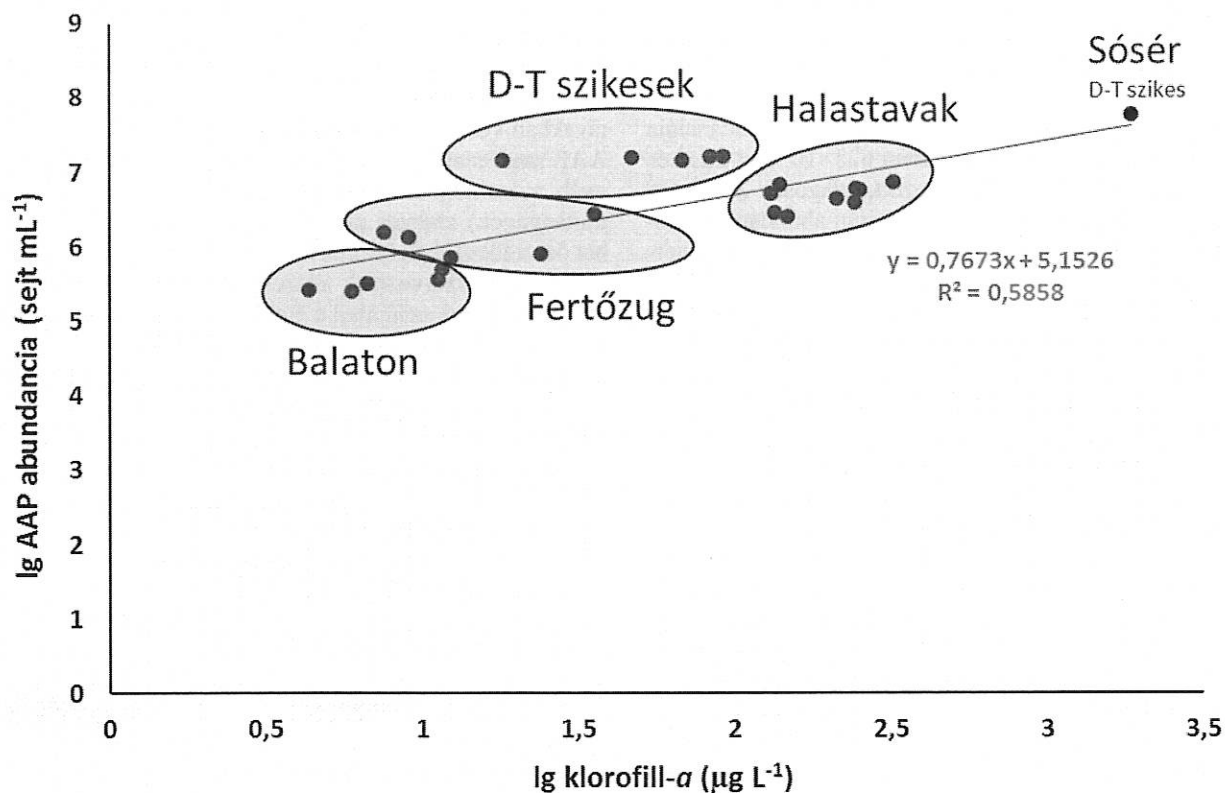
Az AAP szervezetek abundanciája a növekvő trofitással (a-klorofill koncentráció) jelentősen változott (3. ábra). A kisebb produktívítású tavakban (Balaton, Fertőzug szikes tava) az AAP szervezetek abundanciája is kisebb, a produktívabb vizekben pedig akár több nagyságrenddel is nagyobb volt (3. ábra). Ugyanakkor az AAP szervezetek mennyiségét a fitoplankton szerves anyag termelése valószínűleg csak a kisebb szerves anyag tar-

talmú vizekben befolyásolja jelentősen. A legnagyobb a-klorofill értékeket a halastavakban tapasztaltuk (kivételet képezett ez alól a Sósér), az AAP szervezetek abundanciája azonban mégsem itt, hanem a Duna-Tisza közti szikes tavakban volt a legnagyobb (3. ábra). Ez utóbbiakban az AAP szervezetek nagy abundanciája valószínűleg az egyéb autochton és allochton eredetű (vízimadarak, huminanyagok) szerves anyagok nagy mennyiségével állhat összefüggésben (Boros és mtsai., 2008).

