

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**HORVÁTH NÁNDOR**

**MOSONMAGYARÓVÁR**  
**2020**

SZÉCHENYI ISTVÁN EGYETEM  
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR  
MOSONMAGYARÓVÁR  
Növénytudományi Tanszék

Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer-tudományi  
Multidiszciplináris Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Ördög Vince egyetemi  
tanár, az MTA doktora

Készült a „Haberlandt Gottlieb Növénytudományi Doktori Program”  
keretében

Programvezető: Prof. Dr. Ördög Vince egyetemi tanár, az MTA  
doktora

Témavezetők:

Prof. Dr. Ördög Vince egyetemi tanár, az MTA doktora  
Dr. habil. Molnár Zoltán, PhD, egyetemi docens

**A MOSONMAGYARÓVÁRI ALGAGYŰJTEMÉNY  
(MACC) KORÁBBAN ALAKTANI SZEMPONTBÓL  
ANABAENA CIANOBAKTÉRIUM NEMZETSÉGBE  
SOROLT TÖRZSEINEK MOLEKULÁRIS  
TAXONÓMIAI JELLEMZÉSE**

Készítette: Horváth Nándor

Mosonmagyaróvár

2020

**A MOSONMAGYARÓVÁRI ALGAGYÚJTEMÉNY (MACC)  
KORÁBBAN ALAKTANI SZEMPONTBÓL ANABAENA  
CIANOBAKTÉRIUM NEMZETSÉGBE SOROLT TÖRZSEINEK  
MOLEKULÁRIS TAXONÓMIAI JELLEMZÉSE**

Írta: Horváth Nándor

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerésére

Készült a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és  
Élelmiszertudományi Kar, Wittmann Antal Növény-, Állat- és  
Élelmiszertudományi Multidiszciplináris Doktori Iskola,  
Haberlandt Gottlieb Növenytudományi Doktori program keretében

Témavezetők:

Prof. Dr. Ördög Vince egyetemi tanár, az MTA doktora  
Dr. habil. Molnár Zoltán, PhD, egyetemi docens

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton.....% -ot ért el,

Mosonmagyaróvár,.....

a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Bíráló neve: Dr. .... igen /nem

(aláírás)

Bíráló neve: Dr. .... igen /nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján.....% - ot ért el

Mosonmagyaróvár,.....

a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

Az EDT elnöke

## Tartalomjegyzék

<b>RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE</b> .....	7
<b>KIVONAT</b> .....	9
<b>ABSTRACT</b> .....	12
<b>1. BEVEZETÉS</b> .....	15
<b>2. CÉLKITŰZÉS</b> .....	17
<b>3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS</b> .....	19
3.1. Az <i>Anabaena</i> nemzetség jelentősége a gyakorlati felhasználás szempontjából.....	20
3.2. A cianobaktériumok taxonómiai áttekintése .....	23
3.3. Az <i>Anabaena</i> taxonok morfológiai alapú rendszerezése .....	24
3.4. Heterociták és akinéták .....	26
3.4.1. Az akinéták szerkezete, összetétele és anyagcseréje.....	31
3.4.2. Az akinétaképzést befolyásoló tényezők .....	32
3.4.3. Az akinéták szerepe a környezetünkben .....	33
3.5. Különböző filogenetikai markerek cianobaktériumok elkülönítésére .....	34
3.6. <i>Anabaena</i> taxonok molekuláris biológiai vizsgálatának eredményei .....	36
3.7. A polifázikus megközelítés .....	40
3.8. Általános kihívások az <i>Anabaena</i> azonosításában .....	41
3.9. <i>Anabaena</i> -hoz hasonló nemzetségek morfológiai és filogenetikai jellemzői.....	43
3.10. Mikroalgák bioaktív vegyületei .....	54
<b>4. ANYAG ÉS MÓDSZER</b> .....	57
4.1. A törzsek szaporítása.....	57
4.2. Alaktan .....	60
4.3. DNS kivonás, PCR, szekvencia analízis .....	61
4.4. Akinéta képzés előidézése.....	64
<b>5. EREDMÉNYEK</b> .....	66

5.1. Nostoc csoport.....	69
5.2. Trichormus csoport: .....	72
5.2.1. Talaj alcsoport .....	73
5.2.2. Tavi alcsoport.....	76
5.3. Desmonostoc csoport .....	78
5.4. Bioaktív törzsek.....	81
5.5. A „megoldatlan” törzsek .....	82
5.6. Hatvanhárom MACC törzs alaktani vizsgálata.....	87
5.6.1. <i>Trichormus</i> csoport – Tavi alcsoport .....	87
5.6.2. <i>Trichormus</i> csoport – Talaj alcsoport.....	97
5.6.3. <i>Nostoc</i> csoport.....	105
5.6.4. <i>Desmonostoc</i> csoport.....	110
5.7. Az akinétaképzés eredménye .....	114
<b>6. AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA .....</b>	<b>117</b>
6.1. Filogenetikai megfigyelések .....	117
6.2. Alaktani megfigyelések.....	119
6.3. A cianobaktériumok rendszerezésénél alkalmazott nevezéktani szabályok.....	122
6.4. Más gyűjtemények tapasztalatai.....	125
<b>7. KÖVETKEZTETÉSEK .....</b>	<b>128</b>
<b>8. ÖSSZEFOGLALÁS .....</b>	<b>130</b>
<b>9. IRODALOMJEGYZÉK.....</b>	<b>132</b>
9.1. Tudományos közlemények hivatkozásai.....	132
9.2. Internetes hivatkozások.....	163
<b>10. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....</b>	<b>164</b>
<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>	<b>166</b>
<b>AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK .....</b>	<b>167</b>
<b>MELLÉKLETEK.....</b>	<b>170</b>
A laboratóriumi tenyésztéséhez felhasznált Z8 tápoldat összetétele	170

Hasonlósági matrix.....	171
Szekvencia különbözőség becslés .....	173
Alaktani vizsgálatok.....	175
A filogenetikai fa összecukott részei tételesen felsorolva .....	180

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

MACC – Mosonmagyaróvár Algal Culture Collection – Mosonmagyaróvári Algagyűjtemény, Magyarország NCBI

ITS – Internal transcribed spacer - belső átíródó nemkódoló szekvencia

rbclx – RubisCO enzimet – (Ribulóz-1,5-biszfoszfát-karboxiláz-oxidáz), egy széndioxid és oxigén megkötésére is képes enzimet – kódoló gén

rpoC1 – RNS polimeráz C1 kloroplasztisz gén

16S rRNS – prokarióták riboszómális RNS kis alegysége

18S rRNS – eukarióták riboszómális RNS kis alegysége

ACOI – Algoteca de Coimbra / Coimbra Collection of Algae – Coimbrai Algagyűjtemény, Portugália

AVOC – Algal Volatile Organic Compounds – algák illékony szerves vegyületei

BLAST – Basic Local Alignment Search Tool – on-line szekvenciakereső alkalmazás

CCALA – Culture Collection of Autotrophic Organisms – Autotróf Szervezetek Gyűjteménye, Csehország

CCAP – Culture Collection of Algae and Protozoa – Alga és Protozoa Gyűjtemény, Egyesült Királyság

DNS – dezoxi-ribonukleinsav

IPPAS – Culture Collection of Microalgae IPPAS – IPPAS Mikroalga Gyűjtemény, Oroszország

MEGA – Molecular Evolutionary Genetics Analysis – szekvenciaelemző program

MUSCLE – MUltiple Sequence Comparison by Log-Expectation – szekvenciaösszehasonlító program

NIES – Microbial Culture Collection at the National Institute for Environmental Studies – Japán Környezettudományi Intézet Mikroalgagyűjteménye

OTU – Operational Taxonomic Unit - működési taxonómiai egység

PCC – The Pasteur Culture collection of Cyanobacteria – A Pasteur-intézet Cianobaktérium Gyűjteménye

PCR – Polymerase Chain Reaction – polimeráz láncreakció

PGR – Plant Growth Regulator – növényi növekedésszabályozó anyag

RAxML – Randomized Axelerated Maximum Likelihood – filogenetikai elemzést végző program

RNS – ribonukleinsav

SAG – Sammlung von Algenkulturen at University of Goettingen – Göttingeni Algagyűjtemény, Németország

TIM2 + G + I model – Transition model – evolúció elemzésére használt model

UTEX – Culture Collection of Algae at The University of Texas – Texasi Egyetem Algagyűjteménye

Zehnder-8 – Zehnder-8 tápoldat (Zehnder és Gorham 1960)



## KIVONAT

A cianobaktériumok alkalmazási területei rendkívül változatosak, különösen a mezőgazdaságban, az élelmiszer-kiegészítők piacán és a biotechnológiai iparban terjedtek el, de szerepük a biológiai szennyvíztisztításban is egyre nagyobb. Továbbá ismert, hogy bioaktív vegyületek széles skáláját is képesek megtermelni. A cianobaktériumok rendszertani helyének megállapítása korábban alaktani jellemzők alapján történt. A molekuláris módszerek fejlődése magával hozta az alaktani és molekuláris meghatározás együttes alkalmazását. Ma a taxonómiai rendszerezés már a kombinált, ún. „polifázikus” megközelítést alkalmazza, ugyanis a fajok azonosításánál molekuláris, alaktani, élettani, citológiai, toxikológiai és ökofiziológiai adatokat is figyelembe vesznek. Az alaktani jellemzők közül az akinéták ismerete elengedhetetlen a fonalas, heterocitaképző cianobaktériumok faji szintű taxonómiai azonosításhoz. Az akinéták nem mozgékony reproductív sejtjek, amelyek nagyméretűek, vastag falúak és nagy mennyiségű tartalék tápanyagot, valamint DNS-t tartalmaznak. Laboratóriumi tenyészetekben ritkán képződnek, sőt bizonyos idő elteltével a laboratóriumi törzsek akinétaképző képessége jelentősen romlik, vagy meg is szűnhet. Ennek tudatában végeztem kísérleteket az akinétaképződés előidézésére. Az új módszerek miatt a múltban leírt taxonok közül számos jelenleg nem elfogadott és még nagyon sok szorul revízióra. A „Süßwasserflora von Mitteleuropa” határozókönyv megközelítőleg 84 *Anabaena* fajt tart nyilván. Nagyon sok (116), korábban *Anabaena* néven szereplő cianobaktérium más nemzetségekbe került át, jelenleg 49 a *Dolichospermum*, 42 a *Trichormus*, 15 a *Chrysoosporum* 10 pedig a

*Sphaerospermopsis* nemzetségekhez tartozik. Az internetes Algaebase (<http://www.algaebase.org/>) 634, míg az NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) adatbázis 12811 *Anabaena* taxont tartalmaz.

A 16S rRNS egy bizonyos szakaszának alkalmazásával 82 MACC izolátumot tanulmányoztam, amelyeket korábban alaktanilag az *Anabaena* nemzetség részeként azonosítottak. Az *Anabaena* nemzetség tagjai édesvízi, fonalas, heterocitával rendelkező taxonok. A törzseket három filogenetikailag és alaktanilag hasonló csoportba soroltam és megnevezésüket az új taxonómiai osztályozás alkalmazásával módosítottam (részben a cianobakteriális osztályozás változásai miatt). Néhány morfológiai (alaktani) struktúra csak részlegesen volt megtalálható a kultúrákban (például akinéták). A molekuláris adatok szerint a 63 törzs közül nyolc a *Desmonostoc*, tizenegy a *Nostoc* nemzetség tagja, negyvennégy törzs pedig a *Trichormus* nemzetséggel mutat genetikai hasonlóságot. Tizenkilenc törzs pontos meghatározásához további gének vizsgálata szükséges. A kládokat a 16S rRNS hasonlósággal és a p-távolságok kiszámításával határoztam meg.

Kellő mennyiségű akinéta hiányában, a filogenetikai eredményekből kiindulva, elvégeztem 63 törzs alaktani behatárolását 7 paraméter alapján: 1. vegetatív sejt szélesség, 2. vegetatív sejt hosszúság, 3. heterocita szélesség, 4. heterocita hosszúság, 5. vegetatív sejt alakja, 6. heterocita alakja, 7. heterocita elhelyezkedése a fonalon belül. Ennek eredményeként 1-1 törzs a *Nostoc edaphicum*, a *Trichormus polysporus*, a *Trichormus rotundosporus*, a *Trichormus steloides*, 2-2 törzs a *Nostoc commune*, a *Nostoc parmelioides*, a *Trichormus pseudovariabilis*, 3 törzs a *Trichormus botulus*, 6 törzs a *Nostoc paludosum*, 8 törzs a *Desmonostoc*

*muscorum*, 10 törzs a *Trichormus variabilis*, míg 26 törzs a *T. hallensis* faj leírásának felelt meg a leginkább Komárek (2013) munkája nyomán.

A vizsgálat célja az volt, hogy korszerűsítsem és aktualizáljam a gyűjtemény törzseinek megnevezését. Ez a tanulmány egyértelműen igazolja azt, hogy az algagyűjtemények törzseinek azonosítására nem elegendő a morfológiai adatok használata, ahhoz a legújabb filogenetikai módszerekre is szükség van. Értekezésemben áttekintést adok az *Anabaena* nemzetség fajainak kísérleti és biotechnológiai alkalmazásáról, valamint a taxonómiai kutatásuk legújabb eredményeiről is.

## ABSTRACT

Cyanobacteria are applied in diverse areas, especially in agriculture. Their role as food supplements/nutraceuticals and in bioremediation and wastewater treatment is an emerging area of interest. In addition, they are known to produce a wide array of bioactive compounds with diverse biological activities. Cyanobacteria were originally classified mainly based on morphological characteristics. The development of molecular techniques facilitated the use of morphological and molecular approaches at the same time. The current taxonomic studies use the combined, and so-called polyphasic approach, which takes molecular, morphological, physiological, cytological, toxicological and ecological data into account. Among the morphological characteristics, knowledge of akinetes is essential for species level taxonomic identification of filamentous, heterocyst-forming cyanobacteria. Akinetes are non-motile reproductive cells of certain cellular, heterocyst-forming cyanobacteria. The cells are large, thick-walled and contain large amounts of nutrient reserves and DNA. Akinete formation under laboratory condition is rare, and after a certain time the ability to form akinetes decrease significantly or even cease among laboratory strains. I carried out experiments that involved the formation of akinetes with this in mind. Because of the new methods, there are only a few well-known and accepted species among those, which were discovered in the past, others need further revision. The taxonomy related book, 'Süßwasserflora von Mitteleuropa' records approximately 84 *Anabaena* species. One hundred and sixteen, previously *Anabaena* algae had been transferred to other genera. Now, 49 species belongs to *Dolichospermum*, 42 to *Trichormus*,

15 to *Chrysochlorum* and 10 to *Sphaerospermopsis* genera. *Anabaena* genus can be found on Internet based databases as well. Algaebase (<http://www.algaebase.org/>) contains 634 while NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) presents 12811 *Anabaena* taxa.

Study on eighty-two MACC isolates previously morphologically identified as '*Anabaena*', a freshwater filamentous, heterocytous taxon, were carried out using a certain section of the 16S rRNA. Three clusters of phylogenetically and morphologically similar taxa were identified. The previous determinations were amended with their new taxonomic classifications (partly due to changes in cyanobacterial classification). Some morphological structures were present only partially in the cultures (e.g. akinetes). Molecular data revealed that eight of sixty-three strains are *Desmonostoc*, eleven are members of the genus *Nostoc* and forty-four strains bear genetic resemblance to the genus *Trichormus*. Additional genes need to be tested to accurately determine nineteen strains, which fall into phylogenetically not well-supported groups in the present analysis. Clades were established by 16S rRNA similarity and p-distances.

In the absence of a sufficient number of akinetes, based on the phylogenetic results, I carried out the morphological delineation of 63 strains using 7 parameters: 1. vegetative cell width, 2. vegetative cell length, 3. heterocyte width, 4. heterocyte length, 5. vegetative cell shape, 6. heterocyte shape, 7. location of heterocyte within the filament. As a result, 1-1 strains are *Nostoc edaphicum*, *Trichormus polysporus*, *Trichormus rotundosporus*, *Trichormus steloides*, 2-2 strains are *Nostoc commune*, *Nostoc parmelioides*, *Trichormus pseudovariabilis*, 3 strains are *Trichormus botulus*, 6 strains are *Nostoc paludosum*, 8 strains are *Desmonostoc muscorum*, 10 strains are *Trichormus variabilis* and 26

strains corresponded mostly to the description of *Trichormus hallensis* species following the study of Komárek (2013).

The goal of this study was to modernize and update the strain designations in this collection. This study clearly demonstrates that the use of morphological data is not sufficient to identify strains of algae culture collections. This requires the latest phylogenetic methods. The present thesis also provides an overview of the species of *Anabaena* genus and its experimental and biotechnological application including the latest results of its taxonomic research.

# 1. BEVEZETÉS

A cianobaktériumok alaktanilag változatos, oxigéntermelő, fotoszintetizáló élőlények, amelyek a környezeti hatásokkal szemben jelentős toleranciával rendelkeznek és a Föld legtöbb élőhelyén megtalálhatók. A taxonokat hagyományosan morfológiai jellemzők alapján azonosították, de mára a molekuláris eljárások egyre inkább beépültek a tanulmányozásukba. A molekuláris (pl. 16S rRNS, ITS, rbcL, rpoC1), alaktani és ökológiai markerek kombinációja (az úgynevezett "polifázikus megközelítés") a cianobakteriális taxonómia arany szabályává vált (Fox és mtsai., Boyer és mtsai. 2001, Malone és mtsai. 2015).

A heterocitás cianobaktériumok nehezen jellemezhetők, mivel számos morfológiailag jól meghatározott nemzetség tűnik polifiletikusnak, vagyis egy taxont több ősz leszármazottai alkotnak (Bohunická és mtsai. 2015). Az egyik ilyen példa az *Anabaena* nemzetség, melyet több kutató polifiletikusnak talált és jelenleg is több nemzetséget képvisel (lásd Komárek 2013). Számos új nemzetséget írtak le és különítettek el az eredeti nemzetségtől és sok taxont áthelyeztek a *Dolichospermum*, a *Trichormus*, a *Chrysoosporum* és a *Sphaerospermopsis* nemzetségekbe. Az eredeti *Anabaena* nemzetség, a típusfaj szerint, közelebb áll egy, a *Trichormus*, *Nostoc*, *Cylindrospermum* és *Wollea* (Komárek 2013) nemzetségeket magába foglaló kládhoz.

A nemzetségek, különösen az *Anabaena* alapos vizsgálata elengedhetetlen toxikológiájuk és vízvirágzásokban való előfordulásuk iránti növekvő érdeklődés miatt. Az *Anabaena* nemzetség fontosságát az adja, hogy fajai számos kémiai vegyületet tudnak előállítani. Bizonyos *Anabaena* fajok káros hatású mérgezőanyagokat termelnek és az

előrejelzések azt mutatják, hogy ez a környezeti változásokkal egyre gyakoribbá fog válni (Lürling és mtsai. 2017). Számos olyan *Anabaena* törzs található az MACC-ben, mint az *Anabaena sphaerica* (Bornet és Flahault), az *Anabaena constricta* (Szafer Geitler) és az *Anabaena miniata* (Skuja), amelyek másodlagos anyagcseretermékei fungicid hatásúnak bizonyultak illetve a káposztalégy tojásrakását gátolták (Ördög 2015). Az MACC-izolátumok bioaktív anyagainak további feltárásához és a cianobakteriális vízvirágzás gyakoriságának vizsgálatához a fajok azonosítása és taxonómiai kapcsolatuk szorosságának a megállapítása hasznos információkkal szolgál (Ördög 2015).

Az MACC gyűjteményben jelenleg 280 cianobaktérium törzset tartanak nyilván. Kutatásom során a korábban alaktani szempontból *Anabaena* nemzetség részeként azonosított 82 MACC cianobaktérium törzs filogenetikai meghatározására összpontosítottam. Ezt korábban még nem vizsgálták az MACC *Anabaena* törzseknél, ezért újnak tekinthető. Ehhez molekuláris vizsgálatok alkalmazásával értékeltem a filogenetikájukat és a törzseket a részleges 16S rRNS gén használatával újraosztályoztam.



## 2. CÉLKITŰZÉS

Választott feladatomban a Mosonmagyaróvári algagyűjtemény *Anabaena* cianobaktérium törzseinek molekuláris szintű és alaktani jellemzése, majd ezek alapján a törzsek azonosítása, csoportosítása. A DNS alapú markerezési eljárásokat az MACC *Anabaena* törzseire eddig nem alkalmazták.

Laboratóriumi vizsgálataimhoz 82 *Anabaena* törzset választottam ki. Az eljárás a 16S riboszómális RNS gén egy szakaszának szekvencia meghatározására épült. Vizsgálataimhoz a Növénytudományi Tanszék a PCR (polimeráz-lánreakció) alapú módszerek használatát és a minták szekvenálását biztosította. Ezen technológiák lehetővé teszik a DNS egy kis darabjának megsokszorozását és elemzését (Butler 2012). A szekvenálást és azok adatainak értékelését Dr. Maróti Gergely és munkatársai végezték (Seqomics Kft., Mórahalom).

Kutatásaim fő célkitűzései:

A Mosonmagyaróvári Algagyűjtemény (MACC) *Anabaena* törzseinek filogenetikai csoportokba sorolása, azonosítása a részleges 16S rRNS génszekvenciájuk alapján. Ezzel bemutatható az MACC *Anabaena* törzsek mai tudásunk szerinti helye a cianobaktérium törzsfá egy szakaszán.

- Az akinétaképződés elősegítése, ami megalapozza a további sikeres taxonómiai vizsgálatok lehetőségét.

- Az MACC korábban alaktani szempontból *Anabaena* nemzetségbe sorolt antimikrobiális törzseihez taxonómiailag közel álló törzsek kiválasztása, amelyek bevonása javasolható a további tesztelésbe.

### 3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A cianobaktériumok (Cyanobacteria) Gram-negatív, oxigén-termelő fotoszintetikus prokarióták hosszú evolúciós történettel (Fay és Van Baalen 1987). Ezen fotoautotróf baktériumok, anyagcsere képessége és alkalmazkodóképessége rendkívüli és változatos, beleértve a molekuláris nitrogén megkötését és a kromatikus adaptációt (a járulékos pigmentek megfelelő arányban való szintézisével képesek alkalmazkodni környezetük fényviszonyaihoz, Bryant 1994). Sejtjeik színe a kékeszöldtől a vörösig változik.

A fotoszintetizáló élőlények között, a cianobaktériumok népesítik be az élőhelyek legszélesebb körét. Megtalálhatók hideg és meleg, lúgos és savas, édesvízi, sósvízi, szárazföldi, és szimbiotikus környezetben (Ahmed és mtsai. 2010). A cianobaktériumok képesek az alapvető tápelemek és anyagcseretermékek raktározására (Fay és Van Baalen 1987). Kizárólag a cianobaktériumokra jellemzőek a nitrogénraktárként is szolgáló cianoficin szemcsék, amelyek a citoplazmában a tilakoid membránok között helyezkednek el (Chorus és Bartram 1999). A cianobaktériumok képesek vízvirágzás okozására eutróf tavakban, rendszerint a meleg nyári időszakban. Ezeket a tömegprodukciónkat általában gázvakuóllummal bíró nemzetségek (*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* és *Planktothrix*) váltják ki.

Jelen értekezés áttekintést nyújt az *Anabaena* nemzetségben rejlő lehetőségekről majd ismerteti a nemzetség rendszerezésének helyzetét modern polifázikus megközelítésben.

### 3.1. Az *Anabaena* nemzetség jelentősége a gyakorlati felhasználás szempontjából

A globális felmelegedés és a fosszilis tüzelőanyagok fogyása erős ösztönzést jelent a nem fosszilis alternatívák alkalmazásainak irányába. Felismerték, hogy a növények általi bioüzemanyagok előállítására nem fedezi a növekvő energiaigényeket. Így jutnak mind nagyobb szerephez olyan fotoszintetizáló egysejtű vagy telepes élőlények, amelyek ígéretes alapanyagok bizonyulnak. A *Gloeocapsa*, az *Anabaena*, az *Arthrospira/Spirulina*, a *Cyanothece* és a *Nostoc* nemzetségekhez tartozó cianobaktériumokról már korábban bebizonyosodott, hogy hidrogén előállítására képesek (Akkerman és mtsai. 2002). Rai és Mallick (1992) a bioremediáció (a szennyezett talaj, talajvíz, felszíni víz, vagy felszíni víziüledék környezeti kockázatának csökkentése biológiai módszerekkel) területén vizsgáltak cianobaktériumokat is. Eredményeik rámutattak arra, hogy a vízszlopon belüli, mozgásában korlátozott *Chlorella* és *Anabaena* törzsek N és P felvétele nagyobb, mint a mozgásukban szabad társaiké (Rai és Mallick 1992). Choi és mtsai. (1998) vizsgálatai szerint az *Anabaena* által termelt neutrális cukrokat, uronsavakat és proteineket tartalmazó flokulláns (pelyhesedést okozó) poliszaharid a káros elemek hatékony megkötését eredményezi. Az *Anabaena subcylindrica* Borge esetében ez a Cu, Co, Pb és Mn, az *Anabaena doliolium* Bharadwaja esetében pedig az Fe és Cu megkötésében nyilvánult meg (Gupta és mtsai. 2013).

A cianobaktériumoknak fontos szerep jut az agrobiotechnológiában mind az integrált tápanyag-gazdálkodás, mind pedig a kártevők elleni védelem területén. A vízi és szárazföldi élőhelyek elsődleges benépesítőiként, kulcsszereplők a talajtermékenység egyensúlyának fenntartásában, illetve a tápláléklánc fontos

alappilléreiként is számon tarthatók (Prasanna és mtsai. 2008). Kelet-Indiában a rizsföldek vizsgálatakor olyan, a molekuláris nitrogén megkötésére képes nemzetségek domináns (40–90%) jelenlétét mutatták ki, mint a *Nostoc* és az *Anabaena* (Prasanna és Nayak 2007).

A cianobaktériumok előnye a többi nitrogénkötővel szemben az, hogy míg a heterotróf szervezetek e tevékenységükhöz nagy mennyiségű hasznosítható szerves anyagot igényelnek, addig a cianobaktériumok széndioxidból és vízből, fixált szénigényüket is saját maguk fedezik. További előnyük, hogy a fixált nitrogénnek 5–88%-át a környezetükbe leadhatják (Peterson 2001). Mutáns cianobaktérium törzs (*Anabaena variabilis* Kützing ex Bornet et Flahault) és búza nitrogénmentes tápoldatban történő együttes tenyésztése során a búza összes N-tartalma elérte a nitráttáplálású búza kontroll nitrogéntartalmának 85%-át, emellett a cianobaktériumok fotoszintézise során kibocsátott oxigén elősegítette a búza gyökérlégzését vízkultúrában (Spiller és Gunasekaran 1991). Rizskultúrákban a cianobaktériumok által fixált nitrogén mennyisége átlagosan évi 49 kg/ha-ra tehető. A szimbionta *Anabaena azollae* Strasburger cianobaktériumnak évi 30–80 kg/ha nitrogénkötést tulajdonítanak, ez az érték pedig megegyezik a talajok diazotróf mikroszervezetei által fixált mennyiséggel (Metting 1994).

Az *Anabaena* nemzetség egyes tagjainak antifungális (gombaölő) hatását is kimutatták. Az *Anabaena laxa* A. Braun kivonata, a „laxaphycin” hatásos volt 5, köztük az *Aspergillus oryzae* (Ahlb.) E. Cohn, *Candida albicans* (C. P. Robin) Berkhout és *Penicillium notatum* Thom gombára (Frankmölle és mtsai. 1992). A *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W. C. Snyder et H. N. Hans és a *Fusarium moniliforme* J. Sheld. ellen a paradicsomot komposzthoz adott *Anabaena laxa* törzsszel

sikerült megvédeni (Prasanna és mtsai. 2013). A fungicid hatású *Anabaena laxa* kezelés erősítette a növény védekezőképességét a növénypatogén (patogén = kórokozó) gombával szemben. Kimutatták, hogy az *Anabaena laxa* hatásos fungicid vegyülete hasonlít a *Lyngbya majuscula* Harvey ex Gomont által termelt „majusculamid”-hoz (Gupta és mtsai. 2013).

Az SZE-MÉK Növénytudományi Tanszékén anyagcseretermékeik felhasználhatósága kapcsán vizsgáltak *Anabaena* törzseket. Ördög és mtsai. (1995) növényi növekedésszabályozó anyagokat (PGR) termelő algatörzsekkel kísérleteztek. Növekedésserkentés tekintetében, az *Anabaena variabilis* és az *Anabaena cylindrica* Lemmermann citokinin- és auxintermelése bizonyult a legígéretesebbnek. Ördög és Pulz (1995) az uborka sziklevélen végzett biotesztjei szemmel látható citokinin-szerű aktivitást mutattak az *Anabaena torulosa* Lagerheim ex Bornet et Flahault esetében is. Molnár és Ördög (1996) nyolc *Anabaena* törzsből négy esetében mutattak ki citokinin-szerű hatást az uborka sziklevel megnyúlási és/vagy a szója kallusz növekedési bioteszttel. Céljuk az volt, hogy a növénytermesztésben külső hormon forrásként alkalmazható törzseket találjanak. Jäger és mtsai. (2010) sok más MACC törzs között az MACC 643 (*Anabaena* sp.) törzs kukoricára gyakorolt citokinin-, auxinszerű hatását vizsgálták.

A cianobaktériumok más mikroorganizmusokra gyakorolt növekedést serkentő és gátló hatását ugyancsak tanulmányozták. Figyelemre méltónak bizonyult kettő, saját gyűjtésű *Anabaena* sp. növekedést stimuláló hatása a *Bacillus thuringiensis* Kurstaki és *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn fajokra nézve (Szigeti és mtsai. 1996). Ördög (1993) a szűrőtáplálkozású busa fajokkal etetési kísérleteket végzett alga- és cianobaktérium-tenyészeteket adva a halaknak. Az alkalmazott

tenyészetek között az *Anabaena flos-aquae* Brébisson ex Bornet et Flahault fajt is vizsgálták. Szintén folytak kutatások *Anabaena* törzsek bevonásával, melyek során mezőgazdasági és gyógyszeripari (pl.: tumorellenes hatás) célra alkalmas algákat kerestek (Ördög és mtsai. 2004).

### 3.2. A cianobaktériumok taxonómiai áttekintése

A cianobaktériumok rendszere – mint más élőlénycsoportoké – állandó átalakuláson megy keresztül. A fajok osztályozását folyamatosan felülvizsgálják és átdolgozzák (Komárek és Anagnostidis 1986, 1989, Anagnostidis és Komárek 1988, 1990, Turner 1997, Castenholz 2001). Az elmúlt években az ultrastrukturális tanulmányokból, ökológiai elemzésekből és különösen a molekuláris biológiából származó új adatok jelentősen megváltoztatták a cianobaktériumok taxonómiáját. A modern, polifázikus (kombinált) módszertani megközelítés a cianobaktériumok jobb azonosíthatóságát és sokféleségének pontosabb meghatározását teszi lehetővé (Korelusová 2008). Az egyik elterjedt osztályozási rendszer a cianobaktériumokat hat rendre osztja fel (Cavalier-Smith 2002):

I. rend: *Chroococcales* (Wettstein 1924, átdolgozva Rippka és mtsai. 1979, Joosten 2006,

II. rend: *Gloeobacterales* (Cavalier-Smith 1998, átdolgozva Cavalier-Smith 2002 által),

III. rend: *Nostocales* (Geitler 1925, átdolgozva Castenholz 1989, majd Cavalier-Smith 2002 által),

IV. rend: *Oscillatoriales* (Elenkin 1934, átdolgozva Komárek és Anagnostidis 2005 által),

V. rend *Pseudanabaenales* (Lauterborn 1915, átdolgozva Cavalier-Smith 2002 által),

VI. rend: *Synechococcales* (Cavalier-Smith 2002 által),

Az *Anabaena* nemzetséget Bory de Saint-Vincent hozta létre 1822-ben, neve a görög „anabaino” szóból ered, ami „emelkedik, erősödik” jelentéssel bír (Bornet és Flahault 1886). Hagyományos értelemben az *Anabaena* nemzetség planktonikus és bentikus törzsek széles skáláját tartalmazta (Geitler 1932, Elenkin 1938, Starmach 1966). A Geitler (1932) által közölt 57 *Anabaena* faj volt éveken keresztül a fő hivatkozási alap fajaik rendszertani besorolására. Az *Anabaena* Bory ex Bornet et Flahault nemzetség Komárek és Anagnostidis (1989) szerint a *Nostocales* rendhez tartozik. A közelmúltban a fonalas heterocitás cianobaktériumokhoz, a *Nostocales* rendbe és a *Nostocaceae* családba sorolták (Rippka és mtsai. 2001).

### **3.3. Az *Anabaena* taxonok morfológiai alapú rendszerezése**

Az *Anabaena* nemzetség morfológiai jellemzőit leíró korábbi közlemények korlátozott mértékben tértek ki a tenyésztési körülmények hatására (Willame és mtsai. 2006). Már régóta ismert, hogy a hosszú távú törzsfenntartás jelentős morfológiai változásokat okozhat a törzsekben (Anand 1988). Így aztán téves lehet a morfológiai alapú azonosítás, ha az a természetből izolált cianobaktériumok tenyészetéből huzamosabb idő elteltével történik (Komárek és Anagnostidis 1989). A közlemények egy



részének másik gyenge pontja az, hogy morfológiai adatok nélkül (leírás, méretek, mikrofotográfiák vagy rajzok) használják a klasszikus fajneveket. Ezek azért keltenek zavart, mert az értelmezésük eltérhet különböző szerzők közléseiben (Zapomelová 2008b). Nem egyértelmű például az *Anabaena circinalis* Rabenhorst ex Bornet et Flahault és az *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet et Flahault morfológiai alapú megkülönböztetése (Beltran és Neilan 2000), ugyanis a leírások alapján a két faj összetéveszthető egymással. Átfedések néhány más *Anabaena* faj leírásánál is megfigyelhetők.

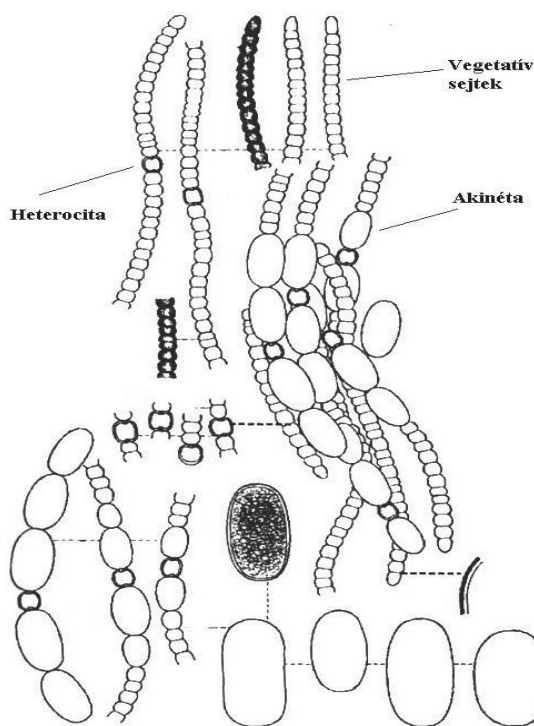
Fjerdingstad (1966) az elsők között volt, aki felhívta a figyelmet arra, hogy az *Aphanizomenon* nemzetség könnyen összetéveszthető az *Anabaena* nemzetséggel. Komárek és Kováčik (1989) értékelték a két nemzetség megkülönböztetésére használt morfológiai jellemzőket és egyetlen megbízható nemzetség-specifikus határozójegynek a trichómák struktúráját találták. Rippka és mtsai. (1979) megjegyezték, hogy a morfológiai határ az *Anabaena* és a *Nostoc* nemzetségek között sem minden esetben világos. A két nemzetség közötti különbség hagyományosan a kolóniaképzés jellegén alapult, de a *Nostoc* fajokra jellemző, természetes körülmények között képződő kocsonyás telepek ritkán alakulnak ki tenyészetekben. Az *Anabaena* nemzetség morfológiailag hasonlít a *Nostoc* Vaucher ex Bornet et Flahault nemzetséghez miközben a molekuláris eredmények azt mutatják, hogy ez a két nemzetség genetikailag jól elkülönül egymástól (Rajaniemi és mtsai. 2005a).

Az *Anabaena* nemzetség meglehetősen heterogén, mivel a nemzetségen belül két csoportot is megkülönböztethetünk, amelyek a planktonikus és a perifitikus életmódjuk (illetőleg életformájuk szerint

lehetnek szoliter, klasztert alkotó vagy algaszőnyeget képző fajok), és különösen azon képességük alapján térnek el, hogy alkalmasak-e gázvakuólumok képzésére (Komárek és Anagnostidis 1989). Ezek egyrészt a tipikus *Anabaena* fajok (*A. oscillarioides* Bory ex Bornet et Flahault típusú fajok, 1. Ábra), melyek gázvakuólum nélküli filamentumokat hoznak létre, és a vizekben szőnyeget alkotva lebegnek vagy a talajban élnek. Másrészt pedig vannak a planktonikus *Anabaena* fajok (*Dolichospermum* nemzetség Ralfs ex Bornet et Flahault). Komárek és Anagnostidis (1989) szerint ezek az *Anabaena flos-aquae* Brébisson ex Bornet et Flahault típusú fajok, melyek rendszerint szoliter trichómákként növekednek vagy trichóma csoportokban, gázvakuólumokkal (aerotópok). A jelenlegi molekuláris vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a bentikus és a planktonikus *Anabaena* törzsek nem monofiletikusak. A planktonikus *Anabaena* törzseket egy egyesített klaszterbe helyezték az *Aphanizomenon* törzsekkel, arra utalva, hogy azok, a genetikai adatok szerint egyetlen nemzetséggént kezelhetők (Rajaniemi és mtsai. 2005b).

### **3.4. Heterociták és akinéták**

Néhány fonalas cianobaktériumnál, a fonal vegetatív sejtjeitől morfológiáját és funkcióját tekintve is eltérő két sejtípus található, a heterociták és az akinéták (1. Ábra).



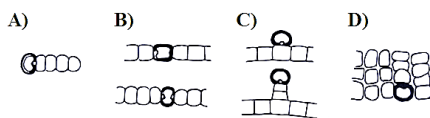
1. Ábra *Anabaena oscillarioides* Bory ex Bornet et Flahault típusfaj  
(Komárek 1996).

A heterocita a légköri nitrogénkötés helye, számából következtetni lehet a fixált nitrogén mennyiségére. A heterociták fizikailag a következőkben különböznek a vegetatív sejtektől: nagyobb méretűek, vastagabb a sejtfaik és kevésbé szemcsés citoplazmájuk van (Haselkorn 1978). A heterociták hosszúsága 5–17  $\mu\text{m}$ , szélessége pedig kb. 5–17  $\mu\text{m}$  között alakul. A vegetatív sejtek hosszúsága 2,5–14  $\mu\text{m}$ , szélességük szintén 2,5–14  $\mu\text{m}$  közé tehető (Zapomelová 2008a).

A hagyományosan heterocitaképzőként leírt csoportok a *Scytonematales*, *Nostocales* és *Stigonematales*. A nitrogén anyagcsere és a környezetben rendelkezésre álló nitrogén koncentrációja kritikus tényező a heterociták képződésében (Wolk 1989). Ennek következtében a

heterocitaképzés populációnként és fajonként eltérő. Vannak olyan fajok is, amelyek esetében a heterociták teljesen eltűnnek a nitrogénben gazdag környezeti körülmények fennállása esetén (Komárek 2013). A heterociták a vegetatív sejtekből képződnek, általában közvetlenül az osztódásuk után (Risser és mtsai. 2012). A heterociták alakutana változatos és fajonként eltér, de szerkezetük többé-kevésbé egységes és funkciójuk ugyanaz. A heterociták a cianobaktériumok egyedülálló sejtformái és nem fordulnak elő más prokarióta vagy eukarióta szervezetben (Komárek és Anagnostidis 1989).

A heterociták elhelyezkedése fonalon belül (2. Ábra) illetve bizonyos fókig az alakjuk is genetikailag meghatározott és összhangban van számos genotípussal. A heterociták képződésekor a fonalak szerkezete lehet heteropoláris, szimmetrikus, szubszimmetrikus vagy metamerikus. Ezek a jellemzők megfelelnek filogenetikailag távoli csoportok jellegzetességeinek (Komárek és Anagnostidis 1989). A metamerikus fonalról akkor beszélünk, ha a heterociták többé-kevésbé szabályos távolságonként képződnek, ez faji sajátosság (*Anabaena*, *Nodularia*) (Rippka és Herdman 1985). A szimmetrikus fonalak ismertetőjele, hogy a heterocitáik kizárólag sejtvégi vegetatív sejtekből alakulnak ki (*Cylindrospermum*), míg a szubszimmetrikus fonaloknál a heterociták nem szigorúan szimmetrikusan helyezkednek (*Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Macrospermum*). Heteropoláris fonalstruktúra esetén a heterocita hol az egyik, hol pedig a másik végén helyezkedik el a fonalnak.



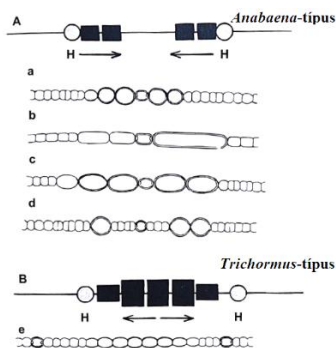
2. Ábra A heterociták elhelyezkedése a fonalon belül (Anagnostidis és Komárek 1990). A) fonalvégi (terminális), B) sejtközi (interkaláris), C) oldalsó (laterális) elhelyezkedésű és D) oldalsó (laterális) több sorba rendeződött fonalak esetén.

Az akinéta (görögül „akinetos”, ami mozdulatlant jelent) egyes cianobaktériumok nyugvó állapota, mely a kedvezőtlen körülmények hatására alakul ki (Adams 2000). Az akinéták képesek ellenállni a hidegnek, a sötétségnek és a kiszáradásnak. Az akinéták hosszúsága (kb. 10–40  $\mu\text{m}$ ) és szélessége (kb. 7–25  $\mu\text{m}$ ) fajtól függően változhat, színük jellemzően sárgás, barnás (Zapomelová 2008a). Az akinétaképzés és elhelyezkedés megváltoztathatja a szimmetrikus és szubszimmetrikus fonalak természetét és ez a teljesen megváltozott fonalstruktúra (vegetatív sejtek, akinéták és heterociták összessége) genetikailag meghatározott és filogenetikailag informatív a különböző *Nostocaceae* nemzetségek szempontjából (Komárek 2013).

Az *Anabaena* nemzetség azonosításakor bizonyos jellemzők használata szerzőnként eltérhet. Hindák (2000) például az *Anabaena* meghatározáshoz elsősorban az akinéták elhelyezkedését, a terminális sejtek alakját és a vegetatív sejtek átmérőjét használta. Rajaniemi és mtsai. (2005a) szerint a legfontosabb jellemzők az akinéták mérete és elhelyezkedése. Stulp (1982) emellett a heterociták alaktani jellemzőit, és az akinéták heterocitákhoz viszonyított elhelyezkedését is figyelembe vette.

Az akinéták alakjának specifikussága a különböző nemzetségekben nyilvánvaló. A nagyobb méret, alak, sejtfal szerkezet, a számuk és elhelyezkedésük a fonalon belül illetve csírázásuk típusa mind egyedi jellemzője az adott genotípusan meghatározott fajnak (Sutherland és mtsai. 1985). Törzsgyűjteményekben ritkán figyelték meg fajon belüli változatosságát (Stulp 1982). Ultrastruktúrája alapvetően nem tér el merőben a vegetatív sejtétől, ami valószínűleg hozzájárul a könnyű egyikből-másikba alakuláshoz. A tipikus akinétákat csak a *Nostocaceae* család tagjai között gyakoriak. Az akinétaképződés szabályozó mechanizmusa többé-kevésbé a heterocita elhelyezkedésével van kapcsolatban (Herdman 1987) és fajspecifikus (Nichols és mtsai. 1980).

Két fő akinétaképzés figyelhető meg a leggyakrabban a *Nostocacean* nemzetségekben (3. Ábra) (Komárek és Anagnostidis 1989).



3. Ábra Példák a paraheterocitás (A) és apoheterocitás (B) akinétaképződésre a *Nostocacean* nemzetségeknél;

- a – *Sphaerospermopsis aphanizomenoides*; b – *Anabaena subcylindrica*;  
 c – *Anabaena oscillarioides*; d – *Dolichospermum smithii*;  
 e – *Trichormus variabilis*; H – heterociták (Komárek 2013).

A paraheterocitás akinétaképzésnél az akinéták általában magányosan vagy egymás után egy sorban (maximum 8 sejt egymás mellett) képződnek. Vagy egy vegetatív sejtől vagy több vegetatív sejt egyesüléséből képződnek és általában jóval nagyobbak, mint a kiindulási sejt. Egymás utáni képződésük a heterocita közelében képződik és túlhalad azon. Ez az akinétaképződés típus nemzetség szintű sajátosság jellemzően a *Cylinrospermum*, *Dolichospermum*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* és *Wollea* esetében. Az apoheterocitás akinétaképzésnél az akinéták többé-kevésbé két egymástól távol eső heterocita között alakulnak ki és egymás utáni hosszú sort alkotnak. Némelyik fajnál a fonal összes vegetatív sejtje akinétává alakul át. Ez az akinétaképződés típus leginkább a *Nostoc*, *Trichormus* és *Nodularia* nemzetség fajaira jellemző (Komárek 2013).

### **3.4.1. Az akinéták szerkezete, összetétele és anyagcseréje**

Az akinétát vastag sejtfa és egy többrétegű extracelluláris burok veszi körül (Herdman 1988), amely glükózban gazdag szénhidrátból és amino-vegyületekből áll (Cardemil és Wolk 1979).

A differenciálódás során az akinéták mind glikogén, mind cianoficin szemcséket halmoznak fel (Simon 1987). Az akinéták néhány cianobaktérium faj esetében közvetlenül a heterociták szomszédságában, míg más planktonikus fajnál a heterocitától néhány sejttel arrébb fejlődnek ki (Li és mtsai. 1997). A legtöbb esetben az akinéták gyöngysor alakban fejlődnek és az érettségi fokuk az első sejttől kezdve csökken az újabb akinéta felé.

Az akinéták különböző metabolikus és alaktani változáson mennek keresztül a fejlődésük és az érésük során. Az anyagcsere aktivitásuk, mint

például a CO<sub>2</sub>-fixálás csökken (Rai és mtsai. 1985), míg a légzés intenzitása gyakran emelkedik (Herdman 1987), de a régebbi akinétákban teljesen megszűnik (Chauvat és mtsai. 1982). Az érett akinétákban kevés a klorofill és az I. fotorendszer (PSI) működése is szünetel (Fay 1969), azonban pigmenttartalma hasonló a vegetatív sejtekéhez (Wolk és Simon 1969). Az akinétákban a fikocianin mennyisége nő meg és az összes pigmenttartalom állandónak tekinthető (Fay 1969). A sejt RNS-, DNS- és fehérjetartalma hasonló volt a *Nostoc* PCC 7524 vegetatív sejtjeiben és akinétáiban (Sutherland és mtsai. 1979), míg az *A. cylindrica* akinétái azonos mennyiségű RNS-t tartalmaztak, de több mint kétszer annyi DNS-t, és tízszer annyi fehérjét, mint a vegetatív sejtek (Simon 1977).

### **3.4.2. Az akinétaképzést befolyásoló tényezők**

Különböző környezeti tényezőkről számoltak be eddig, melyek bizonyos cianobaktérium fajok és törzsek akinétáinak képződését kiválthatják. Az egyik ilyen tényező, a fényintenzitás. A fény korlátozása és a fényintenzitás növekedése szintén előidézheti azt, hogy több akinéta képződjön a cianobaktérium szuszpenzióban (Adams és Duggan 1999).

A fényminőség ugyancsak szerepet játszik az akinéták kialakulásában. A *Gloeotrichia*-ban az akinéták képződését inkább a zöld és nem a fehér fény stimulálta. Az *A. circinalis* esetében a vörös vagy a zöld besugárzás volt sokkal hatékonyabb, mint a kék fény.

A foszforhiányt az akinéták fejlődésének kiváltó okaként határozták meg (Dodds és mtsai. 1995, van Dok and Hart 1996, Meeks és mtsai. 2002). A foszfor mellett más tápanyagok és abiotikus (élettelen) tényezők is ismertek, amik befolyásolják az akinéták kialakulását. A Mg,



Ca, Fe és S hiánya például a *Gloeotrichia ghosei* akinéta számának csökkenéséhez vezettek, míg számos planktonikus *Anabaena* izolátum esetében a hőmérséklet is fontos szempont volt az akinéták kialakulásánál (Hori és mtsai. 2002, 2003; Li és mtsai. 1997). Például a K<sup>+</sup>-hiány másodlagos jelet gerjeszt, ami a sejtozmózis szabályozáshoz és a kiszáradáshoz kapcsolódik, ez pedig közvetve az akinéta kialakulásához vezet (Beltrami 2008).

### **3.4.3. Az akinéták szerepe a környezetünkben**

A laboratóriumi vizsgálatok során alkalmazott változó körülmények azt mutatják, hogy az akinéták ellenállnak az alacsony hőmérsékletnek és a kiszáradásnak, de a hőnek nem (Hori és mtsai. 2003). Az *Aphanizomenon* és az *Anabaena* esetében meghosszabbodott túlélési időről számoltak be, nevezetesen a 18 és 64 év közötti akinéták is életképesek voltak és sikeresen csíráztak (Livingstone és Jaworski 1980). Így az akinéták nemcsak átmeneti 'pihenőfunkcióval' rendelkeznek, hanem egy faj hosszú távú fennmaradását is biztosíthatják, ami ökológiai előnyöket nyújt számukra.

A túlélésben betöltött szerepük mellett az akinéták diszperziós egységként is szolgálnak, ugyanis a vándorló madarak elősegítik az akinéták elterjedését (Padisák 1997), ami növelheti az akinétaképző törzsek elterjedésének esélyét.