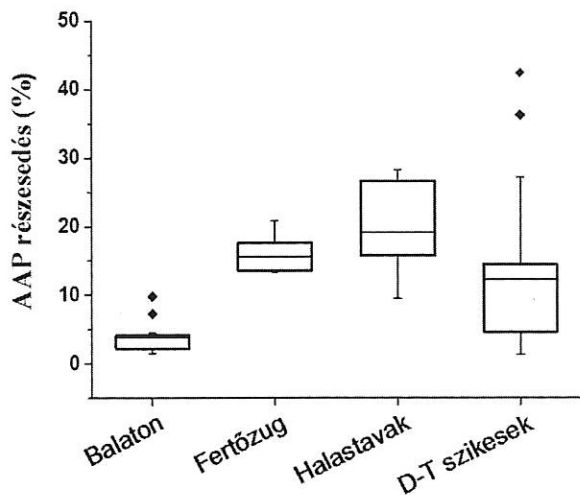
Az AAP szervezetek részeseése a teljes bakterioplankton abundanciájából a Balaton különböző területein az esetek többségében 10 % alatti, átlagosan 4% volt (4. ábra). A Fertőzug szikes tavaiban nagyobb értékeket tapasztaltunk: az AAP szervezetek részeseése 13 és 21 % között változott, átlagosan mintegy 16 % volt (4. ábra). Annak ellenére, hogy a legnagyobb AAP abundancia értékeket a Duna-Tisza közti szikes tavakban tapasztaltuk, átlagos részeseesük (12%) itt jóval kisebb volt, mint amit a vizsgált halastavakban tapasztaltunk (19%). Ugyanakkor a Zab-szék és a Fehér-szék esetében egy-egy kiugróan nagy részesees értéket (30 illetve 40%) is tapasztaltunk (4. ábra). Ezek a részesees értékek nagyságrendileg megfelelnek a más vizekben ez idáig közölt értékeknek (Medová és mtsai., 2011), ugyanakkor mikro-szkópos megfigyeléseink alapján az AAP szervezetek részeseesése a bakterioplankton biomaszából még ennél is nagyobb lehet a sejtek nagyobb méretéből kifolyólag.



**2. ábra:** A pikoalgák (2/a) és az AAP szervezetek (2/b) abundanciája a Balatonban, a Fertőzug szikes tavaiban, a Somogy-megyei halastavakban és a Duna-Tisza közti szikes tavakban 2014 nyarán. Az irodalomban ez idáig közölt legmagasabb AAP abundancia átlagértékeket (sós sztyepptavak) szaggatott vonallal jelöltük (Medová és mtsai., (2011).



3. ábra: A vizsgált víztestek (Balaton, Fertőzug: Fertő tó nyílt területe, belső-tavak, egyéb szikes tavak, a Somogy-megyei halastavak és a Duna-Tisza közti szikes tavak) trofitási értékei (a-klorofill koncentráció) és az AAP abundancia összefüggése.



4. ábra: Az AAP szervezetek százalékos abundancia aránya a teljes bakterioplanktonhoz viszonyítva a vizsgált víztestekben (Balaton, Fertőzug szikes tavai, Somogy-megyei halastavak és Duna-Tisza közti szikes tavak) 2014 nyarán.

#### Következtetések

A hazai limnológiai gyakorlatban először mutattuk ki az aerob anoxigenikus fototrófok jelenlétét mikroszkópos módszerek segítségével. A kapott eredmények azt mutatták, hogy az AAP szervezetek sekély tavainkban is nagy számban vannak jelen, egyes produktív tavakban kiemelkedően nagy abundancia értékekkel. Ökológiájukról jelenleg kevés információval rendelkezünk, de jeles részesedésük a teljes bakterioplankton

abundanciából jelentős anyagforgalmi szerepükre utal. A következő években anyagforgalmi szerepük tisztázását (részesedésük a bakterioplankton biomasszából, produkciójuk, szaporodásuk) és diverzitásuk megismerését tervezzük.

#### Köszönetnyilvánítás

A kutatást a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0038, az OTKA PD 112449 és OTKA PD 105407 projekt támogatta. Köszönet illeti Németh Balázst, Dobos Gézát és Bodó Ivánt a terepi mintavételezés során nyújtott segítségéért, valamint Szabó Tímeát a laboratóriumi munkákban nyújtott segítségéért. Somogyi Boglárka és Felföldi Tamás munkáját a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János kutatói ösztöndíja segítette.

#### Irodalom

- Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyerreil, L.A. & Thingstad, F. (1983) *The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 10: 257-263.
- Biebl, H., Allgaier, M., Lunsdorf, H., Pukall, R., Tindall, B.J. & Wagner-Dobler, I. (2005) *Roseovarius mucosus* sp. nov. a member of the *Roseobacter* clade with trace amounts of bacteriochlorophyll *a*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 2377-2383.
- Boros E., Nagy T., Pigniczki CS., Kotymán L., V-Balogh K. and Vörös L. (2008) The effect of aquatic birds on the nutrient load and water quality of soda pans in Hungary. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 54 (Suppl. 1), pp. 207-224.
- Čuperová, Z., Holzer, E., Salka, I., Sommaruga, R., & Koblížek, M. (2013) Temporal Changes and Altitudinal Distribution of Aerobic Anoxygenic Phototrophs in Mountain Lakes. *Appl. Environ. Microbiol.* 79: 6439-6446.
- Hobbie, J. E., Daley, R. J. & Jasper, S. (1977) Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 1225-1228.
- Jiao, N., Zhang, Y. & Chen Y. (2006) Time series observation based InfraRed Epifluorescence Microscopic (TIREM) approach for accurate enumeration of bacteriochlorophyll-containing microbes in marine environments. *J. Microbiol. Meth.* 65: 442-452.