Az akinéták robusztus burkai hasznos mikrofosztilis jelzőanyagok, amelyek hozzájárulhatnak a korábbi fitoplankton összetétel tanulmányozásához (van Geel és mtsai. 1994). Mivel az akinéták hosszú ideig életképesek maradhatnak a mélyebb üledékrétegekben és megfelelő

eszközként szolgálnak az ősi *Nostocales* populációk genetikai sokszínűségének tanulmányozására, vagy akár élettani vizsgálatokhoz is, ha azok még csírázóképesek laboratóriumi tenyészetekben. Végül tanulhatunk abból is, hogy az akinéta kialakulása és a nyugvó folyamatok mennyiben lehetnek alkalmazhatók az eukarióta sejtek hosszú távú megóvása érdekében.

### **3.5. Különböző filogenetikai markerek cianobaktériumok elkülönítésére**

A 16S rDNS filogenetikailag nem elég variabilis és gyakran nem elegendő a mikroorganizmusok közötti kapcsolatok megállíttatásához (Casamatta és mtsai. 2005). Ez nem megfelelően elkülönült csoportokat eredményez a filogenetikai fákon és bootstrap értéke is alacsony. Továbbá, a 16S rDNS filogenetikából nyert eredmények túlbonyolított osztályozási sémát mutatnak, amelyek néha még az egysejtű és többsejtű formák közötti megoszlást sem követték (Wilmotte és Herdman 2001, Fewer és mtsai. 2002, Gugger és Hoffman 2004). Ladders és mtsai. (2005) szerint az rRNS belső átíródó nemkódoló szekvencia (ITS) lókuszára vonatkozó adatok azt mutatták, hogy a vizsgált *Microcoleus* törzsek hasonlók alaktanilag, de genetikai szinten különböznek. Hasonlóképpen, Otsuka és mtsai. (2001), a *cpcBA* intergenikus spacer és a 16S 23S ITS felhasználásával megállapította, hogy hat *Microcystis* morfofaj egy fajba sorolható.

Ezen kívül számos kutató tett erőfeszítéseket a különböző fehérjekódoló gének felhasználásával arra, hogy a cianobaktériumok filogenetikájára vonatkozóan új következtetéseket vonjanak le. Morden és Golden (1991) az *rbcL/S* gént, míg a *psb A* gént Zeidner és mtsai. (2005),

Morden és Golden (1991), Lockhart és mtsai. (1992) használták. Henson és mtsai. (2004) illetve Raymond és mtsai. (2004) a *nifD/H/E/K/N* géneket vizsgálták cianobaktérium fajok jellemzésénél. Delwiche és mtsai. (1995) a *tuf A*, fehérjét kódoló, Seo és Yokota (2003) az *rpoD1*, *gyrB* és *rpoC1* géneket, Dvornyk (2006) a *cpmA* gént, Garczarek és mtsai. (2001) a *pcb* géncsaládot, a fikocianin operont pedig Robertson és mtsai. (2001) illetve Crosbie és mtsai. (2003) alkalmazták. Tanabe és mtsai. (2007) multilókuszos szekvencia tipizálást hajtottak végre a *Microcystis*-ben megtalálható háztartási génekkel (*ftsZ*, *glnA*, *gltX*, *gyrB*, *pgi*, *recA* és *tpi*).

Ezen túlmenően, a cianobaktériumok rendszertanához egyéb olyan molekuláris markerek is használnak, mint például a fikocianin operon és intergenikus spacer-je (*cpcB*, *A* és *IGS*) a 16S rRNS génszekvenciák kiegészítésére. Ide tartoznak a *Synechococcus*, *Arthrospira*, *Rivularia*, *Nodularia* és *Aphanizomenon* nemzetségek (Robertson és mtsai. 2001; Berrendero és mtsai. 2008). Az *rpoB* gént (az RNS polimeráz  $\beta$ -alegysége) a *Nodularia*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Trichormus* és *Nostoc* nemzetségekben (Lyra és mtsai. 2005; Rajaniemi és mtsai. 2005b), míg az *rpoD* gént (szigma faktor) a *Microcystis* nemzetség tanulmányozására használják. Egy másik filogenetikai marker az *rbcLX* (ribulóz-biszfoszfát-karboxiláz/oxigénáz), amelyet *Aphanizomenon*, *Trichormus*, *Nostoc* és *Nodularia* nemzetségekben történő tanulmányozására használnak (Gugger és mtsai. 2002, Lyra és mtsai. 2005, Rajaniemi és mtsai. 2005a). A poliketid- és peptidszintézisben résztvevő *ndaF* gén és a gázvezikuláris protein kódolásáért felelős *gvpA* gén a *Nodularia* nemzetség rendszertani vizsgálatánál terjedt el (Lyra és mtsai. 2005).

A heterocitás cianobaktériumokban a *nifD* nitrogénáz kódoló gént (Henson és mtsai. 2004) és a heterociták differenciálódásában részt vevő *hetR* gént használják a filogenetikai hovatartozáshoz megállapításához a *Nodularia* és *Aphanizomenon* nemzetségekben. Néhány tanulmány a ribonukleáz P markereket használta a *Prochlorococcus* nemzetségben és a tRNS LEU intronjait a heterocitás cianobaktériumokban (Oksanen és mtsai. 2004). Pereyra és mtsai. (2017) *Dolichospermum circinale* (korábban *Anabaena circinalis*) cianobaktérium esetében az *stx* gén, vagyis a saxitoxin nevű, nagyon erős, egy a légzőizmok bénulásáért felelős toxint kódoló gén megléte és a vizsgált törzsek filogenetikája között mutattak ki összefüggést.

### **3.6. Anabaena taxonok molekuláris biológiai vizsgálatának eredményei**

Számos molekuláris megközelítést vezettek be és teszteltek széleskörűen. Ilyenek például a DNS-hibridizáció, az RFLP (restrikciós fragmenthossz-polimorfizmus) és a génszekvenciákon alapuló filogenetikai elemzés. Ez utóbbi bizonyult a leginkább alkalmazhatónak a hagyományos módszerekkel összevetve (Palinska és mtsai. 2006). Jelenleg ez az elsődleges módszer a cianobaktérium kládok nemzetség szintű meghatározásához. Várhatóan, következő lépésként a teljes genom szekvenálása jellemzi majd a molekuláris módszereket (Larsson és mtsai. 2011).

Eddig számos genomrészletét szekvenálták különböző *Anabaena* törzseknek ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Ezekből a szekvenciákból a 16S rRNS, az ITS1, az *rbcLX* és a *rpoB* géneket vizsgálták részletesen és ez alapján vontak le taxonómiai következtetéseket (Li és Watanabe 2001,

Gugger és mtsai. 2002, Rajaniemi és mtsai. 2005a, 2005b, Willame és mtsai. 2006). A vizsgálatok kimutatták, hogy az *Anabaena* és *Aphanizomenon* törzsek mind morfológiai mind molekuláris jellemzők alapján egymással átfedésben vannak és azok egyetlen nemzetséghez történő hozzárendelését javasolták (Rajaniemi és mtsai. 2005b). A *Dolichospermum* nemzetséget Komárek és Anagnostidis korábban önálló planktonikus *Anabaena* csoportnak javasolták az *Aphanizomenon* nélkül (Rajaniemi és mtsai. 2005b). A jelenleg rendelkezésre álló szekvenciákból úgy tűnik a 16S rRNS gén alkalmas a leginkább arra, hogy összehasonlítsunk morfológiai és molekuláris tulajdonságokat, legalábbis a planktonikus *Anabaena* csoporton belül.

A riboszómális RNS kis alegységét (16S rRNS) kódoló gének szekvencia vizsgálata a legmegbízhatóbb eljárás a cianobaktériumok filogenetikai osztályozására. Másrészt ez a génszekvencia független a tenyésztési vagy a növekedési körülményektől és már kis mennyiségű laboratóriumi vagy természetes környezetből származó mintából kivont DNS is elegendő a PCR alapú vizsgálathoz ráadásul a GenBank-ban is nagy számban hozzáférhető, publikált referenciaszekvencia található belőle (Weller és mtsai. 1991, Wilmotte 1994).

Az említett génszakaszok mellett, vizsgálják további gének alkalmazhatóságát is az *Anabanea* fajokat illetően. A nifH gén adatbázisa a mikroszervezetek egyik legnagyobb nem riboszómális adathalmaza (Singh és mtsai. 2013). A nifH gén ugyanilyen fontos gén, amely több lehetőséget biztosíthatna az egymással nagyon sok hasonlóságokat mutató nitrogénfixálók (*Anabaena*, *Aphanizomenon*) törzsfajlásának és filogenetikai jellemzőinek megismeréséhez (Roeselers és mtsai. 2007).

Molekuláris adatokon alapuló filogenetikai vizsgálatok jelentős különbséget mutattak a baktériumszőnyeget képző bentikus és a gázvakuólumokkal rendelkező planktonikus fajok között.

Számos korábbi tanulmány rámutatott arra, hogy az *Anabaena* nemzetség alaktanilag, ökológiailag és genetikailag heterogén, különös tekintettel a planktonikus és a bentikus képviselők közötti különbségekre. Ezért a planktonikus *Anabaena* morfofajok fő molekuláris klaszterét átsorolták az új *Dolichospermum* nemzetségbe, az *Anabaena* általános nevet pedig megtartották a bentikus, perifitikus és talaj morfofajok esetében. Ezen kívül néhány más, a hagyományosan *Anabaena* nemzetségbe sorolt morfofaj különálló genetikai klasztert alkot, ilyen például a *Sphaerospermopsis* (Komárek 2013).

Az eredeti (bentikus, perifitikus és talaj morfofajokat tömörítő) *Anabaena* nemzetség az átdolgozás értelmében közelebb áll a *Trichormus*, a *Nostoc*, a *Cylindospermum* és *Wolleea* nemzetségeket tartalmazó nagy kládhoz (az evolúciós kladogram vagy fa ága), de pontos helye tisztázatlan (Werner és mtsai. 2012). Továbbá lehetséges e klaszter elválasztása, további nemzetségekbe való átalakítása. A planktonikus fajok leszűkült/elkeskenyedő sejtvégződéssel bíró csoportját (bennük eredetileg *Anabaena* és *Aphanizomenon* fajokkal) szintén elkülönült filogenetikai klaszterként kezelték, majd saját nemzetséget (*Chrysoforum*) hoztak létre nekik. A bentikus *Anabaena sensu stricto* klaszter tartalmaz elkeskenyedő fonalú fajokat, főként forró égövi élőhelyeken, amelyek nemzetség szintű elkülönítése ugyancsak lehetséges. Modern kutatási eredmények szerint a bentikus *Anabaena* fajok, melyek heterocitáinak mindkét oldalán van akinéta (ide tartozik a típusfaj, az *Anabaena oscillarioides* Bory ex Bornet et Flahault), közel állnak a *Wolleea* nemzetséghez, így végeredmények itt

csak további taxonómiai és nevezéktani változtatások után várhatók (Komárek 2013).

A „Süßwasserflora von Mitteleuropa” (Közép-Európa Édesvízi Növényvilágának Határozókönyve) című, a cianobaktériumok heterocitás nemzetségeit magába foglaló könyvsorozat legújabb, 2013-as kiadása szerint 30 európai és 30 Európán kívüli bentikus *Anabaena* faj elfogadott, illetve további 24 kerül említésre a „felülvizsgálatra váró fajok” kategóriában (Komárek 2013). 116 korábban *Anabaena* nemzetség alatt szereplő taxon került át a következő nemzetségekbe: A „planktonikus *Anabaena*”-khoz, vagyis a *Dolichospermum* (Ralfs ex Bornet és Flahault Wacklin, Hoffman és Komárek 2009) nemzetséghez 49 faj tartozik, amiből 15 Európán kívüli a szerző szerint (Wacklin és mtsai. 2009). A felülvizsgálatra váró 7-ből pedig 6 fajneve még mindig *Anabaena* nemzetségnéven szerepel. Zapomelová és mtsai. (2011) a *Dolichospermum* nemzetségből 10 fajt különített el, azok akinétái ugyanis gömb alakúak és a heterocitákkal határosak, következésképpen számukra *Sphaerospermopsis* (Zapomelová és mtsai. 2010) néven új nemzetséget hoztak létre. A 10-ből 5 faj helyzete még mindig tisztázatlan, közöttük *Anabaena* és *Aphanizomenon* nemzetségnévvel ellátott fajok vannak. A *Trichormus* (Ralfs ex Bornet et Flahault) (Komárek és Anagnostidis 1989) nemzetség, bár megjelenésében hasonló az *Anabaena* nemzetséghez, akinétaképző stratégiája teljesen eltérő és a *Nostoc* nemzetséghez közelít. 42 faj közül 4 még mindig *Anabaena*-ként van feltüntetve a „tisztázatlan” *Trichormus* fajok között. A *Chrysochlorum* (Zapomelová és mtsai. 2011) nemzetség 15 faja közül 12 *Anabaena* volt korábban, a fennmaradó 3 pedig *Aphanizomenon*. A nemzetség érdekessége, hogy tisztán molekuláris szekvenálás által van elkülönítve.

### 3.7. A polifázikus megközelítés

A polifázikus megközelítés (kombinált módszertani megközelítést, amely a fajok meghatározásánál molekuláris, morfológiai, élettani, citológiai, toxikológiai és ökofiziológiai adatokat is figyelembe vesznek) az egyik legígéretesebb módszer nagy mikrobaközösségek biológiai változatosságának elemzésére (Komárek 2013).

A modern taxonómia célja olyan osztályozási rendszer készítése, amely tükrözi az evolúciós történetet. A cianobaktériumok az eubaktériumokhoz tartoznak, de a citomorfológiájuk, ökofiziológiájuk és a bioszférában betöltött funkciójuk világosan elkülöníti őket minden más eubaktériumtól (Komárek 2006). Alaktanilag olyannyira változatosak, hogy még a molekuláris módszerek alkalmazása előtt is lehetséges volt a gondos, taxonokban gazdag alaktani besorolásuk. Ez pedig hozzájárult ahhoz, hogy megérthessük, mennyire bővelkedik cianobaktériumokban a bioszféra (Barker és mtsai. 1999). Azonban az elektronmikroszkópia, a részletes biokémiai tanulmányok, illetve különösen a molekuláris módszerek elterjedése olyan új strukturális és funkcionális ismereteket nyújtottak, melyek a fénymikroszkóp előtt mindvégig rejtve maradtak (Fletcher és mtsai. 2002). Ennek eredményeként történt meg a már korábban említett 4 nemzetség (*Dolichospermum*, *Trichormus*, *Chrysoosporum*, *Sphaerospermopsis*) *Anabaena* nemzetségből való elkülönítése is.

A cianobaktériumok sokféleségével kapcsolatos új ismereteink szintén megváltoztatták a rendszertani besorolásuk ismérveit, emellett genetikai hasonlóságok és a származástan specifikus, DNS-szekvencia alapú változata is elérhetővé vált (Komárek 2006). A modern



taxonómiának muszáj molekuláris eljárásokon is alapulnia, amelyekhez társulnak ultrastrukturális, alaktani és ökofiziológiai jellemzők (Casamatta és mtsai. 2006).

### **3.8. Általános kihívások az *Anabaena* azonosításában**

A cianobaktériumok osztályozása még mindig a könnyen alkalmazható morfológiai és ökológiai jellemzőkkel történik. Minden egymást követő tudományos korszak egyre jobb módszereket nyújt – főként a molekuláris biológia.

Sajnos, az új, molekuláris adatok nagy mennyiségének ellenére, még mindig sok a téves információ és hiba. Az adatokat online adatbázisban (NCBI, [http:// www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)) gyűjtik össze, amelyek áttekinthetősége nem egyszerű. Gyakoriak a téves azonosítások, a taxonómiai és ökológiai adatok hiányosak. Sokszor még az ismert hibák sem kerülnek kijavításra. A legtöbb esetben, az új információk a rosszak mellé kerülnek, így eredményezve bonyolultabb helyzetet, ami jelentősen megnöveli az elemzések idejét. Ennek ellenére, az online adatbázisok hatalmas mennyiségű kihasználatlan információt kínálnak, de elemzésüket kritikus szemlélettel kell elvégezni (Korelusová 2008).

A morfológusok napjainkban 84 *Anabaena* fajt tartanak nyilván (Komárek és Mares 2011), amelyből 24 tisztázatlan. Ezzel szemben az interneten fellelhető adatbázisok körülbelül 600 *Anabaena* faj létezését közlik. Egészen pontosan az ITIS (Integrált Taxonómiai Információs Rendszer, <http://www.itis.gov/>) 55, az Algaebase (<http://www.algaebase.org/>) 503 az NCBI (Nemzeti Biotechnológiai Információs Központ, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) pedig 559 *Anabaena*

fajról szolgáltat információt. Csupán 101 cianobaktérium taxon 16S rRNS szekvenciáját határozták meg napjainkig. A molekuláris adatok nagyon fontosak taxonómiai és további filogenetikai vizsgálatokhoz. A cianobaktériumokból származó 16S rRNS szekvencia izolálhatóságát sajnos olyan tényezők akadályozzák, mint a cianobaktériumok laboratóriumi környezetben történő tenyésztettségének nehézségei vagy a monotipikus telepek természetben való korlátozott előfordulása. A monotipikus faj azt jelenti, hogy a kiterjedt area (elterjedési terület) ellenére külön alfajai nem ismertek. Ezen tényezők szintén magyarázatot adnak az eddig felfedezett fajok kisszámú szekvenciáira (Korelusová 2008).

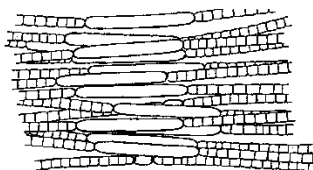
John és mtsai. (2002) alátámasztják, hogy az *Anabaena* taxonok rendszertani besorolása nagy biztonsággal csak akinéták jelenlétében végezhető el. Kulcsjellemzők közé sorolandó az akinéta alakja és mérete, és hogy a kitartósejt a heterocita mellett van-e, illetve ha igen, csak az egyik, vagy mindkét oldalon megtalálható? Megállapításaik szerint a természetből izolált minták nagy valószínűséggel mindig képeznek akinétákat, azonban e képességüket gyakran elvesztik laboratóriumi törzsfenntartásuk során, majdnem biztosan válaszként a genetikai változásokra. Hori és mtsai. (2002) szerint egyes korlátozó tényezők (N-, P-, Fe-hiányos tápközeg) alkalmazása stresszhatást válthat ki és akinétaképzést eredményezhet.

Tapasztalataink alapján a legnagyobb kihívást az jelenti, hogy a vizsgálandó *Anabaena* törzsek nem axénikusak (a kultúrát egy fajta organizmus alkotja /monokultúra/ és mindenféle egyéb szennyező mikroorganizmustól mentes), ami megnehezíti a DNS izolálást és a későbbi filogenetikai elemzést. A probléma elhárítására ritkító szélesztést

alkalmaztam, és a képződő szoliter telepeket vizsgáljuk molekuláris biológiai módszerekkel.

### 3.9. Anabaena-hoz hasonló nemzetségek morfológiai és filogenetikai jellemzői

*Aphanizomenon* nemzetség Komárek (2013) nyomán

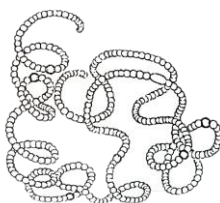


4. Ábra *Aphanizomenon flos-aquae* típusfaj rajza Komárek 1958 nyomán.

**Morfológia:** A fonalak szabadon lebegnek, ritkán magányosak, néha sűrű és szemmel látható kötegeket alkotnak, amelyek többé-kevésbé párhuzamosan helyezkednek el. A sejtek hengeresek, esetenként hordóalakúak, azonos átmérőjük gáz vezikulumokkal. Heterociták fonalon belül helyezkednek el, hengeresek, ritkán oválisak hasonló szélességgel, mint a vegetatív sejtek. Az akinéták szintén fonalon belüliek, hengeresek, a heterocitáktól távol esnek illetve sokkal hosszabbak, mint a vegetatív sejtek, amelyek egyesülésével képződnek. A típusfaj az *Aphanizomenon flos-aquae* (4. Ábra) és a nemzetség jelenleg 8 leírt fajjal rendelkezik, amelyeket a modern taxonómiai vizsgálattal határoztak meg (Rajaniemi és mtsai. 2005a, Komárek és Komárková 2006, Forastiere és mtsai. 2011).

**Filogenetika:** Az *Aphanizomenon* nemzetség közeli kapcsolatban áll más planktonikus, aerotóppal (gáz vezikulumok fénymikroszkóposan látható csoportja) rendelkező heterocitás cianobaktériumokkal, legfőképp a „planktonikus *Anabaena*” fajokkal (= *Dolichospermum*, Willame és mtsai. 2006). Az *Aphanizomenon* nemzetség jelenlegi, átdolgozott formájában (kombinált, polifázikus újraértékelés után) egy genetikailag velős és morfológiailag jól elkülöníthető egységnek tekinthető nemzetség szinten (Komárek 2013).

*Dolichospermum* nemzetség Komárek (2013) nyomán



5. Ábra *Dolichospermum flos-aquae* típusfaj rajza Komárek 1958 nyomán.

**Morfológia:** lebegő, planktonikus, egyenes, vagy csavarszerűen felcsavarodott, burok nélküli fonalak, melyek nem vékonyodnak el az utolsó fonalvégi sejtek irányába. A sejtek gömbölyűek, hordó alakúak, majdnem hordó alakúak, azonos átmérőjűek. Gáz vezikulumokkal rendelkeznek, amelyek aerotópokba tömörülnek, a fonalvégi sejtek hasonlóak a többi sejthez. A heterociták fonalon belül helyezkednek el egymástól egyenlő távolságra. Általában gömbölyűek, néha hordó alakúak. Az akinéták magányosan vagy ritkábban akár öt akinétából álló

sorban helyezkednek el heterociták mellett vagy azoktól kissé távol. Alakjuk szerint lehetnek hengeresek, oválisak, tojásdadok vagy gömbölyűek. A típusfaj (5. Ábra) a *Dolichospermum flos-aquae* (Wacklin és mtsai. 2009). Változatos nemzetség. Még a felülvizsgálat után is 40 morfofajt foglal magába (Willame és mtsai. 2006, Komárek és Zapomelová 2007, 2008; Werner és Laughinghouse 2009).

**Filogenetika:** A planktonikus *Anabaena* klád aerotópokkal a sejtekben és különálló fonalakkal (*Dolichospermum*) genetikailag tisztán elkülönül a tipikus *Anabanea* nemzetségtől, amelynek tagjai szemmel látható telepeket, szőnyegszerű bevonatot képeznek a talajon, aljzaton (Willame és mtsai. 2006). Másfelől ez a planktonikus klád (*Dolichospermum*) kapcsolatba hozható olyan más planktonikus életmódú heterocitás nemzetséggel, mint az *Aphanizomenon* és a *Cuspidothrix*. Azért sorolták külön a planktonikus *Dolichospermum* fajokat, mert a természetben mindig egyértelműen elkülöníthetők az *Aphanizomenon*-szerű fajoktól. A *Dolichospermum* nemzetségen belül akad néhány típus, amelyek olyan mértékben eltérnek a többi fajtól, hogy más nemzetséghez is tartozhatnának (pl.: *D. compactum*). A heterocitákhoz kapcsolódó, gömbölyű akinétákkal bíró fajok (pl.: *D. torques-reginae*) a *Sphaerospermopsis* nemzetséghez lett átsorolva (Zapomelová és mtsai. 2010).

A természetes populációkban különböző morfofajok figyelhetők meg aszerint, hogy egyenes vagy felcsavarodott a fonaluk. Azonban jelenleg ezek a fajok molekuláris módszerekkel (kizárólagosan 16S rRNS) nehezen különíthetők el. A felcsavarodás egy nagyon változékony jellemvonás különösen laboratóriumi tenyészetekben. Úgy tűnik, hogy kis genetikai eltérés van a „kisebb” és a „nagyobb *Dolichospermum*

morfofajok között, így ez a terület még mindig nyitva áll a jövőbeni kutatási projektek előtt (Willame és mtsai. 2006, Komárek és Zapomelová 2007, 2008; Werner és Laughinghouse 2009, Komárek 2013).

*Sphaerospermopsis* nemzetség Komárek (2013) nyomán



6. Ábra *Sphaerospermopsis reinformis* típusfaj rajza Komárek 2013 nyomán.

**Morfológia:** A fonalak különböző hosszúságúak, planktonikusak, felcsavarodottak vagy egyenesek. A fonalvégi sejtek enyhén megnyúltak, kúp alakúak. A vegetatív sejtek gömbölyűek, hordó alakúak vagy hengerek aerotópokkal. A hosszuk változó, de a szélességük 4-8  $\mu\text{m}$  között van. A heterociták csak fonalköziek, magányosak és többé-kevésbé gömbölyűek. Az akinéták mindig gömbölyűek vagy oválisak és a heterocita mindkét oldalán képződhetnek, 9-11  $\mu\text{m}$  átmérőjűek. A típusfaj a *Sphaerospermopsis reinformis* (6. Ábra). A nemzetség négy fajt foglal magában (Zapomelová és mtsai. 2010, Werner és mtsai. 2012, Tuji és Niiyma 2012).

**Filogenetika:** A nemzetség összes faja egy, a *Dolichospermum* nemzetséghez közel álló kládba tartozik, az elkülönítésük 16S rRNS és ITS szekvenciák elemzése után történt (Zapomelová és mtsai. 2010, Werner és mtsai. 2012).

*Trichormus* nemzetség Komárek (2013) nyomán

7. Ábra *Trichormus variabilis* típusfaj rajza Komárek 1958 nyomán.

**Morfológia:** A fonalak általában nyálkás szőnyeget képeznek az aljzaton. A fonalak végződése azonos, egysoros elrendezésűek, nem elágazók, néha a végek felé keskenyednek. Heterocitáik sejtközi és szabályos elrendezésűek. A vegetatív sejtek hordó, néha gömb alakúak, gázvezikulumaik nincsenek, a citoplazmában általában szemcsék figyelhetők meg, amelyek főként kékeszöldek vagy halványzöldek. A gömbölyű, ovális vagy hengeres heterociták magányosan és fonal közbülső részein helyezkednek el. Az akinéták oválisak vagy ellipszoid alakúak és a heterociták között sorozatban vannak. Méretüket illetően majdnem háromszor akkora, mint a vegetatív sejtek. A típusfaj a *Trichormus variabilis* (7. Ábra). Az újraellenőrzött nemzetség majd 40 morfofajt tartalmaz, de valószínűleg még számos klád lesz elkülönítve a kombinált molekuláris és alaktani vizsgálatoknak köszönhetően (Kastovsky és Johansen 2008, Papaefthimiou és mtsai 2008).

**Filogenetika:** A *Trichormus* nemzetség fajai eredetileg *Anabaena* néven voltak leírva. Mindkét nemzetségnek hasonló az alaktana, de az akinétaképzésük stratégiája teljesen eltér és a *Trichormus* esetében az a *Nostoc* nemzetségéhez hasonlít. A molekuláris elemzések (kiváltképp a 16S rRNS-re támaszkodva) alátámasztották a különbözőségét az *Anabaena* nemzetségtől és a kapcsolatát a *Nostoc* és *Dolichospermum*

nemzetségekkel (különösen a *T. variabilis* fajét). A PCC 7120 nevű, alaposan tanulmányozott törzs a *T. variabilis* és *T. azollae* fajokkal esik egy kládba, így minden bizonnyal ehhez a nemzetséghez tartozik (Reháková és mtsai. 2007). Azonban, úgy tűnik, hogy a *Trichormus* egy heterogén nemzetség és kiterjedtebb taxonómiai osztályozására van szükség különböző *Trichormus* és a szintén heterogén *Nostoc* nemzetség fajai közül (Komárek 2013).

*Nostoc* nemzetség Komárek (2013) nyomán



8. Ábra *Nostoc commune* típusfaj rajza Komárek 2013 nyomán.

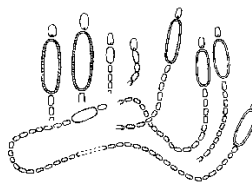
**Morfológia:** A fonalak nem elágazók, tömörödtek és kuszák, általában makroszkópikusak, zselés állagú kolóniákba rendeződve alkotnak szőnyeget. Sok fajnak bonyolult és különleges életciklusa van, amely során a fonalak elrendeződése és a telepek alakja változik. A vegetatív sejtek alakja a hordó alaktól a hengerig változik, a fonalvégi sejtek nem elkülönültek, legtöbbször gömb alakúak. A gömb vagy ovális alakú heterociták magányosak, ritkán néhány egymás mellett van, fonalköziek és fonalvégiek is lehetnek. Az akinéták a heterociták között helyezkednek el sorban, néha a fonal összes sejtje akinétává alakul, amelyek kétszer nagyobbak, mint a vegetatív sejtek. Alakjukat tekintve általában oválisak, ellipszoidok, ritkábban gömbölyűek. A típusfaj a



*Nostoc commune* (8. Ábra). Majdnem 300 faj tartozik ehhez a heterogén nemzetséghez, így várható annak további tagolása számos genetikailag meghatározott kládra (Becerra-Absalon és Tavera 2009, Genuario és mtsai. 2015, Ramírez és mtsai. 2011).

**Filogenetika:** Számos gyűjtemény *Nostoc* törzseinek molekuláris elemzése és az újonnan izolált populációk pontos leírása után a *Nostoc* nemzetség heterogénnek bizonyult (Lyra és mtsai. 2005, Hrouzek és mtsai. 2015, Rajaniemi és mtsai. 2005b). A *Nostoc* nemzetségből már elkülönítették a *Mojavia* nemzetséget és a nemzetség további felosztása várható a kombinált molekuláris, morfológiai és ökológiai eredmények figyelembevételével (pl.: *Desmonostoc*, *Endonostoc*). Az egész csoportra jellemző, hogy apoheterocitás, aerotóppal nem rendelkezik, így a *Nostocaceae* családon belül nyilvánvalóan monofiletikus, azonban a nemzetségen belüli sokszínűsége jelentős és különböző kládok meghatározása indokolt (Komárek 2013).

*Cylindrospermum* nemzetség Komárek (2013) nyomán

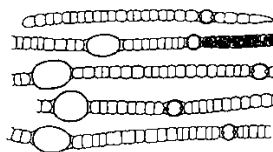


9. Ábra *Cylindrospermum stagnale* típusfaj rajza Starmach 1966 nyomán.

**Morfológia:** A nemzetség amorf, nyálkás általában sötét, kékeszöld telepeket alkot. A fonalak szabálytalanul helyezkednek el, sosem elágazók, a végeken gömbölyű sejtekkel, amelyekből heterociták fejlődnek mindkét végen. A vegetatív sejtek általában gömbölyűek, ritkábban hordó alakúak, átmérőjük azonos. A heterociták kizárólag fonalvégiek, magányosak, nagyon ritkán párban állnak. Az akinéták mindig a heterocitákhoz kötődve képződnek, általában magányosan, ritkábban 3 akinétából álló sorban a fonal végén. Jelentősen nagyobbak, mint a vegetatív sejtek, amelyeknek néha az egyesüléséből alakulnak ki. A típusfaj a *Cylindrospermum stagnale* (9. Ábra). A nemzetségnek körülbelül 40 felismerhető faja van (Komárek 2013).

**Filogenetika:** A 16S rRNS gén vizsgálata alapján a *Cylindrospermum* egy tisztán elkülönült kládot alkot. Leginkább az *Anabaena*, *Nostoc* és *Cronbergia* nemzetségekhez kapcsolódik (Komárek 2013).

*Chrysoosporum* nemzetség Komárek (2013) nyomán



10. Ábra *Chrysoosporum bergii* típusfaj rajza Hindák 2000 nyomán.

**Morfológia:** A fonalak szabadon lebegők, egyenesek vagy enyhén görbék korlátozott számú heterocitával, burok nélkül szinte mindig elvékonyodó fonalvégi sejtekkel. A vegetatív sejtek általában hordó alakúak, azonos átmérőjűek vagy kissé hosszúkásak, aerotópokkal. A heterociták csak fonalköziek, általában magányosak, többé-kevésbé gömbölyűek, oválisak vagy hordó alakúak. Szélességük ugyanakkora, mint a vegetatív sejteké, vagy szélesebbek. Az akinéták fonalön belüliek, hengeresek vagy oválisak, néha még egyazon fajon belül is eltérhetnek. Elhelyezkedésük heterocita melletti, magányosan vagy párban. A típusfaj a *Chrysoosporum bergii* (10. Ábra). A nemzetséghez 3 faj tartozik, amelyek molekuláris vizsgálattal alátámasztottak. Vélhetően további faj kerül majd besorolásra a nemzetséghez, köszönhetően a morfológiai hasonlóságoknak (Cronberg és Komárek 2004, Zapomelová és mtsai. 2012).

**Filogenetika:** A *Chrysoosporum* nemzetség egyértelműen elkülöníthető molekuláris vizsgálatokkal. Ehhez a csoporthoz tartoznak olyan *Anabaena*- és *Aphanizomenon*-szerű fajok, amelyek többnyire az egyenes fonalaik és elkeskenyedő fonalvégi sejtekkel bírnak. Ez a klád leginkább a *Nodularia*, *Anabaenopsis* és *Cyanospira* nemzetségekhez áll közel (Kastovsky és Johansen 2008, Yilmaz és mtsai 2008).

*Wolleea* nemzetség Komárek (2013) nyomán

11. Ábra *Wolleea. saccata* típusfaj rajza Kozhevnikov és Kozhevnikova  
2011 nyomán.

**Morfológia:** A fonalak nyálkás, zárt kolóniákat alkotnak, amelynek zacskó vagy cső alakja lehet makroszkópikus méretben. A vegetatív sejtek hordó vagy henger alakúak, amelyeknek soha sincs aerotópja. A heterociták fonalon belül, magányosan helyezkednek el. Az akinéták szintén a fonalon belül vannak, paraheterocitáson a heterocita mindkét oldalán, magányosak vagy néhány akinétából álló sort alkotnak. A típusfaj a *Wolleea. saccata* (11. Ábra). A nemzetséghez 6-8 leírt faj tartozik (Kozhevnikov és Kozhevnikova 2011, Chatchawan és mtsai. 2011).

**Filogenetika:** A *Wolleea* nemzetség filogenetikai elhelyezkedése nem ismert még teljes egészében. Életvitelét illetően (makroszkópiusan) a *Nostoc* nemzetséghez hasonlít, de az akinétáinak elhelyezkedése paraheterocitás, ami a legfőbb biológiai különbség közte és a *Nostoc* nemzetség között. A különleges telepmorfológiája és a fonalak elhelyezkedése a burokból jelzi az elszigetelt álláspontját a *Nostocaceae* rendszerében, de a molekuláris vizsgálatok közel helyezik az *Anabaena* nemzetséghez. A fonalak alaktani hasonlósága az *Aulosira* és

*Hydrocoryne* nemzetségekkel szintén említésre méltó (Kozhevnikov és Kozhevnikova 2011, Chatchawan és mtsai. 2011).

*Desmonostoc* nemzetség Komárek (2013) nyomán



12. Ábra *Desmonostoc muscorum* típusfaj rajza Komárek 1958 nyomán.

**Morfológia:** A fonalak hosszúak és kör alakú vagy alaktalan makroszkópikus kolóniákba (2 cm átmérőig) tömörülnek. Természetes körülmények között a telepek színe halvány vagy sötétzöld, barna is lehet. A nyálkás anyaga a kolónián belül szétszórt, míg a felszínén erőteljes. Csak egy fonal sosem alkot makrokolóniát. A vegetatív sejtek hordó alakúak vagy oválisak és szélesek. A heterociták oválisak és lehetnek fonalvégiek vagy a fonalon belül elhelyezkedők is. Az akinéták gyakran jelen vannak, elliptikusak, szemcséik jól kivehetők, hosszuk a 10  $\mu\text{m}$ -t is elérhetik, és több mint 10 akinétából álló láncolatot is létrehozhatnak. A típusfaj a *Desmonostoc muscorum* (12. Ábra), amely korábban *Nostoc* volt (Hrouzek és mtsai. 2003, 2015, Reháková és mtsai. 2007, Papaefthimiou és mtsai. 2008).

**Filogenetika:** A *Desmonostoc* nemzetség a *Nostoc* testvércsoportjának tekinthető. Ezt a filogenetikai elhelyezkedést számos szerző alátámasztotta és ellentmondásmentes a törzsek alakjánál

(Hrouzek és mtsai. 2003, 2015, Reháková és mtsai. 2007, Papaefthimiou és mtsai. 2008).

### 3.10. Mikroalgák bioaktív vegyületei

Az algasejtek életciklusuk folyamán különböző vegyületeket termelnek, amelyek egy része extracelluláris (sejten kívüli) terméként jelenik meg és hat a környezetre. A mikroalgákban és cianobaktériumokban kimutatható anyagcsere termékek számos közismert algatermék alkotó elemei (Stirk és mtsai. 2014). Az algák a szaporodás stacioner szakaszában bioaktív, úgynevezett másodlagos anyagcsere termékeket is termelnek. A másodlagos anyagcsere termékek a környezettel való kapcsolattartást segítik elő és allelopatikus hatásuk (azonos környezetben élő növények kölcsönhatása egymásra) is bizonyított (Leflaive és mtsai. 2007). Közéjük tartoznak egyebek között a szerves savak, szénhidrátok, aminosavak és peptidek, vitaminok, növekedést szabályozó anyagok, antibiotikumok, enzimek és mérgező vegyületek. Eddigi ismereteink szerint a cianobaktériumok több mint 800 másodlagos anyagcsere terméke számos csoportra osztható, pl. enzimgátlók, fotoszintézist gátlók, antimikrobiális anyagok (Yadav és mtsai. 2011). A kutatások leginkább gyógyszeripari céllal folynak, aminek főleg gazdasági oka van. Az utóbbi évtizedben azonban a szintetikus peszticidek elfogadottságának a csökkenése lendületet adott a természetes eredetű anyagok kutatásának, amit az Európai Unió is támogat (Ördög 2015).

A cianobaktériumok biológiailag aktív, másodlagos anyagcsere termékekben leggazdagabb rendjei az *Oscillatoriales* és a *Nostocales*, amelyek között fungicidek is megtalálhatók (Burja és mtsai. 2001). Moore

és mtsai. (1988) cianobaktériumok nyers kivonatainak 9%-ában találtak gombák elleni hatást. Az MACC gyűjtemény törzsein is végeztek fungicidek kimutatására irányuló kutatásokat. Ennek eredményeként azonosítottak 19 fungicid hatású mikroalgát. A gyűjteményt alkotó cianobaktériumok 20, az eukarióta algák 5%-a mutatott fungicid hatást. Ilyen hatást mutatott a talajból származó cianobaktériumok 15%-a, a vízből származók 28%-a, továbbá az eukarióta talajalgák 3,6%-a és a vízből izolált eukarióta algák 7,6%-a. Az értekezésemben vizsgált MACC törzsek közül a korábbi vizsgálatok (Ördög 2015) az MACC 304 esetében bizonyították, hogy az fungicid hatással bír.

A kiválasztott kórokozókat agar géldiffúziós módszerrel vizsgálták, amihez a fagyasztva szárított mikroalgák (cianobaktérium és eukarióta alga) biomasszájának vizes szuszpenzióját (100 mg/mL) ultrahanggal történt kezelés után hígították (10 mg/mL) és használták fel. A vizsgált növénypatogén gombák a következők voltak: *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phaeoramularia*, *Botrytis*, *Sclerotinia*, *Plasmopara*, és *Phytophthora*. A kilenc növénypatogén közül legalább egy patogénre ható algatörzsek számát összehasonlítva a vizsgált törzsek számával megállapítható, hogy több cianobaktérium gátolta a micélium növekedést, mint eukarióta alga. A vizsgált 34 cianobaktérium törzsből 7 mutatott fungicid hatást, míg a 246 vizsgált eukarióta törzsből 12 (Ördög V. 2015).

A mikroalgák íz- és szaganyagai, illékony szerves vegyületei (AVOC) az emberre nem veszélyesek. Az AVOC többsége másodlagos anyagcsere termék vagy a sejtek bomlása során keletkező melléktermék, ami arra utal, hogy ezek a vegyületek, vagy prekursoraik (olyan vegyületek, amelyből biokémiai folyamatok során jelentős szerepű

végtermék alakul ki) aktívan részt vesznek a fajon belüli, vagy fajok közötti kémiai jelátvitelben (Codd 1995, Carmichael 1997). Az illékony szerves vegyületek funkciói a patogén mikroorganizmusok elleni védekezés (Croft és mtsai. 1993), allelopatikus hatás a versenytársakkal szemben, illetve a fajon belüli feromon szerep (Watson 2003). Az MACC-n végzett AVOC kimutatására irányuló vizsgálatok eredményei bizonyították, hogy a cianobaktériumok szaganyagai alkalmasak a káposzta gyökérlégy tojásrakásának a befolyásolására. A vizsgált törzsek mintegy harmada repellens (rovarriasztó) hatású volt a káposzta gyökérlégy tojásrakására. A 20 repellens cianobaktérium törzs közül 14 érzékelhető szaganyagot termelt, amelyet gázkromatográfiásan azonosítani tudtak (Ördög 2015). Az értekezésemben vizsgált MACC törzsek közül a korábbi vizsgálatok (Ördög 2015) az MACC 146 esetében bizonyították, hogy az közepesen repellens hatással bír, míg az MACC 57 és 797 tojásrakást csökkentő hatásúak.

Az említett fungicid és AVOC anyagok kutatásán kívül a Széchenyi István Egyetem Növénytudományi Tanszékén folyamatosan zajlanak cianobaktérium szuszpenziók biostimuláns hatásait vizsgáló kutatások. Ezek olyan kultúrnövényekre irányulnak, mint a dohány (Milkovics és mtsai. 2012), bazsalikom, kakukkfű, majoranna, oregánó (Katona és mtsai. 2013), őszi káposztarepce (Tóth és mtsai. 2016), napraforgó (Póthe és mtsai. 2018), tavaszi árpa (Schmidthoffer és mtsai. 2018), őszi búza (Takács és mtsai. 2019), áfonya, egres és ribizli (Tóth és mtsai. 2019). Eredményeik szerint az alkalmazott cianobaktérium szuszpenziók kivétel nélkül előnyösen hatottak a vizsgált növényekre, jövőbeni felhasználásuk biztató.



## 4. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 4.1. A törzsek szaporítása

A törzstenyészeteket az izoláláshoz használt tápoldatban vagy leginkább táptalajon tartják fenn a Széchenyi István Egyetem Növénytudományi Tanszékén a következő eljárás szerint:

A tápközegből 70 cm<sup>3</sup>-t töltenek 100 cm<sup>3</sup>-es Erlenmeyer lombikba, amit alumínium fóliával lefedve autoklávban sterilizálnak. A gézzel körütekert vattadugókat alufóliába tekerve hőlégmentesítik. Az algatörzset tartalmazó oltókaccsal az agart három helyen megsűrjék, ami az agar felszínén három algatelep kialakulását eredményezi, majd vattadugóval lezárják. Az így elkészült friss törzstenyészetek vattadugóját zsírpapírral lefedik, amit gumikarikával rögzítenek. A tenyészeteket a laboratóriumi tenyésztés körülményei között mintegy 10 napig inkubálják, majd törzstenyésztő szobában tartják fenn. A törzstenyésztő szoba hőmérséklete 15±2 °C, a megvilágítás napi 12 óra, a fényintenzitás 25-50 μmol foton m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>. Agarral szilárdított táptalajon a tenyészetek ilyen körülmények között egy évig fenntarthatók, de a tápoldatos törzstenyészeteket 3-4 havonta át kell oltani (13. Ábra). A törzstenyészetek állapotát legalább hetente kétszer ellenőrzik és szokatlan kinézet, szín esetén vizsgálják, tisztítják, vagy átoltják (Ördög 2015).



13. Ábra Törzstenyészetek fenntartása agarral szilárdított táptalajon a Mosonmagyaróvári Algagyűjteményben.

82 törzset választottam ki a Széchenyi István Egyetem Mosonmagyaróvári Algagyűjteményéből (MACC). A molekuláris biológiai módszerek alkalmazását egy TÁMOP projekt pénzügyi támogatásának köszönhetően 2013-ban kezdhettük meg. Az új módszerek alkalmazásától a mikroalga biotechnológiában három területen vártunk eredményt:

- az MACC törzseinek pontos taxonómiai meghatározása a hagyományos morfológiai alapon történő meghatározás kiegészítésére,
- az MACC törzseinek a filogenetikai fái alapján a növénypatogénekre hatásos törzsekhez közel álló törzsek kiválasztása annak reményében, hogy szintén hatásosak lesznek,
- értékes anyagokat termelő mikroalga törzsek kiválasztása az értékes anyagok termeléséhez szükséges enzim(ek) termeléséért felelős gének jelenlétének a molekuláris biológiai módszerrel történő kimutatásával.

A fentiek fényében került kiválasztásra az MACC-ből az *Anabaena* nemzetség. 60 törzs Szerbiából (Újvidéki Egyetem – Novi Sad), 12 törzs Magyarországról (Lepossa 2003), 3 törzs Oroszországból (IPPAS), 2 törzs Angliából (CCAP), 2 törzs Csehországból (CCALA), 2 törzs Ukrajnából és egy törzs Braziliából származott. A törzstenyészetekből 500 mL-es Erlenmeyer-lombikokban lévő 250 ml módosított Zehnder-8 tápközegbe oltottam (Staub 1961, Kotai 1972, Niva 1976 - a Mellékletekben megtalálható a tápoldat összetétele) és azokat 24-26 °C-os hőmérsékleten  $130 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fényintenzitás mellett, hideg fehér fényenél (14 h / 10 h világos / sötét ciklus) tenyésztetem. A tenyészeteket  $20 \text{ L h}^{-1}$  (= 1,33 L levegő  $\text{L}^{-1}$  tápközeg percenként) steril, párasított levegővel buborékoltattam át, amit a fényszakaszban 1,5% szén-dioxiddal dúsítottam (14. Ábra). A buborékoltásra használt levegőt steril egyedi vattaszűrőn át juttattam be a tenyészetekbe. A kiülepedés megakadályozására a tenyészeteket naponta kétszer manuálisan is felkevertem (Ördög 1982).



14. Ábra Mikroalga tenyésztő laboratórium az MACC törzsek szaporítására.

## 4.2. Alaktan

A törzsek kezdeti alaktani elemzését az izolálás idején végezték el; az akkori rendszertani megnevezés azonban nem felel meg a jelenlegi cianobakteriális rendszertannak és / vagy nevezéktannak. A törzsek alaktánát egy Olympus BX60 mikroszkóppal vizsgáltam. A mikroalgák rendszertanának nincs általánosan elfogadott változata, ezért az MACC törzseinek a rendszertani besorolásánál az interneten megtalálható és folyamatosan frissített AlgaeBase ([www.algaebase.org](http://www.algaebase.org)) adatbázist használtam. Törzsenként legalább 30 fonalat örökítettem meg digitális fényképezőgéppel (Olympus DP 70, nagyítás 400x). A vegetatív sejtek és a heterociták méreteit képalkotó szoftver segítségével (Olympus DP Soft 3.2) mértem. A legtöbb törzset az 1990-es évek vége óta tenyésztették, ami alaktani plaszticitást eredményezhetett, ez valószínűleg gátolta az akinétaképzésüket és következésképpen azok azonosítását. A fotók kontrasztját az Adobe Lightroom szoftverrel fokoztam, míg a képösszeállításokat a Fotor 2.0.3 programmal készítettem.

A törzsek alaktani összehasonlítását hét paraméter alapján végeztem el: 1. vegetatív sejt szélesség, 2. vegetatív sejt hosszúság, 3. heterocita szélesség, 4. heterocita hosszúság, 5. vegetatív sejt alakja, 6. heterocita alakja, 7. heterocita elhelyezkedése a fonalon belül. Ezek értelemszerűen nem helyettesíthetik a cianobaktérium taxonómiában diakritikusnak (megkülönböztetőnek) minősített akinéták jelenlétét, fonalon belüli elhelyezkedését, mintázatát, azonban remek kiindulópontot jelentenek a törzsek behatárolására.

### 4.3. DNS kivonás, PCR, szekvencia analízis

A DNS elemzéshez 82 MACC törzs részleges 16S rRNS szekvenciáit használtam. A szekvenálást és azok adatainak értékelését Dr. Maróti Gergely és munkatársai végezték (Seqomics Kft., Mórahalom). Kísérleteimet egy TÁMOP projekt (TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0003: „Mikroalga biotechnológia a fenntartható mezőgazdaságban”) keretében és pénzügyi támogatásával végeztem. A teljes genomi DNS-t a GeneJET genomi DNS tisztító készlet (Thermo Fisher Scientific) alkalmazásával vontam ki.

A részleges 16S rRNS gént a 8F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) és az S8 (TCTACGCATTTACCGCTAC) (Ezhilarasi és Anand 2009) primerek alkalmazásával amplifikáltam. A PCR keverék 10 µl Phusion Flash High-Fidelity PCR Master Mix-et (Thermo Fisher Scientific), 7 µl dH<sub>2</sub>O-t, 1 µl-t minden primerből és 1 µl tisztított DNS-t (50-100 ng) tartalmazott. A kezdeti denaturáció 98 °C volt 30 másodpercig tartott, majd 98 °C-on 10 másodpercig a PCR készülék újból denaturálta a mintát, ezután 58 °C-on 20 másodpercig temperálta. A meghosszabbítás 72 °C-on 30 másodpercig tartott. A végső meghosszabbítást a készülék 72 °C-on 1 percig végezte és ez 40-szer ismétlődött. A PCR reakcióoldat végső térfogata 20 µL, amely primerenként 0,5 µmol végkoncentrációt tartalmazott. A PCR termék hossza 510-660 bázispár között változott. A DNS-amplifikáció után a termékeket 1,5% -os agaróz gélen futtattam. A PCR termékeket a GeneJET gélextraháló készlet (Thermo Fisher Scientific) segítségével tisztítottam. A PCR-termék tisztaságát a Nanodrop<sup>TM</sup> 260/280 nm-en

vizsgáltam. A szekvenáláshoz a LifeTech 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) kapilláris szekvenálót használtam.