- Johnson, P.W., & Sieburth, J. McN. (1979) Chroococcoid cyanobacteria in the sea: A ubiquitous and diverse phototrophic biomass. *Limnol. Oceanogr.* 24: 928-935.
- Kolber, Z.S., Van Dover, C.L., Niederman, R.A. & Falkowski, P.G. (2000) Bacterial photosynthesis in surface waters of the open ocean. *Nature* 407: 177-179.
- Kolber, Z.S., Plumley, F.G., Lang, A.S., Beatty, J.T., Blankenship, R.E., Van Dover, C.L., et al. (2001) Contribution of aerobic photoheterotrophic bacteria to the carbon cycle in the ocean. *Science* 292: 2492-2495.
- Koblížek, M., Masín, M., Josephine, R., Poulton, A.J. & Prášil, O. (2007) Rapid growth rates of aerobic anoxygenic phototrophs in the ocean. *Environ. Microbiol.* 9: 2401-2406.
- Koblížek, M., Mlcouková, J., Kolber, Z. & Kopecky, J. (2010) On the photosynthetic properties of marine bacterium COL2P belonging to Roseobacter clade. *Arch. Microbiol.* 192: 41-49.
- Lami, R., Cottrell T. M., Ras J., Ulloa O., Obernosterer I., Claustre H., Kirchman D. L. & Lebaron P. (2007) High Abundances of Aerobic Anoxygenic Photosynthetic Bacteria in the South Pacific Ocean. *Appl. Environ. Microbiol.* 73 (13) p. 4198-4205.
- Masín, M., Zdun, A., Ston-Egiert, J., Nausch M. (2006) Seasonal changes and diversity of aerobic anoxygenic phototrophs in the Baltic Sea. *Aquat. Microb. Ecol.* 45: 247-254.
- MacIsaac, E. A. & Stockner, J. G. (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, pp. 187-197.
- Schwalbach M. S. & Fuhrman J. A. (2005) Wide-ranging abundances of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in the world ocean revealed by epifluorescence microscopy and quantitative PCR. *Limnol. Oceanogr.*, 50: 620-628.
- Medová, H., Boldareva, E.N., Hrouzek, P., Borzenko, S.V., Namsaraev, Z.B., Gorlenko, V.M., Namsaraev, B.B., & Koblížek, M. (2011) High abundances of aerobic anoxygenic phototrophs in saline steppe lakes. *FEMS Microbiol. Ecol.* 76: 393-400.
- Shiba, T. (1991) *Roseobacter litoralis* gen. nov., aerobic pink-pigmented bacteria which contain bacteriochlorophyll *a*. *Syst. Appl. Microbiol.* 14: 140-145.
- Sieracki, M. E., Gilg, I.C., Thier, E.C. & Poulton, N.J. (2006) Distribution of planktonic aerobic anoxygenic photoheterotrophic bacteria in the northwest Atlantic. *Limnol. Oceanogr.* 51: 38-46.
- Vörös, L., Gulyás P. & Németh, J. (1991) Occurrence, dynamics and production of picoplankton in Hungarian shallow lakes. *Int. Rev. Hydrobiol.* 76: 617-629.
- Waidner L. A. & Kirchman D. L. (2007) Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria Attached to Particles in Turbid Waters of the Delaware and Chesapeake Estuaries. *Appl. Environ. Microbiol.* 73 (12): 3936.
- Waterbury, J.B., Watson, S.W., Guillard, R.R.L. & Brand L.E. (1979) Widespread occurrence of a unicellular, marine, planktonic cyanobacterium. *Nature* 277: 293-2.

Phototrophs in near-infrared – first data on the occurrence of aerobic anoxygenic bacteria  
in Hungarian shallow lakes

*Nóra Tugyi<sup>1</sup>, Lajos Vörös<sup>1</sup>, Emil Boros<sup>1</sup>, Tamás Felföldi<sup>2</sup>, Károly Márialigeti<sup>2</sup> and Boglárka Somogyi<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>MTA ÖK Balaton Limnological Institute, Tihany <sup>2</sup>Eötvös Loránd University, Budapest

**Abstract:**

It has been discovered only during the last decade, that bacteriochlorophyll *a*-containing bacteria, the so-called aerobic anoxygenic phototrophs (AAP) – which use near-infrared light to gain energy – are quite abundant in the plankton of the upper oceans and thought to be important players in oceanic carbon cycling. These microorganisms are barely studied in freshwaters, notwithstanding their presence in the oxic layer has been justified during the last years in Central European mountain and North European humic lakes. Identification of AAP cells requires near-infrared detection (800-900 nm). Therefore, the aim of this research was to study the occurrence of AAP in Hungarian shallow lakes and to assess their importance in the microbial community (with special respect to the photoautotrophic picoplankton and heterotrophic bacterioplankton). AAP was studied using an epifluorescence microscope (Olympus BX51) equipped with an infrared camera (Olympus XM10-IR) in summer 2014. As a result, AAP was found in high abundance in the studied lakes: their presence was verified in Lake Balaton, in soda lakes of Seewinkel, in fishponds of Somogy County and shallow turbid or humic soda pans of the Danube-Tisza Interfluvium. Highest abundances (~ 100 million cells per milliliter) were detected in more productive waters. A positive correlation was found between AAP abundance and phytoplankton biomass (chlorophyll *a*). The contribution of AAP to total bacterial abundance ranged between 4 and 40% which indicated the important role of these microorganisms in carbon and energy flow.

**Key words:**

aerobic anoxygenic phototrophs (AAP), photoheterotrophic lifestyle, shallow lakes, infrared microscopy.