A 8F forward primer kapcsolódási pozíciója 8-27, míg az S8 reverse primer kapcsolódási pozíciója 649-630. A primerek kapcsolódási pozíciójának megállapítása az *Anabaena sp.* PCC 7120 törzs 16S rRNS szekvenciája alapján (BA000019.2; Kaneko és mtsai. 2001) történt. A szekvenciáknak csak minimális, néhány bázispáros, minőségileg nem megfelelő eleje került törlésre a quality trimmelés részeként. Mivel méretükből adódóan az MACC szekvenciák nem nyúltak túl a hosszabb referenciaszekvenciákon, így ilyen okból nem kellett vágni belőlük. Az NCBI adatbázisába történő felhasználáshoz vágott szekvenciák kerültek feltöltésre. A szekvenálás során kapott szekvenciákat az NCBI GenBank adatbázisában lévő szekvenciákhoz illesztettük, hogy megtaláljuk, az adatbázis mely szekvenciáival mutatják a legnagyobb hasonlóságot. A keresést a nukleotid adatbázisban (Nucleotide collection database, nr/nt) Standard Nucleotide BLAST (Altschul és mtsai. 1997) programmal, megablast (highly similar sequences) algoritmussal végeztük az alapbeállítás mellett.

A *Nostocaceae* törzsek (*Anabaena*, *Cylindrospermopsis*, *Desmonostoc*, *Nostoc*, *Roholtiella*, *Trichormus* és *Wollea*) referenciaszekvenciáit a GenBank-ból (Altschul és mtsai. 1997) töltöttem le és a *Chroococidiopsis thermalis* PCC 7203-at, mint nem heterocitás szereplőt, külső csoportként szintén hozzáadtam az adathalmazhoz. A fa referenciatörzseinek kiválasztásakor figyelembe vett szakirodalom is ezt a törzset használta a leggyakrabban a filogenetikai fák gyökereként (Rajaniemi és mtsai. 2005a, 2005b; Papaefthimiou és mtsai. 2008). Ennek az oka, hogy a *Chroococidiopsis thermalis* faj nem képez heterocitákat és

nem fonalas felépítésű, tehát alkalmas arra, hogy elkülönült gyökeret adjon az általam készített filogenetikai fának, amin heterocitás és fonalas nemzetségek vannak.

A teljes mátrix 147 szekvenciát tartalmazott. A szekvenciákat a MUSCLE algoritmus (Castresana 2000, Edgar 2004) segítségével a MEGA 7 programmal (Kumar és mtsai. 2015) illeszttem össze. A jModelTest 2 módszert alkalmaztam, hogy szubsztitúció modelleket határozhassak meg a nukleotid evolúció bemutatására. A TIM2+G+I modellt a legjobb illeszkedés elérése miatt alkalmaztam (1000 bootstrap iteráció). A szekvenciák közötti filogenetikai összefüggéseket a Geneious 10.2.3 (Kearse és mtsai. 2012) program segítségével számoltam ki. A Maximum Likelihood (ML) elemzést az RAxML (Stamatakis 2014) program segítségével végeztem. A Bayes-analízis során négy Markov-láncot futtattam le kétszer a MrBayes v. 3.1.2 program (Huelsenbeck és Ronquist 2001, Ronquist és Huelsenbeck 2003) alkalmazásával  $2,5 \times 10^7$  generációra alapértelmezett paraméterekkel, minden 100 generációnkénti mintavételezéssel (a végső átlag szórása az osztott frekvenciáknak alacsonyabb volt, mint 0,01). A mintavételezett fák első 25%-át eltávolítottam, a fennmaradó részeket az ágak poszterior valószínűségeinek kiszámításához használtam fel (Hrouzek és mtsai. 2013).

A végső filogenetikai fát a Bayes-féle következtetést (helyzetgeometria, modernebb nevén: topológia) alkalmazva a MrBayes 3.1.2 programmal és a maximális likelihood elemzést használva a RAxML 7.3.2-ben hoztam létre. Az értékek a Bayes-féle fordított irányú, utólagos valószínűséget (posterior probability) és a legnagyobb valószínűséget (maximum likelihood) mutatják meg (BI/ML). A filogenetikai fákat az

Adobe Illustrator CC Version 2014.01 verziójával rajzoltam és szerkesztettem. A 16S rRNS-gén részleges szekvenciáit összehasonlító MACC-törzsek hasonlósági mátrixát (százalékban) a Geneious 10.2.3-ban (10. Táblázat) számítottam ki, míg a p-távolságokat a MEGA 7-tel (11. Táblázat). Az értekezés terjedelembeli kereteire való tekintettel az egyes klaszterek közül csak néhány képviselőt mutattam be a 10. és a 11. Táblázatban.

#### 4.4. Akinéta képzés előidézése

*Foszfor- és vashiányos tápoldat előállítás:* A törzstenyészetekből 500 mL-es Erlenmeyer-lombikokban lévő 250 ml módosított Zehnder-8 tápközegbe oltottam (Staub 1961, Kotai 1972, Niva 1976), amelynek a 2. törzsoldatából a 9,3 g  $K_2HPO_4$  alkotót kicseréltem  $KNO_3$ -ra. Az 1,3515 g  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  helyett pedig Mili-Q<sup>®</sup> vizet mértem be a tápközegbe. A törzseket  $25 \pm 2$  °C-os hőmérsékleten  $130 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  fényintenzitás mellett, hideg fehér fénynél (14 h / 10 h világos / sötét ciklus) tenyésztettem. A tenyészeteket  $20 \text{ L h}^{-1}$  (=  $1,33 \text{ L levegő L}^{-1}$  tápközeg percenként) steril, párasított levegővel buborékoltattam át, amit a fényszakaszban 1,5% szén-dioxiddal dúsítottam (Ördög 1982).

*Alacsonyabb hőmérséklet:* A fent említett hiányos tápoldatból agarral szilárdított (1,5%) táptalajt készítettünk és töltöttünk Petri-csészékbe. A dúsító tenyészetből a mikroalga szuszpenziót  $10^5$ – $10^7$ -szeresére hígítottam tápoldattal. A hígított szuszpenziót a Petri csészében lévő szilárd táptalaj felszínén szélesztettem. A mintákat hűtőben tároltam  $10$  °C-on. A képződött akinétákat Olympus BX60 mikroszkóppal vizsgáltam, a sejtszámot Bürker kamrában határoztam meg a tenyésztés

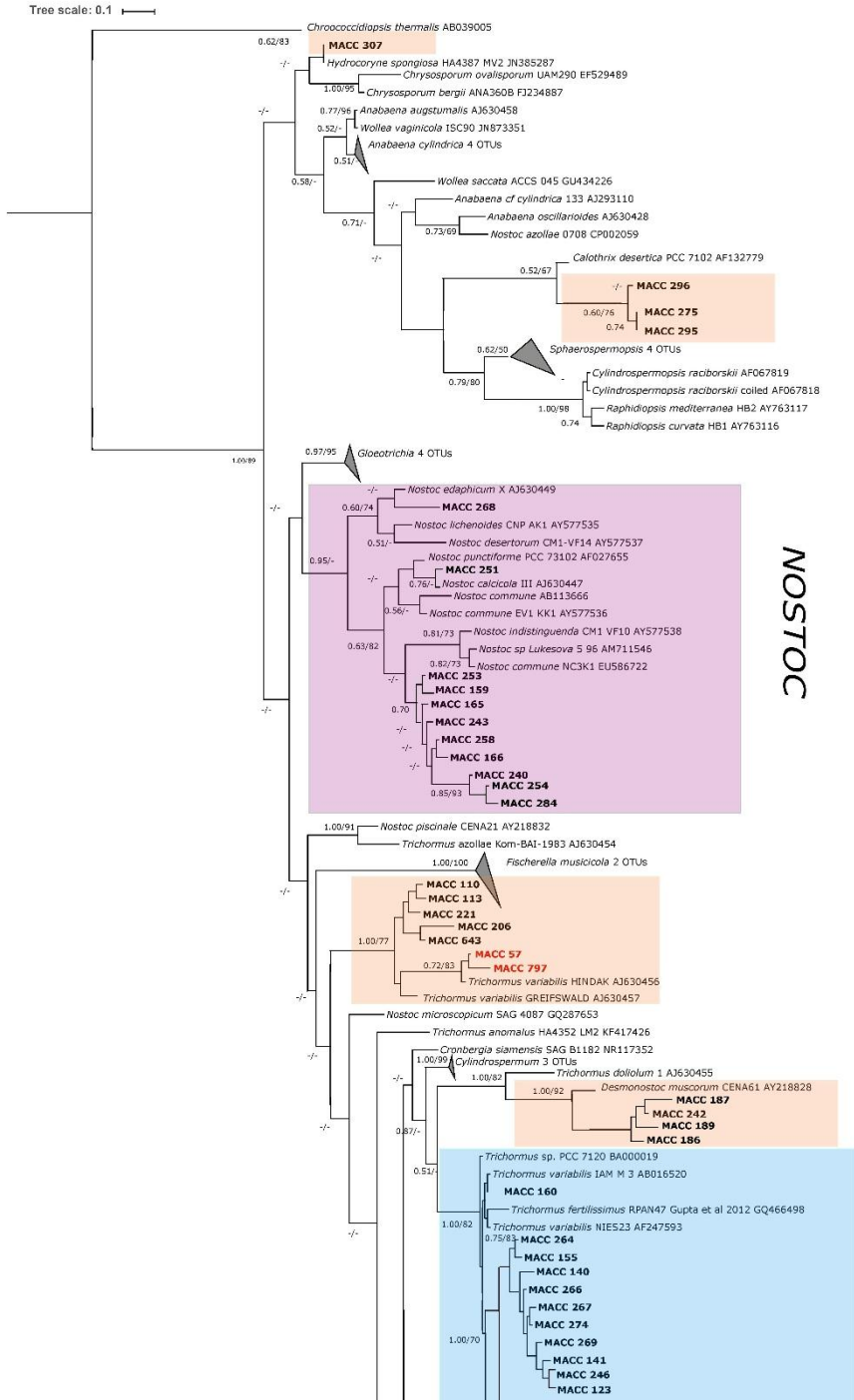


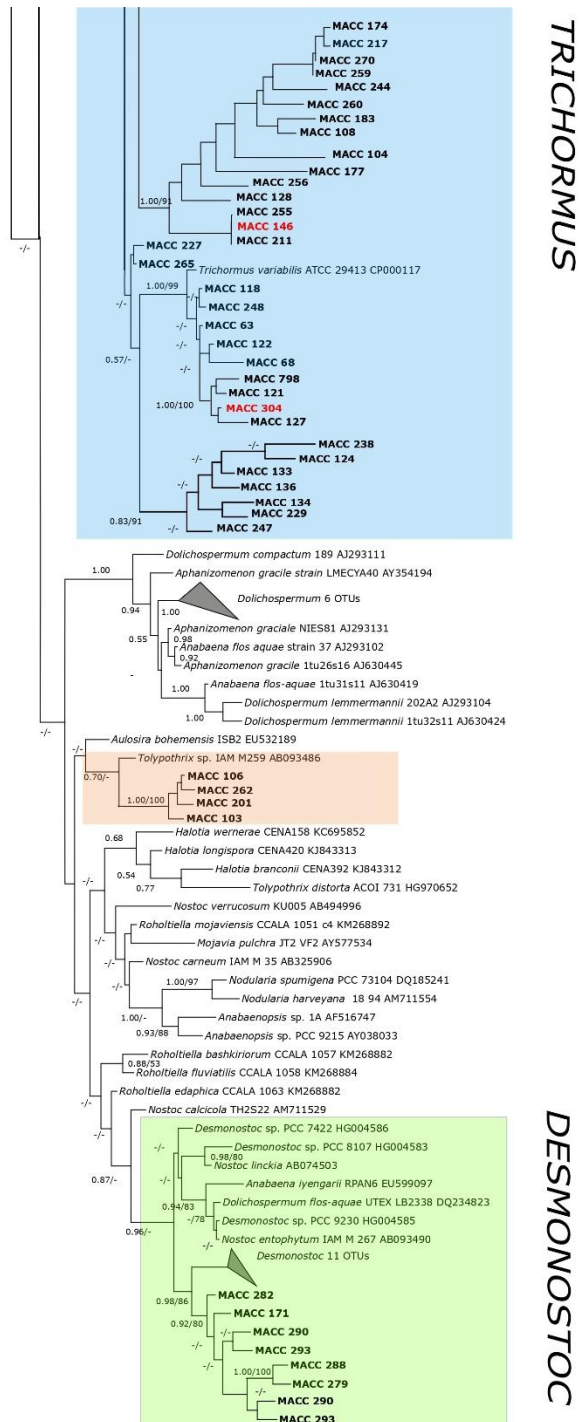
10., 20. és 30. napján. A kísérletet minden törzs esetében három ismétlésben végeztem el.

## 5. EREDMÉNYEK

A filogenetikai fát alkotó részleges 16S szekvenciák összesen 147 OTU-ból álltak és ~ 650 bp (bázispár) hosszúságúak voltak. Az OTU vagy Operational Taxonomic Unit, adja a kladogram/fa-gráf 'levelét' vagyis egy tanulmányozott taxont jelent. Három, filogenetikai elemzéssel jól alátámasztott kládot alakítottam ki a *Nostocales* renden belül (15. Ábra), amelyekből kettő monofiletikus volt. A 82 MACC törzsből 19 törzs - csoport tagjait pasztell barack színnel különítettem el a fán - a három nagy csoporthoz képest kisebb bootstrap értékkel rendelkeztek.

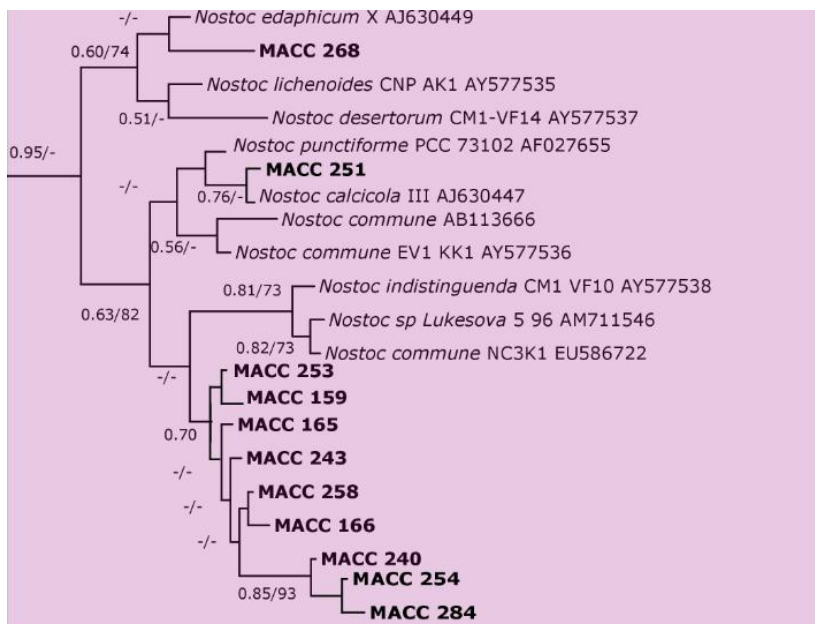
A 82 vizsgált törzset 147, a szakirodalomban már korábban vizsgált törzs segítségével helyeztem el a cianobaktériumok fáján (15. Ábra). Az értékeket a csomópontok mellett tüntettem fel. A bootstrap és a valószínűség küszöbértékei 50, illetve 0,5. A *Chroococcidiopsis thermalis* fajt alkalmaztam külső csoportként. A skála (a fa bal felső sarkában: „Tree scale”) 0,1 szubsztitúció/nukleotid pozíciót jelent. Az MACC törzsek kódjait félkövérrel emeltem ki, piros színnel pedig a tanszéken korábban már vizsgált, bizonyítottan értékes törzseket jelöltem. Értekezésemben az értékes szó azt jelenti, hogy másodlagos anyagcsere terméket állítanak elő, és növényi gombabetegségek ellen fungicid hatású cianobaktérium törzseknek bizonyulnak vagy rovarrepellens hatásúak (Ördög 2015).





15. Ábra A részleges 16S rRNS génszakasz filogenetikai elemzése.

## 5.1. Nostoc csoport:



16. Ábra A *Nostoc* filogenetikai csoport  
11 MACC törzssel

A *Nostoc* nemzetség monofiletikus mivolta jól körülhatárolt és alátámasztott (0.95 posteriori valószínűség) volt (16. Ábra). Ezt a hasonlósági mátrix (Melléklet 10. Táblázat) illetve a p-távolságok eredménye (Melléklet 11. Táblázat) is megerősíti. A *Nostoc* klaszter a *Nostoc piscinale* CENA21, a *Trichormus azollae* Kom-BAI-1983 és négy *Gloeotrichia* OTU közvetlen szomszédja lett. A filogenetikai megközelítem szerint tizenegy MACC törzs esett a "Nostoc" klaszterbe (1. Táblázat). Ezt a kládot *Nostoc sensu stricto*-ként azonosítottam, mivel magában foglalta a jól ismert *Nostoc* törzseket, köztük a *N. commune*-t és *N. punctiforme* PCC 73102-öt, valamint a *Nostoc* szárazföldi képviselőit a

*N. calcicola* III-mal együtt. Ezt megerősíti, hogy minden izolátum talajból származott (Szerbia, 1. Táblázat). Hasonló elrendeződést találtak más *Nostoc*-tanulmányban, vagyis az MACC törzsek olyan jól ismert *Nostoc* referenciatörzsekkel alkottak egy csoportot, mint a *N. commune* és a *N. punctiforme* PCC 73102, valamint a *Nostoc* szárazföldi képviselői beleértve a *N. calcicola* III törzset (Novis és Smissen 2006, Lukesová és mtsai. 2009, Mateo és mtsai. 2011, Ramírez és mtsai. 2011, Osorio-Santos és mtsai. 2014, Silva és mtsai. 2014, Shalygin és mtsai. 2017). Az MACC 268 egy különálló, kisebb kládba esett, amelynek hasonlósága 0.6 posteriori valószínűség és 74% közötti volt a többi tíz törzshöz képest. A többi tíz törzs 82%-ban hasonlított egymáshoz. Ez igen alacsonynak számít és biztos, hogy nem ugyanarról a fajról van szó. További vizsgálatokat (pl.: teljes 16S rRNS génszakasz, illetve a TS1, rbcLX és rpoB gének mellett heterocita- és akinétaszpecifikus gének) kell elvégezni, mivel ez a megállapítás nem alapulhat kizárólag egy részeleges génszekvencia hasonlóságán. A teljes 16S rRNS génre nézve a baktériumoknál 97-98% hasonlóság felett egy fajról beszélünk, a cianobaktériumoknál egy picit még ennél is magasabb hasonlóság értékekkel lehet operálni. Ebből egyértelműen következik, hogy a 74 vagy a 82% még nem elég magas érték ahhoz, hogy kijelenthessük azt, hogy egyazon fajról beszélünk.

1. Táblázat A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó, korábban alaktani szempontból *Anabaena* nemzetséggént azonosított 11 *Nostoc* törzs filogenetikai eredményeinek összefoglalása. Ez a 11 MACC törzs a szekvenciák elemzése által kerültek át másik nemzetségbe és nem a taxonómiájukban bekövetkezett változások miatt.

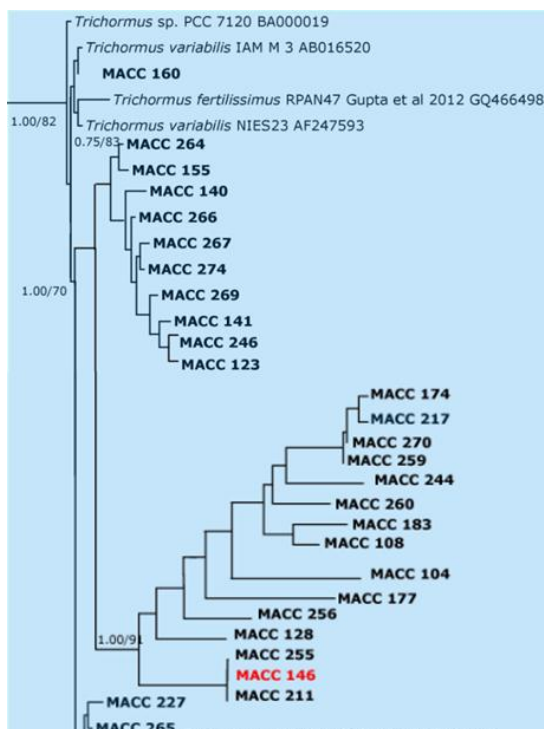
Csoport (klaszter)	MACC törzs kódszám	Származási hely	Korábbi, alaktani vizsgálatokon alapuló megnevezés	Új, filogenetikai vizsgálatokon alapuló megnevezés	NCBI génbanki hozzáférési szám
<b><i>Nostoc</i></b>	159	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Nostoc</i> sp.	KY807534
	165	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Nostoc</i> sp.	KY807511
	166	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Nostoc</i> sp.	KY807517
	240	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Nostoc</i> sp.	KY807525
	243	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Nostoc</i> sp.	KY807533
	251	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena variabilis</i>	<i>Nostoc</i> sp.	MN032667
	253	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Nostoc</i> sp.	KY807535
	254	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Nostoc</i> sp.	MN575763
	258	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena variabilis</i>	<i>Nostoc</i> sp.	KY807536
	268	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Nostoc</i> sp.	KY807531
	284	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Nostoc</i> sp.	MN575764

## 5.2. *Trichormus* csoport:

A *Trichormus* klaszter filogenetikai értelemben nagymértékben alátámasztott (1,00 a posteriori valószínűsége és 82% -os az ML bootstrap értéke) (17. és 18. Ábrák). Ezt a hasonlósági mátrix (Melléklet 10. Táblázat) illetve a p-távolságok eredménye (Melléklet 11. Táblázat) is megerősíti. A jelenlegi klád a PCC7120-at és a NIES23-at tartalmazta, amelyekre *Trichormus*-ként hivatkoztak (Bohunická és mtsai. 2015, Genuario és mtsai. 2015, Miscoe és mtsai. 2016, Hentschke 2016). Ez a klád a *Trichormus variabilis* ATCC 29413-at is tartalmazta. A csoport törzseiben nem figyeltem meg akinétákat, de a vegetatív sejtek hordó alakúak voltak és az egyenes vagy enyhén meghajlott fonalak gömbölyű és ovális heterocitákat tartalmaztak. A részleges 16S rRNS elemzés szerint a *Trichormus* kládban lévő MACC törzsek 91 és 100% közötti hasonlóságot mutatnak. Ha a referencia-szekvenciákat is ide vesszük (például *Trichormus fertilissimus* RPAN 47, *T. variabilis* IAM M3, *Trichormus sp.* PCC 7120, *T. variabilis* NIES 23, *T. variabilis* ATCC 29413), akkor ez az érték 82 - 91%-ra változik. A klaszteren belül két jól alátámasztott alklasztert azonosítottam, amelyeket a törzsek származási helyére alapozva „tavi alcsoport”-nak illetve „talaj alcsoport”-nak neveztem el.



## 5.2.1. Talaj alcsoport



17. Ábra A *Trichormus* filogenetikai csoport „Talaj alcsoportja” 28 MACC törzssel.

A talaj alcsoport (1.00 posteriori valószínűség és 70% ML bootstrap érték) huszonnyolc (2. Táblázat), Szerbia területén izolált törzset taglalt (MACC 104, 108, 123, 128, 140, 141, 146, 155, 160, 174, 177, 183, 211, 217, 227, 244, 246, 255, 256, 259, 260, 264, 265, 266, 267, 269, 270, 274). Ezek a törzsek 82%-os hasonlóságot mutattak a *T. variabilis* IAM M3-mal, a *Trichormus sp.* PCC 7120-szal vagy a *Trichormus variabilis* NIES23-mal (17. Ábra). A huszonnyolc törzsből tizenöt kissé távol esett az alcsoport négy referenciatörzsetől (1.00 posteriori valószínűség és 91% ML bootstrap érték).

2. Táblázat A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó, korábban alaktani szempontból *Anabaena* nemzetségként azonosított 28 „Talaj” alcsoportba tartozó *Trichormus* törzs filogenetikai eredményeinek összefoglalása. Ezen törzsek csak a taxonómiában bekövetkezett változások eredményeként kerültek át másik nemzetségbe.

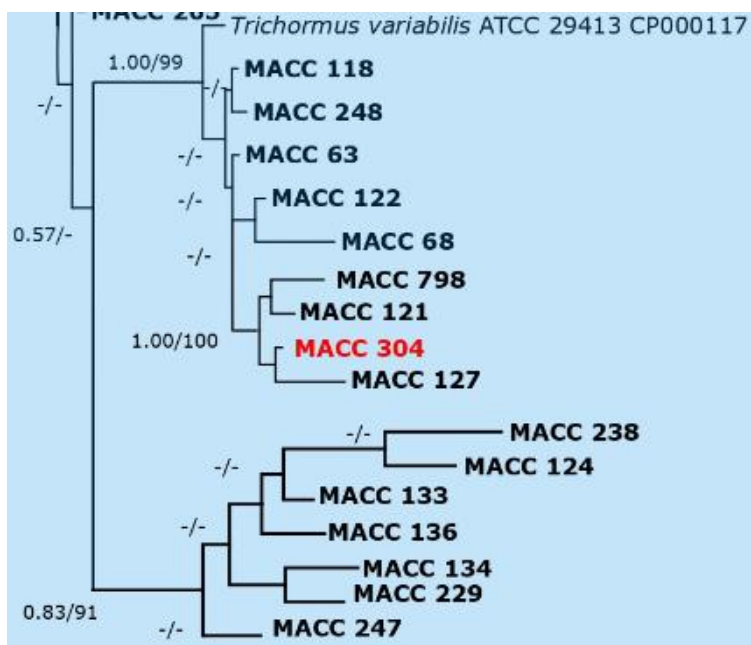
Csoport (klaszter)	MACC törzs kódszám	Származási hely	Korábbi, alaktani vizsgálatokon alapuló megnevezés	Új, filogenetikai vizsgálatokon alapuló megnevezés	NCBI génbanki hozzáférési szám
<b><i>Trichormus</i></b> Talaj alcsoport	104	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032639
	108	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032640
	123	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY778000
	128	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Trichormus</i> sp.	MN032647
	140	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Trichormus</i> sp.	KY794657
	141	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY794656
	146	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032651
	155	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY794651
	160	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY794652
	174	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032652
	177	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032654
	183	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Trichormus</i> sp.	MN032655
	211	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032661
	217	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY794655
	227	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY794658
	244	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Trichormus</i> sp.	MN032665
	246	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY794653
255	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032668	
256	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032669	
259	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032670	

2. Táblázat folytatása. A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó, korábban alaktani szempontból *Anabaena* nemzetséggént azonosított 28 „Talaj” alcsoportba tartozó *Trichormus* törzs filogenetikai eredményeinek összefoglalása. Ezen törzsek csak a taxonómiában bekövetkezett változások eredményeként kerültek át másik nemzetségbe.

Csoport (klaszter)	MACC törzs kódszám	Származási hely	Korábbi, alaktani vizsgálatokon alapuló megnevezés	Új, filogenetikai vizsgálatokon alapuló megnevezés	NCBI génbanki hozzáférési szám
<i>Trichormus</i> Talaj alcsoport	260	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032671
	264	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY807509
	265	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY807510
	266	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY807507
	267	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY807508
	269	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY807528
	270	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032672
	274	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY807522

### 5.2.2. Tavi alcsoport

A tavi alcsoportba (0.57 posteriori valószínűség) tizenhat (3. Táblázat), többségében halastóból izolált törzset taglat (63, 68, 118, 121, 122, 124, 127, 133, 134, 136, 229, 238, 247, 248, 304, 798). Ezek a törzsek (18. Ábra) a *Trichormus variabilis* ATCC 29413 referenciaszekvenciával kerültek egy csoportba.

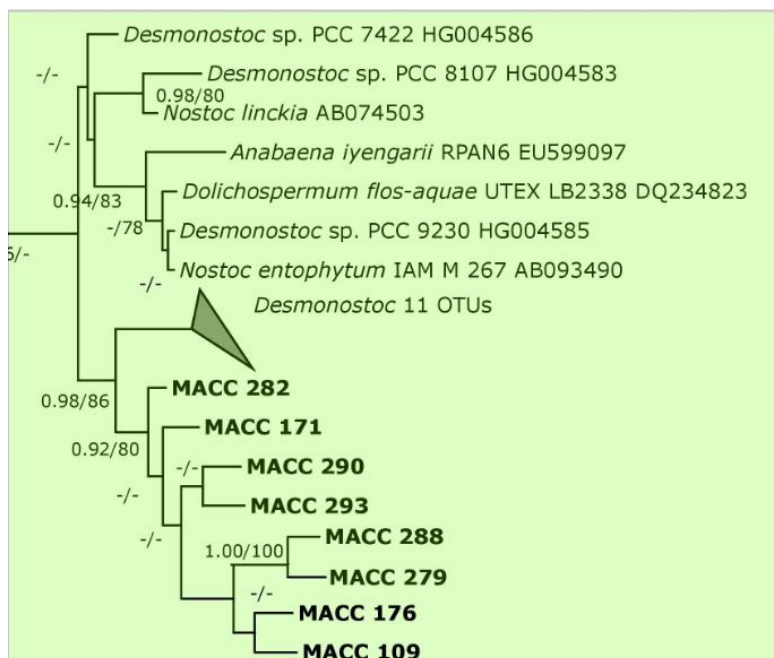


18. Ábra A *Trichormus* filogenetikai csoport „Tavi alcsoportja”  
16 MACC törzssel.

3. Táblázat A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó, korábban alaktani szempontból *Anabaena* nemzetséggént azonosított 16 „Tavi” alcsoportba tartozó *Trichormus* törzs filogenetikai eredményeinek összefoglalása. Ezen törzsek csak a taxonómiában bekövetkezett változások eredményeként kerültek át másik nemzetségbe.

Csoport (klaszter)	MACC törzs kódszám	Származási hely	Korábbi, alaktani vizsgálatokon alapuló megnevezés	Új, filogenetikai vizsgálatokon alapuló megnevezés	NCBI génbanki hozzáférési szám
<b><i>Trichormus</i></b> Tavi alcsoport	63	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Trichormus</i> sp.	KY807521
	68	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Trichormus</i> sp.	KY807516
	118	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena variabilis</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY807527
	121	CCAP 1403/13A, Anglia	<i>Anabaena flos-aquae</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032644
	122	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena flos-aquae</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY807524
	124	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena tenericaulis</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032645
	127	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena variabilis</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032646
	133	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena variabilis</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032648
	134	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Trichormus</i> sp.	MN032649
	136	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena miniata</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032650
	229	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena miniata</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032663
	238	IPPAS B-408, Oroszország	<i>Anabaena azollae</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032664
	247	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Trichormus</i> sp.	MN032666
	248	Halastó, Magyarország	<i>Anabaena tenericaulis</i>	<i>Trichormus</i> sp.	KY807523
	304	IPPAS B-402, Oroszország	<i>Anabaena sphaerica</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032673
798	UK-16, Ukrajna	<i>Anabaena hassalii</i>	<i>Trichormus</i> sp.	MN032675	

### 5.3. *Desmonostoc* csoport:



19. Ábra A *Desmonostoc* filogenetikai csoport 8 MACC törzssel.

A *Desmonostoc*-klaszterhez (19. Ábra) *Desmonostoc*-ként publikált (pl. Hrouzek és mtsai.: *Desmonostoc muscorum* I és a *D. muscorum* II) törzseket vettem alapul elemzésemben, ami egy jól alátámasztott kládöt eredményezett (posteriori valószínűség 0,95). Ezt a hasonlósági mátrix (Melléklet 10. Táblázat) illetve a p-távolságok eredménye (Melléklet 11. Táblázat) is megerősíti. Két nemrégiben közzétett *Desmonostoc* faj: a *D. geniculatum* és a *D. vinosum* (Miscoe és mtsai. 2016) ebbe a kládba esett a referencia törzsekkel együtt. A *Nostoc muscorum* polifiletikusnak bizonyult és magában foglalta azokat a "Nostoc" fajokat, amelyek puha nyálkaréteggel rendelkeztek. Az ebben a klaszterben talált MACC törzseket (MACC 109, 171, 176, 279, 282, 288,

290 és 293) kezdetben *Anabaena affinis*, *A. constricta* és *A. variabilis* fajokként azonosították. Mind a nyolc törzs (4. Táblázat) szerbiai talajmintákból származott. Ez a molekuláris elemzés módosította a korábban alaktanon alapuló taxonómiai meghatározást.

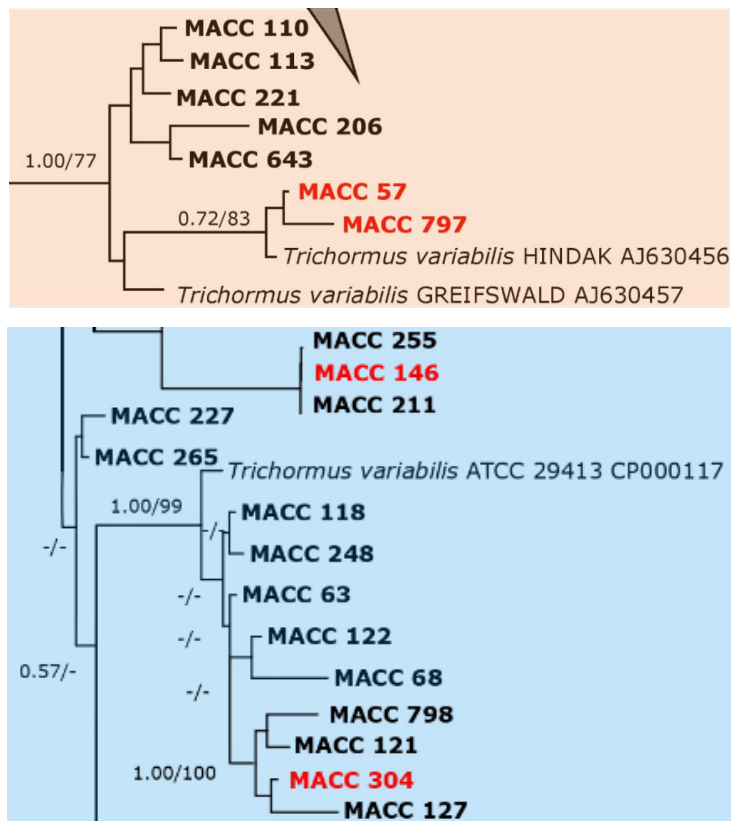
4. Táblázat A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó, korábban alaktani szempontból *Anabaena* nemzetséggént azonosított 8 *Desmonostoc* törzs filogenetikai eredményeinek összefoglalása. Ez a 8 MACC törzs a szekvenciák elemzése által kerültek át másik nemzetségbe és nem a taxonómiájukban bekövetkezett változások miatt.

Csoport (klaszter)	MACC törzs kódszám	Származási hely	Korábbi, alaktani vizsgálatokon alapuló megnevezés	Új, filogenetikai vizsgálatokon alapuló megnevezés	NCBI génbanki hozzáférési szám
<i>Desmonostoc</i>	109	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena affinis</i>	<i>Desmonostoc</i> sp.	MN032641
	171	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Desmonostoc</i> sp.	KY807519
	176	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Desmonostoc</i> sp.	MN032653
	279	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Desmonostoc</i> sp.	KY807512
	282	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Desmonostoc</i> sp.	KY807515
	288	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Desmonostoc</i> sp.	KY807529
	290	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena variabilis</i>	<i>Desmonostoc</i> sp.	KY807513
	293	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>	<i>Desmonostoc</i> sp.	KY807520



## 5.4. Bioaktív törzsek

Az MACC 146 törzs a *Trichormus* nemzetségen belül a Talaj al csoportba soroltam és piros színnel jelöltem (20. Ábra). Ezt a törzset a tanszéken korábban már vizsgálták és közepesen rovarrepellens hatású cianobaktérium törzsnek bizonyult. Javaslom a filogenetikai fán hozzá közel eső MACC 211 és 255 törzsek további vizsgálatát a repellens hatásuk bizonyítására.



20. Ábra Bizonyítottan bioaktív törzsek (pirossal) és a velük egy kládot alkotó feltételezhetően bioaktív törzsek

Az MACC 304 törzset a *Trichormus* nemzetségen belül a Tavi alcsoportba soroltam és piros színnel jelöltem (20. Ábra). Ezt a törzset a tanszéken korábban már szintén vizsgálták és növényi gombabetegségek ellen fungicid hatású (az *Alternaria*, a *Fusarium*, a *Rhizoctonia*, a *Pythium*, a *Phaeoramularia*, a *Botrytis* és a *Sclerotinia* kórokozók ellen) cianobaktérium törzseknek bizonyult. Javasolom a filogenetikai fán hozzá közel eső MACC 127 törzs fungicid hatásának további vizsgálatát.

Az MACC 57 és 797 törzseket szintén vizsgálták korábban káposzta gyökérlégy ellen kifejtett hatásuk szempontjából. Mindkét törzs legalább 40%-kal csökkentette a káposzta gyökérlégy tojásrakását a tarlórépán. Függetlenül attól, hogy taxonómiai szempontból a helyzetünk nem tisztázott, a filogenetikai fán (20. Ábra) feltüntettem őket és javasolom a hozzájuk közel elhelyezkedő MACC 110, 113, 206, 221 és 643 törzsek vizsgálatát a káposzta gyökérlégy tojásrakásának kutatására irányuló tesztekben.

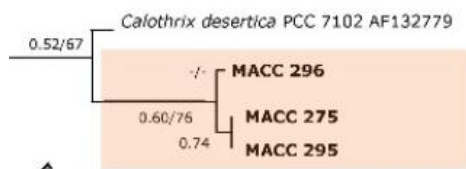
### 5.5. A „megoldatlan” törzsek

A csoport tagjait pasztell barack színnel különítettem el a 15. ábrán a korábban említett három nagy csoporttól. A 19 törzset a fán történő elhelyezkedésük szerint 5 alcsoportra osztottam. Többségük nem jól alátámasztott (0,60-0,70 posteriori valószínűség) klaszterhez került a filogenetikai elemzés során, ezért a „megoldatlan” törzsek (5. Táblázat) pontos meghatározásához további gének vizsgálata szükséges.



21. Ábra Az 1. megoldatlan alcsoport.

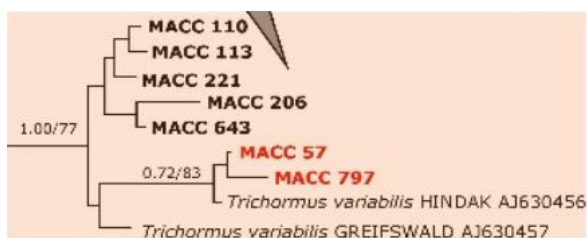
Az 1. megoldatlan alcsoport tagja az MACC 307 törzs lett (21. Ábra), a referenciaszekvencia pedig, amihez közel került a *Hydrocoryne spongiosa* HA4387 MV2 törzs. A *Hydrocoryne* nemzetségről Komárek (2013) szerint kevest lehet tudni ugyanis hasonlóságot mutat az *Anabaena* az *Aulosira* és *Wollea* nemzetségekkel, de fonalképzése eltér azokétól. Ezt alátámasztja, hogy az általam készített filogenetikai fán (15. Ábra) is a hagyományos, heterogén *Anabaena* (Genuario és mtsai. 2013) csoporthoz áll közel, amelynek legjellegzetesebb tagjai az *Anabaena augstumalis* SCHMIDKE JAHNKE/4a (AJ630458), az *Anabaena\_cylindrica* PCC 7122 Neilan (AF091150), az *Anabaena cylindrica* DC-3 (EU780157), az *Anabaena cylindrica* NIES19 (AF247592) és az *Anabaena cylindrica* UTAD A212 (GQ443447).



22. Ábra A 2. megoldatlan alcsoport.

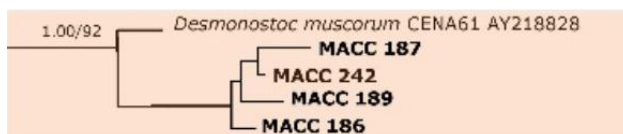
Az 2. megoldatlan alcsoport tagja az MACC 275, 295 és 296 törzsek lettek (22. Ábra). Ezek a törzsek a *Calothrix desertica* PCC 7102 referenciatörzsszel kerültek egy csoportba. A *Calothrix* nemzetség nagyon heterogén, amely számos morfortípust foglal magába. Ezek Komárek

(2013) szerint valószínűleg mind egy-egy nemzetséget képviselnek, tehát az ide sorolódott MACC törzsek azonosításához további gének alkalmazása szükséges.



23. Ábra A 3. megoldatlan alcsoport.

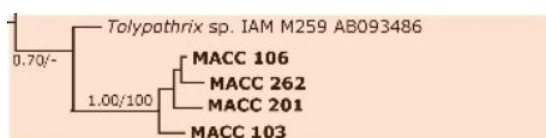
A 3. megoldatlan alcsoport törzsei, nevezetesen az MACC 57, 110, 113, 206, 221, 643 és a 797 a *Trichormus variabilis* Greifswald és a *Trichormus variabilis* Hindák 2001/4 törzsekkel egy csoportba kerültek (23. Ábra), bár a *sensus stricto* *Trichormus* klaszteren kívül. Ebből következik, hogy helyzetük bizonytalan és a további genetikai vizsgálatokig az említett referenciaszekvenciákról a jövőben megjelenő publikációk segíthetnek őket beazonosítani.



24. Ábra A 4. megoldatlan alcsoport.

Annak ellenére, hogy az MACC 186, 187, 189 és 242 törzsek, vagyis a 4. megoldatlan alcsoport tagjai, a *Desmonostoc muscorum* CENA61 törzssel egy csoportba sorolódtak, közelebb állnak a valódi

*Trichormus*-hoz, és jól alátámasztott csoportot alkotnak (1.00 posteriori valószínűség) (24. Ábra). A CENA61 megoldatlan, a valódi *Trichormus variabilis* testvére a filogenetikai fámon (15. Ábra). A *Trichormus* Greifswald és a *Trichormus* Hindák 2001/4 szintén messze esnek ettől a törzstől.



25. Ábra Az 5. megoldatlan alcsoport.

A MACC 103, 106, 201 és 262 alkotják a megoldatlan taxonok utolsó, 5. alcsoportját. Bár egy klaszterbe kerültek a *Tolypothrix*-szal (25. Ábra), a *Nostoc*, a *Trichormus* és a *Desmonostoc* klaszterekhez képest nem jól alátámasztottak (0,07 posterior valószínűség). A *Tolypothrix* nemzetség referenciatörzse a *Tolypothrix distorta* ACOI 731 (Hauer és mtsai. 2014). A MACC 103, 106, 201 és 262 nem a referencia törzssel, hanem a *Tolypothrix* IAM-259 törzsszel csoportosult. Reháková és mtsai. (2007) szintén megerősítette a *Tolypothrix* IAM-259 helyzetének eltérését a többi *Tolypothrix* referenciaszekvenciához képest. Bravakos és mtsai. (2016) azt javasolta, hogy az IAM-259 lehet *Halotia*, de ez a megjegyzés továbbra sem igazolható.

5. Táblázat A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó, korábban alaktani szempontból *Anabaena* nemzetséggént azonosított 19 „megoldatlan” törzs (Mellékletek: 38. és 39. Ábra) filogenetikai eredményeinek összefoglalása.

Csoport (klaszter)	MACC törzs kódszám	Származási hely	Korábbi, alaktani vizsgálatokon alapuló megnevezés	Új, filogenetikai vizsgálatokon alapuló megnevezés	NCBI génbanki hozzáférési szám
<b>Megoldatlan</b>	57	CCAP 1403/12, Anglia	<i>Anabaena variabilis</i>	<b>További gének vizsgálata szükséges</b>	MN032637
	103	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>		MN032638
	106	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>		KY807518
	110	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>		MN032642
	113	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>		MN032643
	186	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena sp.</i>		MN032656
	187	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena sp.</i>		MN032657
	189	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena affinis</i>		MN032658
	201	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena oscillatoroides</i>		MN032659
	206	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>		MN032660
	221	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>		MN032662
	242	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena sp.</i>		KY807526
	262	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena constricta</i>		KY807514
	275	CCAO 004, Csehország	<i>Anabaena sp.</i>		n/a
	295	Talaj, Szerbia	<i>Anabaena sp.</i>		n/a
	296	Talaj, Brazília	<i>Anabaena miniata</i>		n/a
	307	IPPAS B-285, Oroszország	<i>Anabaena variabilis</i>		n/a
	643	CCALA 005, Csehország	<i>Anabaena sp.</i>		KY807532
797	UK-17, Ukrajna	<i>Anabaena variabilis</i>	MN032674		

## 5.6. Hatvanhárom MACC törzs alaktani vizsgálata

A filogenetikai elemzés során kapott eredményekből kiindulva, az alaktani vizsgálatokat *Süßwasserflora von Mitteleuropa* című határozókönyv (Komárek 2013) segítségével végeztem el, amely egy *Desmonostoc*, 25 *Nostoc* és 12 *Trichormus* nemzetségbe tartozó fajt ír le.

### 5.6.1. *Trichormus* csoport – Tavi alcsoport

A csoport tagjai a katalógusban *Anabaena sp.*, *A. variabilis*, *A. flos-aquae*, *A. tenericualis*, *A. miniata*, *A. azollae*, *A. sphaerica* és *A. hassalii* néven szerepelnek (3. Táblázat), a genetikai vizsgálat alapján azonban a *Trichormus* nemzetség tagjainak bizonyultak, így javaslom a korábbi, alaktani vizsgálatokon alapuló megnevezés megváltoztatását. A nemzetségnév változás ebben az esetben csupán annyit jelent, hogy az *Anabaena* fajok jelentős része átkerült a *Trichormus* nemzetségbe. A fajmeghatározás alaktani vizsgálatlaltal nem lehetséges, mert tenyészetben a határozáshoz szükséges kitartósejtek (akinéta) nem jelentek meg. Az egyenes vagy enyhén görbült fonalak sejtjei hordóalakúak és a heterociták előfordulása alaktanilag megfelel a *Trichormus* nemzetségnek, ugyanis a fonalakon gömbalakú és ovális heterociták láthatók (26, 27. Ábra). Utóbbiak gyakorisága összefügg a tápközeg nitrogéntartalmával.

Komárek (2013) *Süßwasserflora von Mitteleuropa* című határozókönyve 12 *Trichormus* fajt ír le: *Trichormus azollae*, *Trichormus variabilis*, *Trichormus botulus*, *Trichormus cycadearum*, *Trichormus elipsosporus*, *Trichormus gunnerae*, *Trichormus hallensis*, *Trichormus polysporus*, *Trichormus pseudovariabilis*, *Trichormus rotundosporus*, *Trichormus steloides*, *Trichormus thermalis*. Ebből egy faj, a *Trichormus*

*gunnerae* „nomen nudum”-nak („csupasz név”) minősül. A rendszertanban annak jelzésére használják ezt a megfogalmazást, hogy egy szó vagy kifejezés tudományos névnek tűnik, ám nem az, mivel (még) nem publikáltak megfelelő leírással (vagy leírásra történő hivatkozással) együtt, ezért „üres” vagy „csupasz”. Komárek (2013) nem tüntet fel sejtméret adatokat a faj „leírásban”, így a további összehasonlításból kizártam. A *Trichormus* tavi csoport sejtméreteit a 6. Táblázat részletesen tartalmazza. Zöld színnel jelöltem, hogy az adott törzs az eredményként kapott referenciafajjal milyen mértékben, hány paraméterig egyezik.

Az MACC 63 törzs (26. Ábra) a legnagyobb hasonlóságot a *T. botulus* fajjal mutatta, ugyanis heterocitáik mérete  $4.5 \mu\text{m} \times 4.5 \mu\text{m}$ , vegetatív sejtjeik (hordó) és heterocitáik (gömbölyded) alakja illetve elhelyezkedése (fonalon belüli, magányos) hasonlított. Azonban, a vegetatív sejtjeik lényegesen kisebbek ( $3 \mu\text{m} \times 3 \mu\text{m}$ ), mint az MACC 63 törzsé ( $5.1\text{-}6 \mu\text{m} \times 6.1\text{-}7.7 \mu\text{m}$ ). Vegetatív sejtek tekintetében inkább a *T. steloides* ( $5.4\text{-}6 \mu\text{m} \times 5.6\text{-}6.2 \mu\text{m}$ ) és a *T. pseudovariabilis* ( $6 \mu\text{m} \times 6 \mu\text{m}$ ) fajokra hasonlított. Az MACC 63 törzshöz képes kisebb vegetatív sejt-, illetve nagyobb heterocitamérettel rendelkeztek a *T. azollae*, *T. variabilis*, *T. cycadearum*, *T. elipsosporus*, *T. rotundosporus* fajok, így azokhoz az MACC 63 nem hasonlít.



6. Táblázat. A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó 16, a *Trichormus* filogenetikai csoport „Tavi alcsoportjába” tartozó cianobaktérium törzs alaktani eredményeinek összefoglalása. A sejtszélesség és sejthossz µm-ben van megadva. Jelmagyarázat: **A**: hordó, **B**: gömbölyded, **C**: gömbölyű, **D**: kissé hosszúkás, **E**: fonalon belüli, **F**: magányos, **G**: fonalvégi.

Csoport (klaszter)	MACC törzs	Vegetatív sejt szélesség/hossz		Heterocita szélesség/hossz		Vegetatív sejt alakja	Heterocita alakja	Heterocita elhelyezkedése	Alaktani behatárolás
<b>Trichormus: Tavi alcsoport</b>	63	5.1-6	6.1-7.7	4.2-4.7	4.6-4.8	A / B	± C / D	E, F	<i>T. botulus</i>
	68	3.3-3.8	5.1-5.8	4.3-5.3	4.5-5.9	A / B	± C / D	E, F	<i>T. botulus</i>
	118	3.4-4.3	3.9-4.7	4.7-5.4	3.4-4.6	A / B	± C / D	E, F	<i>T. rotundosporus</i>
	121	4.2-4.9	4.6-5.8	5.7-6.5	6.1-7.4	A / B	± C / D	E, F	<i>T. steloides</i>
	122	2.7-3	4.3-5.6	4-4.4	5.1-5.8	A / B	± C / D	E, F	<i>T. botulus</i>
	124	4.6-5.8	6.3-7.8	7.2-8.7	6.3-7.9	A / B	± C / D	E, F, G	<i>T. pseudovariabilis</i>
	127	3.4-4.6	5.6-7.1	5.1-5.7	5.2-6.1	A / B	± C / D	E, F	<i>T. pseudovariabilis</i>
	133	4.5-5.8	3.3-4.9	7.5-8.4	7.6-8.8	A / B	± C / D	E, F	<i>T. variabilis</i>
	134	4.5-6.2	8.1-9.4	3.9-5.1	5.3-6.5	A / B	± C / D	E, F, G	<i>T. variabilis</i>
	136	4.6-5.1	4.2-5.4	4.2-5.3	4.4-5.8	A / B	± C / D	E, F, G	<i>T. variabilis</i>
	229	3.8-5.2	7.5-8.8	5.2-5.9	5.6-6.7	A / B	± C / D	E, F	<i>T. variabilis</i>
	238	4.2-5.3	8.3-10.1	6.4-7.4	6.1-6.8	A / B	± C / D	E, F	<i>T. variabilis</i>
	247	4.1-5.6	7.9-9.3	5.7-6.4	6.2-7.3	A / B	± C / D	E, F	<i>T. variabilis</i>
	248	3.6-3.8	3.7-5.1	4.7-5.4	6.2-6.5	A / B	± C / D	E, F	<i>T. variabilis</i>
304	5.6-5.9	7.5-8.9	6.5-7.8	6.3-7.5	A / B	± C / D	E, F, G	<i>T. variabilis</i>	
798	4.5-5.7	6.3-8.1	8.4-9.3	9.5-10.6	A / B	± C / D	E, F	<i>T. variabilis</i>	

Az MACC 68 törzs (26. Ábra) alaktani vizsgálatai során kiderült, hogy 5-5 paraméterben mutat hasonlóságot a *T. botulus* és a *T. variabilis* fajokkal. Mindkét faj hordó alakú vegetatív sejtekkel és gömbölyded heterocitákkal bír, amelyek fonalon belül, magányosan mutatkoznak. Ezek a tulajdonságok az MACC 68 törzsre is igazak, azonban a *T. botulus* vegetatív sejtjei kisebbek ( $3\ \mu\text{m} \times 3\ \mu\text{m}$ ) míg a *T. variabilis* heterocitái nagyobbak ( $5\text{-}6\ \mu\text{m} \times 6\text{-}8.5\ \mu\text{m}$ ), mint a vizsgált törzs esetében (vegetatív sejtek:  $3.3\text{-}3.8\ \mu\text{m} \times 5.1\text{-}5.8\ \mu\text{m}$ , heterociták:  $4.3\text{-}5.3\ \mu\text{m} \times 4.5\text{-}5.9\ \mu\text{m}$ ). Szintén megfigyeltem hasonlóságot az MACC 68 és a *T. polysporus* és a *T. elipsosporus*, azonban ezek heterocita mérete ( $11$  és  $9\ \mu\text{m}$ ) nagymértékben eltért a vizsgált törzsétől. Bár a sejtek alakját tekintve (hordó) sok az egyezés az MACC 68 és az elfogadott *Trichormus* fajok között, sejtméret tekintetében elmondható, hogy a vizsgált törzs a *T. azollae*, *T. cycadearum*, *T. hallensis*, *T. pseudovariabilis*, *T. rotundosporus*, *T. steloides* fajokra hasonlít a legkevésbé.

Az MACC 118 törzsnek (26. Ábra) 5 paramétere volt összhangban a *T. rotundosporus* fajjal, ugyanis mindkettő esetében hordó alakú vegetatív sejteket és fonalon belül elhelyezkedő gömbölyded vagy kissé hosszúkás heterocitákat figyeltem meg. Lényegi eltérés a heterociták méretében volt, ugyanis az MACC 118  $4.7\text{-}5.4\ \mu\text{m} \times 3.4\text{-}4.6\ \mu\text{m}$  heterocitaméretekkel, míg a *T. rotundosporus* nagyobb,  $6\text{-}7\ \mu\text{m} \times 6\text{-}8\ \mu\text{m}$  heterocitaméretekkel rendelkezett. Négy-négy paraméter erejéig egyezést figyeltem meg a vizsgált törzs és a *T. botulus* és a *T. elipsosporus* fajok között. Jellemzően mindannyian hordó alakúak, többé-kevésbé gömbölyűek és fonalon belül, magányos heterocitákkal rendelkeznek, azonban a vegetatív sejtek mérete ( $3\ \mu\text{m} \times 3\ \mu\text{m}$ ) és a heterocita szélessége ( $4.5\ \mu\text{m}$ ) a *T. botulus* esetében kisebb, míg a vegetatív sejt hosszúsága ( $3.5\text{-}$

6  $\mu\text{m}$ ) és a heterocita mérete (5.5-6.5  $\mu\text{m}$  x 6.5-9  $\mu\text{m}$ ) nagyobb a *T. elipsosporus* fajnál, mint az MACC 118 törzsnél. A *T. azollae*, *T. variabilis*, *T. cycadearum*, *T. hallensis*, *T. pseudovariabilis*, *T. steloides* és a *T. thermalis* fajoknál sejtméret terén eltért az MACC 118 törzstől.

Az MACC 121 törzsnél (26. Ábra) a legtöbb átfedés alaktanilag a *T. cycadearum* és a *T. steloides* fajokkal volt, azonban a *T. cycadearum* egy inkább szabályos gömbhöz hasonlítható vegetatív sejtekből és akinétákból álló faj, így a vizsgált MACC törzs és a *T. steloides* faj között több azonosság fedezhető fel. Mint az a korábbiakban kiderült, a hordó alakú vegetatív sejtek szinte minden fajnál és törzsnél jelen voltak, a hengeres sejtalak, az apróbb vegetatív sejtek és a többé-kevésbé ovális heterocita miatt a *T. thermalis* hasonlít a legkevesébé az MACC 121 törzshöz.

Az MACC 122 törzshöz (26. Ábra) a legtöbb, 5 paraméterben a *T. botulus* hasonlított, az eltérés mindössze a vegetatív sejtek (3  $\mu$ ) és a heterociták hosszában (4.5  $\mu$ ) mutatkozott. A *T. botulus* csakúgy, mint az MACC 122 hordó alakú vegetatív sejtekkel és gömbölyded heterocitákkal bír, amelyek fonalon belül, magányosan mutatkoznak. A legkisebb hasonlóság a vizsgált törzs és a *T. elipsosporus* között volt megfigyelhető. Bár ez utóbbi is magányos és fonalon belüli heterocitákkal rendelkezik, azonban nála sejtvégi heterocita is megfigyelhető, ami az MACC 122 törzshöz egyáltalán nem volt jellemző.

Az MACC 124 törzs (26. Ábra) mutatta a legkevesebb hasonlóságot a referenciafajokkal, ugyanis a legtöbb egyezés, két paraméter esetében, mindössze a három fajjal volt. A *T. pseudovariabilis* fajnál a heterociták szélességét (8  $\mu$ ) és alakját illetően (gömbölyded, hosszúkás), a *T. variabilis* fajnál a vegetatív sejtek alakját és a heterociták alakját illetően, míg a *T. rotundosporus* fajnál a heterocita hosszúsága (6-

8  $\mu$ ) és a heterocita alakja (gömbölyded, hosszúkás) is összefüggött a vizsgált törzsnél mért adatokkal. Ami az MACC 124 törzsnél megfigyelt fonalvégi heterocitákat illeti, ilyen jellemzőkkel csupán a *T. azollae* és a *T. elipsosporus* fajok rendelkeznek. Hat faj (*T. botulus*, *T. polysporus*, *T. thermalis*, *T. cycadearum*, *T. steloides*, *T. hallensis*) és az MACC 124 sejtméret adatainak esetében semmilyen összefüggést nem figyeltem meg.

Az MACC 127 törzssel (26. Ábra) összevetve a 11 leírt *Trichormus* fajt megállapítottam, hogy mindössze három faj egyezett vele és azok is csak három paraméter erejéig. A *T. rotundosporus*, a *T. variabilis* és a *T. pseudovariabilis*, esetében is elmondható, hogy az MACC 127 törzssel azonos, gömbölyded vagy enyhén ovális, fonalon belül magányosan elhelyezkedő heterocitákkal bírnak. A többi 8 faj 1-2 paraméterre vonatkozó egyezésen nem elég megnyugtató úgy, hogy az akinéták hiányában a 7 paraméteres egyezés volna a kívánatos. A *T. azollae* semmilyen formában nem hasonlított a vizsgált törzshöz, vegetatív sejtjei attól lényegesen kisebbek (3.4-4.6  $\mu$  x 5.6-7.1  $\mu$ ), míg heterocitái lényegesen nagyobbak voltak (5.1-5.7  $\mu$  x 5.2-6.1  $\mu$ ).

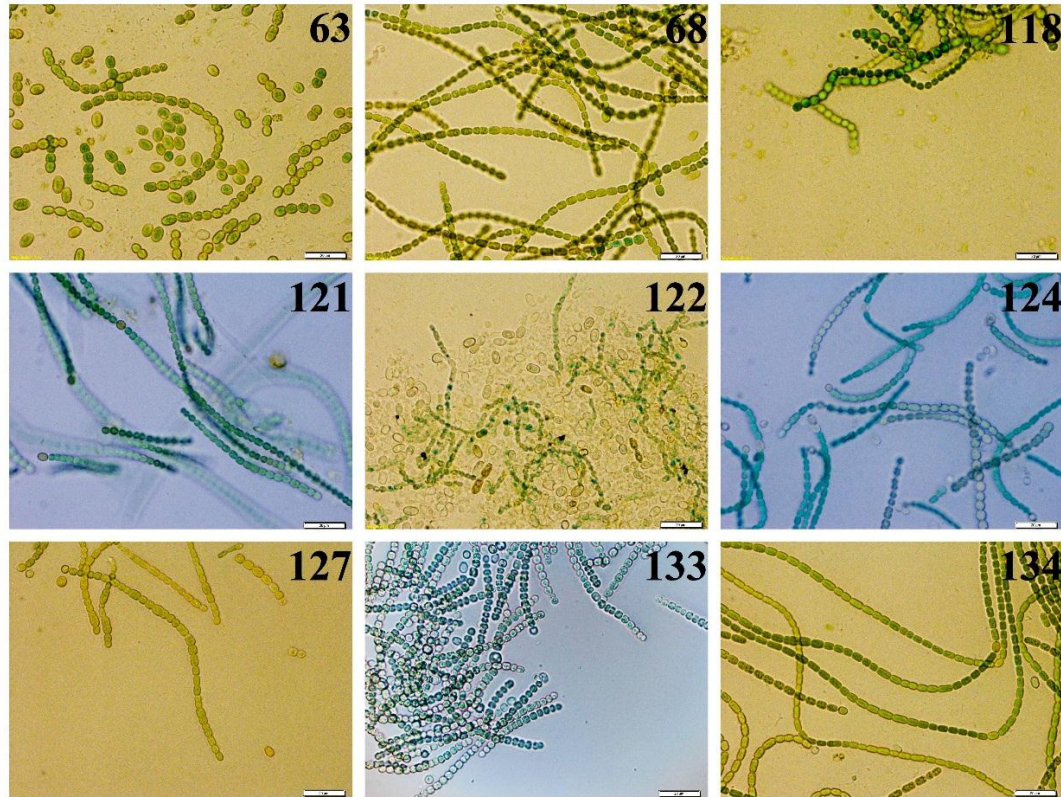
Az MACC 133 (26. Ábra) esetében a legtöbb hasonlóság (4 paraméter) a *T. variabilis* fajjal volt. Mindkét esetben elmondható, hogy a vegetatív sejtek hordó alakúak, a heterociták pedig a fonalon belül magányosan helyezkednek el. Ami az alakjukat illeti, gömbölydedek vagy enyhén oválisak. Szintén volt összefüggés a heterociták hosszúsága között, ugyanis a *T. variabilis* heterocitái 6-8.5  $\mu$  hosszúak, míg az MACC 133 törzs heterocitái 7.6-8.8  $\mu$  hosszúak, ami majdnem beleesik az *T. variabilis* tolerancia értékébe. A vizsgált törzs esetében nem volt olyan faj, ami egyáltalán nem hasonlított volna hozzá egyetlen paraméterben sem. A legkevesebb hasonlóságot a *T. botulus*, a *T. thermalis*, a *T. cycadearum*, a

*T. steloides* és a *T. pseudovariabilis* mutatták, mégpedig a heterocita elhelyezkedését illetően (fonalon belüli, magányos).

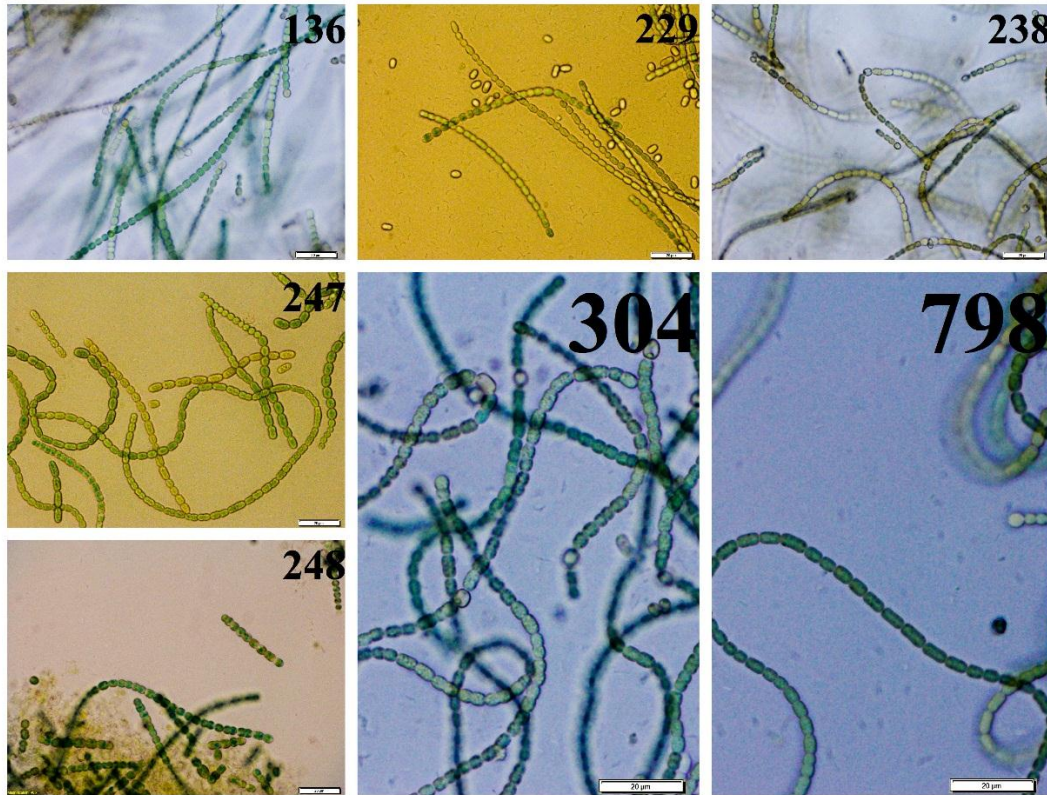
Az MACC 134 (26. Ábra) és az MACC 136 (27. Ábra) esetében is elmondható, hogy kevés, mindössze kétparaméteres egyezést mutattak. Mindkét törzs esetében a vegetatív sejtek alakja (hordó vagy gömbölyded) illetve a heterociták alakja (gömbölyded és enyhén hosszúkás) a leginkább a *T. variabilis* leírásához hasonlított, azonban a sejt méretben eltértek. Az MACC 134 és az MACC 136 is nagyobb vegetatívsejtmérettel és kisebb heterocitamérettel rendelkezett, mint a *T. variabilis*. A két törzs semmilyen paraméterben nem hasonlított a *T. thermalis* fajhoz, míg a többi fajjal egy-egy paraméterben egyeztek.

Az MACC 229, 238, 247, 248, 304, 798 (27. Ábra) esetében, változó paraméterszámban, de szintén a *T. variabilis* bizonyult a legtöbb hasonlóságot mutató fajnak. Három törzsnél (MACC 238, 247, 248) ugyanaz az öt paraméter egyezett a *T. variabilis* fajnál leírtakkal. A vegetatív sejt szélessége (2.5-6  $\mu$ ), a heterocita hosszúság (6-8.5  $\mu$ ), a vegetatív sejt alakja (hordó vagy gömbölyded), heterocita alakja (gömbölyded és enyhén hosszúkás), heterocita elhelyezkedése (fonalon belüli, magányos) mind-mind összhangban volt az említett három törzsnél tapasztalt megfigyeléseimmel. Az MACC 229 és az MACC 304 az előző 3 törzshöz képest csak négy paraméterben egyeztek *T. variabilis* fajjal. Az MACC 229 vegetatív sejtjei lényegesen hosszabbak (7.5-8.8  $\mu$ ) voltak, mint az említett fajé (2.5-7  $\mu$ ) illetve a vegetatív sejtek szélessége és a heterociták hosszúsága is eltért. Az MACC 304 nemcsak a vegetatív sejt hosszúságában és a heterocita szélességében tért el, de sejtvégi heterociták is jellemezték, amivel csak a *T. azollae* és a *T. elipsosporus* fajokkal mutatott hasonlóságot, de kizárólag a „heterociták elhelyezkedése”

paraméter erejéig. Az MACC 798 három paraméterben mutatott hasonlóságot és szintén a *T. variabilis* fajjal. A három paraméter a vegetatív sejt alakja (hordó vagy gömbölyded), heterocita alakja (gömbölyded és enyhén hosszúkás), heterocita elhelyezkedése (fonalon belüli, magányos) volt. A törzsek a legkevésbé a *T. azollae* és a *T. elipsosporus* fajokra hasonlítottak.



26. Ábra Az MACC 63, 68, 118, 121, 122, 124, 127, 133 és 134 *Trichormus* sp. törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban. A méretskála 20  $\mu\text{m}$ .



27. Ábra Az MACC 136, 229, 238, 247, 248, 304, és 798 *Trichormus sp.* törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban. A méretskála 20 µm.



### 5.6.2. *Trichormus* csoport – Talaj alcsoport

*Trichormus* sp. törzsekként azonosítottam az alcsoport tagjait, eredetileg a katalógusban *Anabaena* sp. és *A. constricta* néven szerepelnek. A genetikai vizsgálat alapján vált lehetővé a nemzetség szintű azonosításuk (2. Táblázat). A nemzetségnév változás ebben az esetben is csupán annyit jelent, hogy az *Anabaena* fajok jelentős része átkerült a *Trichormus* nemzetségbe. Javaslom a korábbi, alaktani vizsgálatokon alapuló megnevezések helyett az új, filogenetikai vizsgálatokon alapuló megnevezések alkalmazását. A faji szintű meghatározás alaktani vizsgálattal nem lehetséges, mert tenyészetben a határozáshoz szükséges kitarósejtek (akinéta) nem jelentek meg. A törzs mikroszkópi képe megerősíti a genetikai eredményt, jellegzetes hordóalakú és szférikus sejtek, a fonalak gömbalakú és ovális heterocitákkal (28-31. Ábrák). A heterociták és vegetatív sejtek méreteit a 7. Táblázat foglalja össze. Zöld színnel jelöltem, hogy az adott törzs az eredményként kapott referenciafajjal milyen mértékben, hány paraméterig egyezik.

A csoport alaktani vizsgálatakor a már korábban említett 11 fajt vettem alapul és a *T. gunnerae* fajt itt is kizártam a vizsgálatból (Melléklet 12. Táblázat). A vizsgált 28 MACC törzs közül (7. Táblázat) 26 MACC törzs esetében a legnagyobb hasonlóság a *T. hallensis* fajjal volt megfigyelhető. Ezek a törzsek a következők: MACC 123, 128, 140, 141, 146, 155, 160, 174, 177, 183, 211, 217, 227, 244, 246, 255, 256, 259, 260, 264, 265, 266, 267, 269, 270 és 274. A legtöbb egyezést (6 paraméter) a referenciafajjal az MACC 140 törzs mutatta. Ennél a törzsnél, mindössze az 5.5-5.6 µm heterocita hossz tért el a *T. hallensis* 8 µm-es értékétől (Melléklet 12. Táblázat), bár megfigyelhető, hogy a fennmaradó 25,

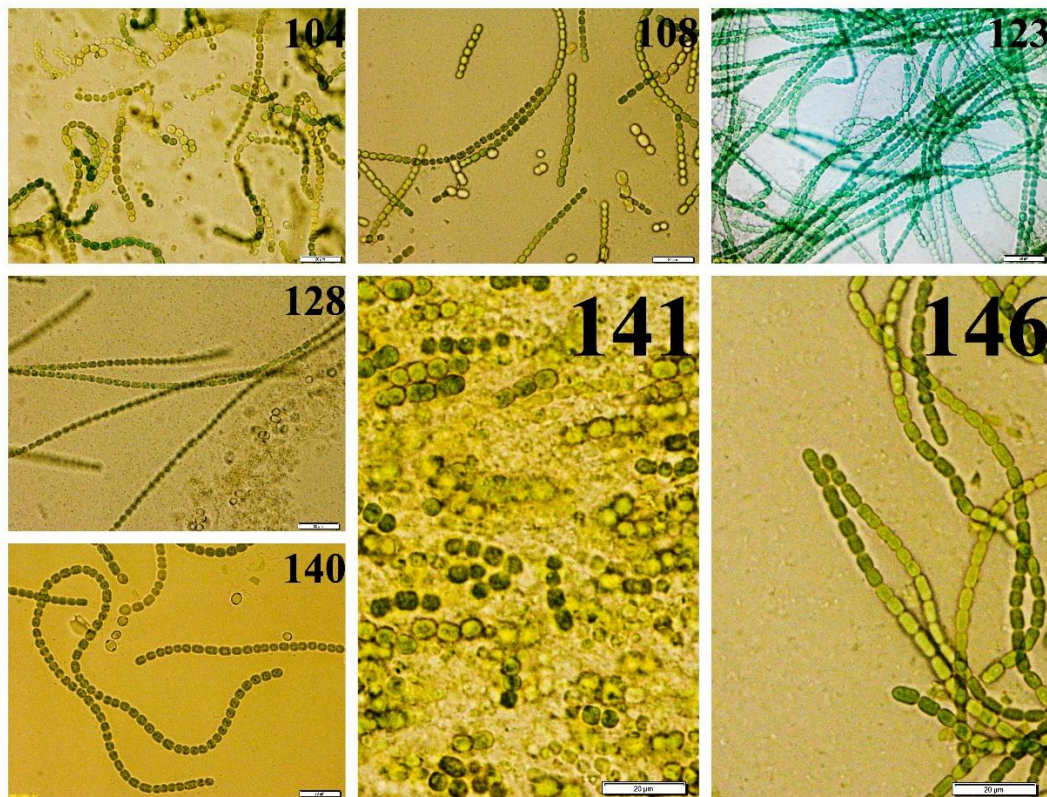
alaktani behatárolás során *T. hallensis* fajként azonosított MACC törzs egy esetben sem érte el a 8  $\mu\text{m}$ -es heterocita hossz értéket. A legkevésbé hasonlóság a *T. hallensis* és az MACC 227 törzs között volt tapasztalható. Itt mindössze a vegetatív sejt alakja (hordó / hengeres) és a heterocita alakja (gömbölyded / hordó) egyezett meg. Hat törzsnél (MACC 227, 255, 256, 259, 266 és 269) fonalvégi heterocitát is megfigyeltem, ez a jellemző azonban nem igaz a *T. hallensis* fajra, így a szobanforgó cellákat nem színeztam zöldre. Egy-egy törzs, az MACC 104 a *T. polysporus*, míg az MACC 108 a *T. variabilis* fajjal mutatott hasonlóságot. A heterocita alakja mindkét törzsnél többé-kevésbé ( $\pm$ ) gömbölyű volt, ez azonban nem jellemző az említett két referenciafajra. A *T. variabilis* heterocitái többé-kevésbé ( $\pm$ ) gömbölyűek, de inkább gömbölydedek, míg a *T. polysporus* heterocitái hengeresek, illetve gömbölydedek.

7. Táblázat. A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó 28, a *Trichormus* filogenetikai csoport „Talaj alcsoportjába” tartozó cianobaktérium törzs alaktani eredményeinek összefoglalása. A sejtszélesség és sejthossz µm-ben van megadva. Jelmagyarázat: A: hordó, B: gömbölyded, C: gömbölyű, D: hengeres, E: fonalon belüli, F: magányos, G: fonalvégi.

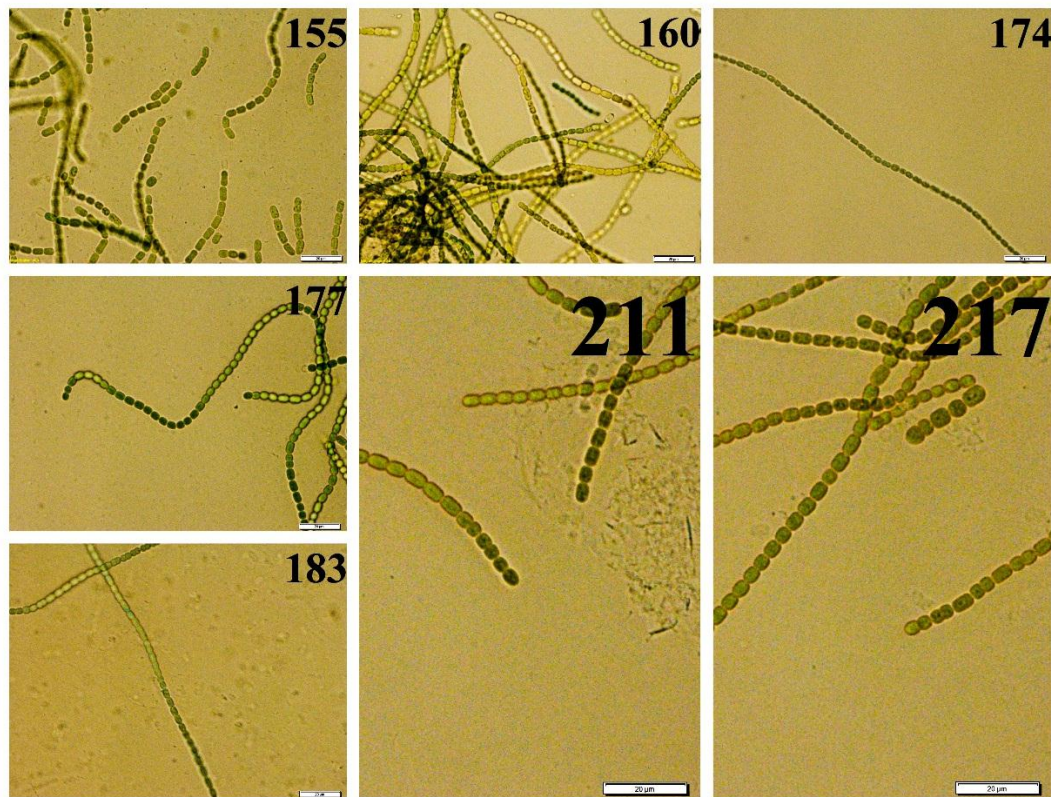
Csoport (klaszter)	MACC törzs	Vegetatív sejt szélesség/hossz		Heterocita szélesség/hossz		Vegetatív sejt alakja	Heterocita alakja	Heterocita elhelyezkedése	Alaktani behatárolás
<i>Trichormus</i> : Talaj alcsoport	104	5.1-6.4	6.4-7.5	5.5-6.7	5.7-6.2	A / B	± C	E, F	<i>T. polysporus</i>
	108	4.7-5.9	4.2- 5.7	8.6-9.2	8.1-8.9	A / B	± C	E, F	<i>T. variabilis</i>
	123	2.5-3.6	4.4-5.3	4-4.9	4.6-5.4	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	128	2.6-3.7	3.7-5.2	5.3-6.4	7.7-8.6	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	140	4.2-5	5.3-6	5-5.4	5.5-5.6	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	141	4.3-4.8	4.9-5.5	3.5-4.1	5.3-8.1	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	146	4.6-5.7	8.1-9.4	7.4-8.9	7.3-8.3	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	155	3.5-4.1	5.3-8.1	4.9-5.5	5.4-5.6	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	160	2.8-3.5	5.1-6.3	3.9-4.5	5.4-5.8	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	174	3.2-4.1	5.2-5.9	4.6-5.4	5.2-5.8	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	177	5.8-6.6	6.4-7.8	6.3-7.2	6.8-7.1	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	183	4.5-5.6	6.4-6.9	5.5-6.1	5.8-6.5	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	211	4.6-5.6	6.3-7.8	5.7-6.3	6.2-6.9	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	217	3.1-3.9	3.6-5.1	3.9-4.1	5.3-5.5	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	227	2.8-3.6	4.8-6.1	3.6-4.4	5.5-6.5	A / D	B / A	E, F, G	<i>T. hallensis</i>
	244	4.3-5.1	4.5-5	6.7-7.9	6.5-7.4	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
246	2.9-3.3	3.1-3.5	3.6-5.1	4.8-5.4	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>	
255	4-5.3	5.2-6.3	5.3-5.9	5-5.8	A / D	B / A	E, F, G	<i>T. hallensis</i>	

7. Táblázat folytatása. A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó 28, a *Trichormus* filogenetikai csoport „Talaj alcsoportjába” tartozó cianobaktérium törzs alaktani eredményeinek összefoglalása. A sejtszélesség és sejthossz µm-ben van megadva. Jelmagyarázat: A: hordó, B: gömbölyded, C: gömbölyű, D: hengeres, E: fonalon belüli, F: magányos, G: fonalvégi.

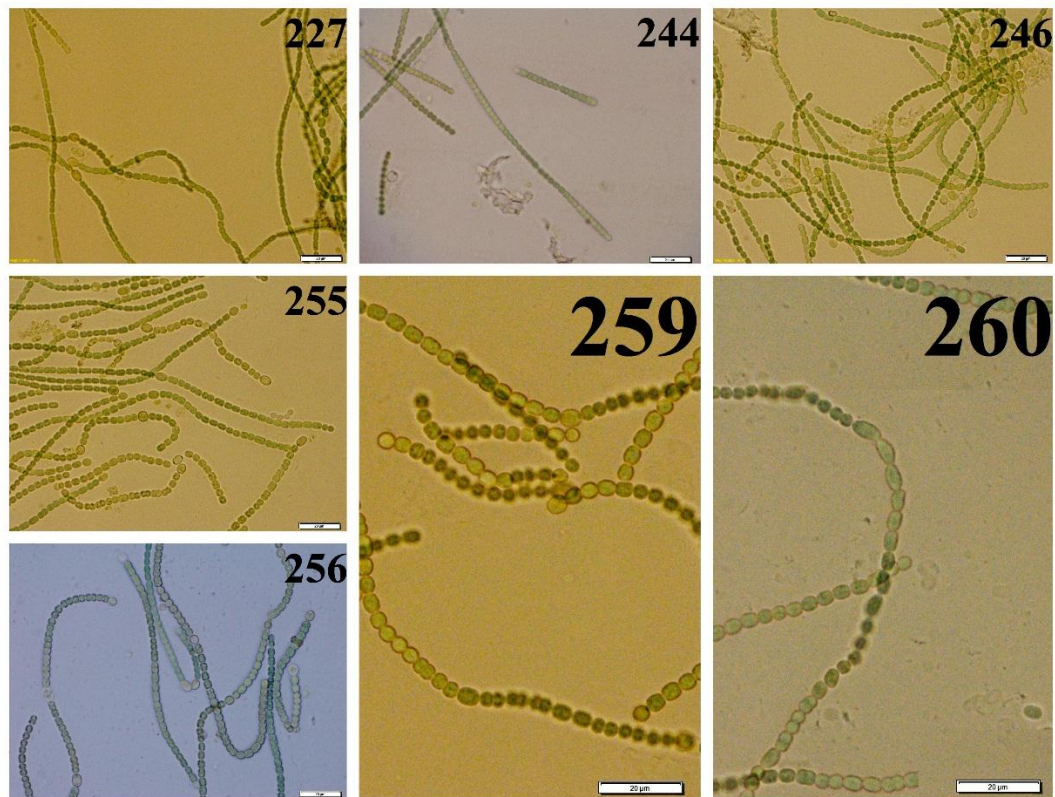
Csoport (klaszter)	MACC törzs	Vegetatív sejt szélesség/hossz		Heterocita szélesség/hossz		Vegetatív sejt alakja	Heterocita alakja	Heterocita elhelyezkedése	Alaktani behatárolás
<i>Trichormus</i> : Talaj alcsoport	256	3.9-4.6	4.2-5.4	5.3-5.7	5.7-6.2	A / D	B / A	E, F, G	<i>T. hallensis</i>
	259	4.5-5.3	4.6-5.8	5.1-6.2	5.4-6.6	A / D	B / A	E, F, G	<i>T. hallensis</i>
	260	2.9-3.6	3.4-5.2	4-4.9	4.5-5.2	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	264	4.4-4.9	5.2-5.4	3.5-4	5.1-5.9	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	265	2.3-2.7	4-4.1	3.9-4.5	5.7-5.8	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	266	4.2-4.4	4.7-5.3	3.6-4.8	5.1-5.2	A / D	B / A	E, F, G	<i>T. hallensis</i>
	267	3.9-4.3	4.3-4.8	3.4-3.7	5.2-5.8	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	269	4-4.2	4.3-4.9	4.1-4.2	4.9-5.8	A / D	B / A	E, F, G	<i>T. hallensis</i>
	270	3.6-4.3	4.1-4.9	4.7-5.7	4.6-5.5	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>
	274	3.4-4.2	4.6-4.7	2.9-3.8	4.3-5	A / D	B / A	E, F	<i>T. hallensis</i>



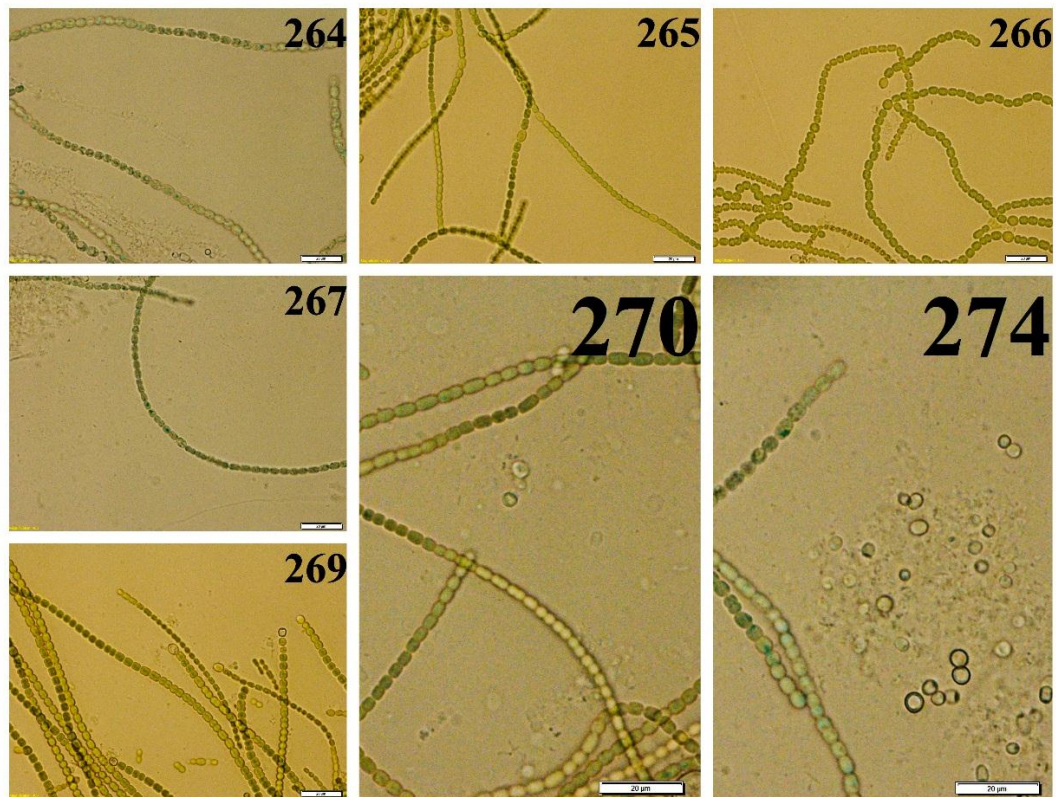
28. Ábra Az MACC 104, 108, 123, 128, 140, 141, és 146 *Trichormus sp.* törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban. A méretskála 20 µm.



29. Ábra Az MACC 155, 160, 174, 177, 183, 211, és 217 *Trichormus sp.* törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban. A méretskála 20  $\mu\text{m}$ .



30. Ábra Az MACC 227, 244, 246, 255, 256, 259, és 260 *Trichormus sp.* törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban. A méretskála 20  $\mu\text{m}$ .



31. Ábra Az MACC 264, 265, 266, 267, 269, 270, és 274 *Trichormus* sp. törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban. A méretskála 20 µm.



### 5.6.3. *Nostoc* csoport

Javaslom, hogy a csoport törzsei *Nostoc sp.* néven szerepeljenek a katalógusban. Jelenlegi megnevezésük: *Anabaena constricta*, *Anabaena sp.* és *Anabaena variabilis* (1. Táblázat). Ezek a törzsek jó példák arra, hogy a *Nostoc* és az *Anabaena* (*Trichormus*) nemzetség képviselői laboratóriumi tenyészetekben alaktani szempontból nem különböznek számottevően, így nehezen különböztethetők meg. Ebben az esetben is csak a fonalak töredezettsége utal arra, hogy *Nostoc* fajról van szó (32 és 33. Ábra). További molekuláris vizsgálatokra van szükség az izolátumok faji szinten történő meghatározásához. A heterociták és vegetatív sejtek méreteit a 8. Táblázat foglalja össze. Zöld színnel jelöltem, hogy az adott törzs az eredményként kapott referenciafajjal milyen mértékben, hány paraméterig egyezik.

Komárek (2013) Süßwasserflora von Mitteleuropa című határozókönyve 24 *Nostoc* fajt ír le, ezek a következők: *Nostoc caeruleum*, *Nostoc calcicola*, *Nostoc carneum*, *Nostoc cf.cordubense*, *Nostoc commune*, *Nostoc edaphicum*, *Nostoc ellipsosporum*, *Nostoc flagelliforme*, *Nostoc gelatinosum*, *Nostoc humifusum*, *Nostoc kihlmanii*, *Nostoc linckia*, *Nostoc microscopicum*, *Nostoc minutissimum*, *Nostoc minutum*, *Nostoc paludosum*, *Nostoc parmelioides*, *Nostoc passerinianum*, *Nostoc pruniforme*, *Nostoc punctiforme*, *Nostoc sphaericum*, *Nostoc sphaeroides*, *Nostoc verrucosum*, *Nostoc zetterstedtii*.

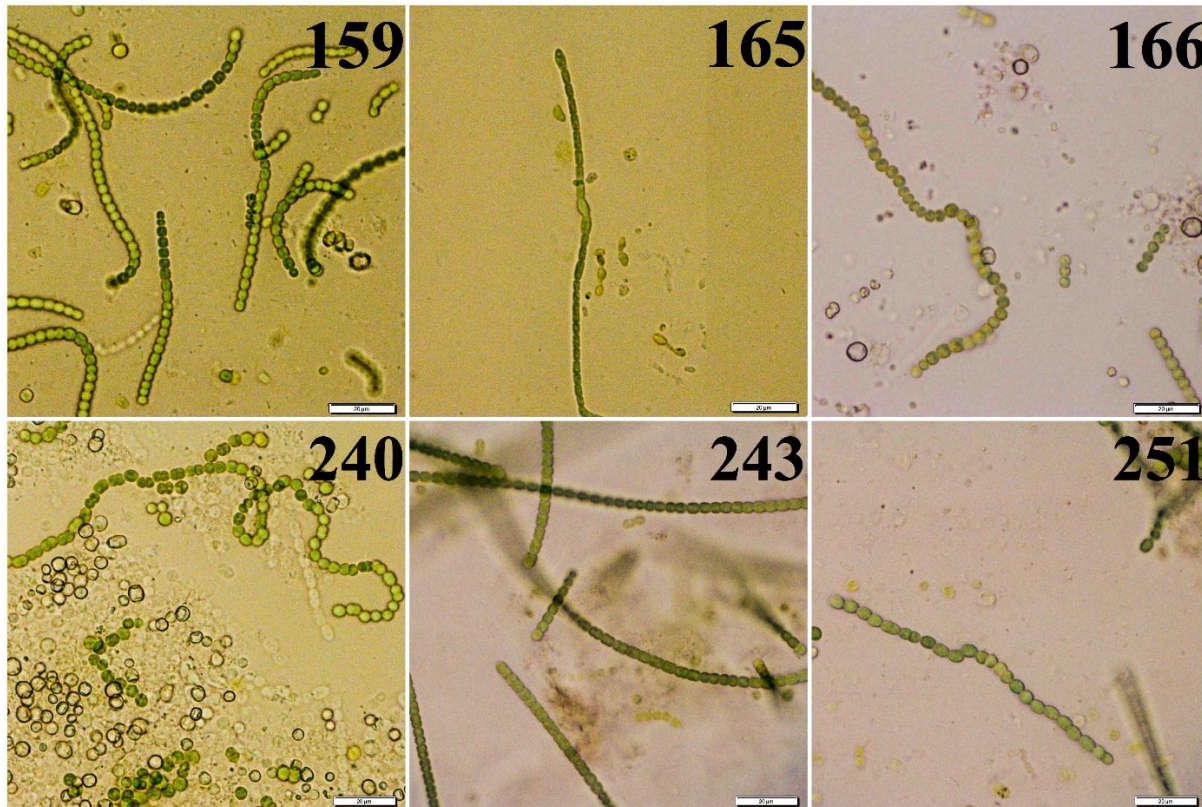
Ezek alaktanát, a filogenetikailag *Nostoc* nemzetség tagjaként azonosított 11 MACC törzs alaktanával összehasonlítottam (32 és 33. Ábra). A legtöbb, összesen 6 törzs (159, 165, 240, 243, 251, 253) a *N. paludosum* fajhoz hasonlított, de közülük is a legtöbb egyezőséget az

MACC 253 mutatta. Esetében mind a 7 vizsgált paraméter a *N. paludosum* fajnál leírt jellemzőkkel összhangban volt, ugyanis a vegetatív sejt szélessége 3-5  $\mu\text{m}$ , a vegetatív sejt hosszúsága 2-6  $\mu\text{m}$ , a heterocita szélessége 4-8.5  $\mu\text{m}$  míg a heterocita hosszúsága 4-8.5  $\mu\text{m}$  közé esett. Ami a vegetatív sejt alakját illeti az hordó, a heterocita alakja hordó/gömbölyded és a heterocita elhelyezkedése fonalvégi/fonalon belüli illetve magányos volt.

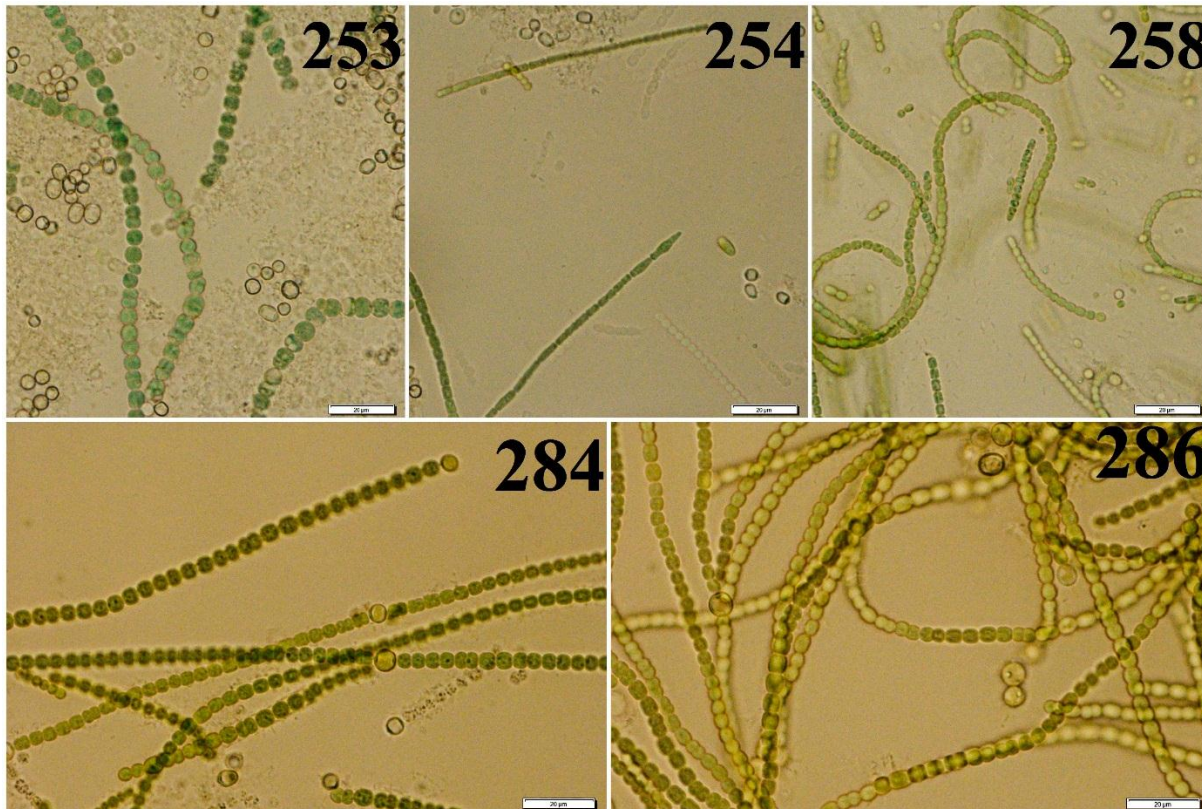
További 2-2 törzs leginkább a *N. commune* (MACC 254, 258) és a *N. parmelioides* (MACC 168, 284) leírásának felelt meg, míg egy törzs (MACC 166) a *N. edaphicum* fajra hasonlított. Összességében elmondható, hogy minden vizsgált törzs esetében volt egy-két paraméteres egyezés – legtöbbször a heterociták fonalon belüli elhelyezkedését illetően – a leírt fajokkal, azonban a legtöbb esetben a *N. caeruleum* és a *N. pruniforme* nem hasonlított egyik vizsgált MACC *Nostoc* törzshöz sem.

8. Táblázat. A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó 11, a *Nostoc* filogenetikai csoportba tartozó cianobaktérium törzs alaktani eredményeinek összefoglalása. A sejtszélesség és sejthossz  $\mu\text{m}$ -ben van megadva. Jelmagyarázat: **A**: hordó, **B**: gömbölyded, **C**: gömbölyű, **D**: kissé hosszúkás, **E**: fonalon belüli, **F**: magányos, **G**: fonalvégi.

Csoport (klaszter)	MACC törzs	Vegetatív sejt szélesség/hossz		Heterocita szélesség/hossz		Vegetatív sejt alakja	Heterocita alakja	Heterocita elhelyezkedése	Alaktani behatárolás
<i>Nostoc</i>	159	3.5-4	2.9-4	4-4.7	4.5-5	A / B / D	A / $\pm$ B	E / F	<i>N. paludosum</i>
	165	2.1-2.9	4-5.3	4.1-5.9	4.8-6	A / B / D	A / $\pm$ B	E / F	<i>N. paludosum</i>
	166	2.8-3.7	4-4.8	4.9-5.4	5.9-6.4	A / B / D	A / $\pm$ B	E / F	<i>N. edaphicum</i>
	240	3.3-4.1	3.9-4.5	3.6-4.6	4.3-6	A / B	C	E / F / G	<i>N. paludosum</i>
	243	3.1-4	3-3.6	5.2-6.1	5.2-6.2	A / B / D	A / $\pm$ B	E / F	<i>N. paludosum</i>
	251	3.2-4.5	3.9-4.6	4.7-5.4	4.6-5.3	$\pm$ A	A / $\pm$ B	E / F / G	<i>N. paludosum</i>
	253	4.9-5.2	5.1-5.5	4-4.2	5.7-6	A / B	$\pm$ B	E / F / G	<i>N. paludosum</i>
	254	2.4-3.6	3.5-4.3	5.3-5.7	5.2-6.1	A / B	$\pm$ B	E / F / G	<i>N. commune</i>
	258	2.7-3.5	3.6-4.2	2.4-3	3.3-3.5	A / B	$\pm$ B	E / F / G	<i>N. commune</i>
	268	3.7-4.2	3.9-4.8	4.9-5.2	5.1-5.8	A / B	$\pm$ B	E / F / G	<i>N. parmelioides</i>
	284	3.5-4.2	3.7-4.8	5.3-6.5	5.2-5.8	A / B	$\pm$ B	E / F / G	<i>N. parmelioides</i>



32. Ábra Az MACC 159, 165, 166, 240, 243 és 251 *Nostoc sp.* törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban. A méretskála 20  $\mu\text{m}$ .



33. Ábra Az MACC 253, 254, 258, 284 és 286 *Nostoc sp.* törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban.

A méretskála 20 µm.

#### 5.6.4. *Desmonostoc* csoport

*Desmonostoc* sp. törzsként azonosítottam az alcsoport tagjait, amelyek eredetileg a katalógusban *Anabaena affinis*, *A. constricta* és *A. variabilis* néven szerepelnek. A genetikai vizsgálat alapján vált lehetővé a nemzetség szintű azonosításuk (4. Táblázat). A közelmúltban a *Nostoc* fajok egy része átkerült a *Desmonostoc* nemzetségbe. *Nostoc* és az *Anabaena* (*Trichormus*) nemzetség képviselői alaktani vizsgálattal nehezen elkülöníthetők. Ezesetben is javaslom a korábbi, alaktani vizsgálatokon alapuló megnevezések helyett az új, filogenetikai vizsgálatokon alapuló megnevezések alkalmazását. A faji szintű meghatározás az alaktani vizsgálattal nem lehetséges, mert tenyészetben a határozáshoz szükséges kitarósejtek (akinéta) nem jelentek meg. A törzs mikroszkópi képe megerősíti a genetikai eredményt, jellegzetes hordóalakú és ovális sejtek, a fonalak gömbalakú és ovális, esetenként fonalvégi heterocitákkal. Ezek a *Desmonostoc* nemzetség főbb jellemvonásai (34. Ábra). A heterociták és vegetatív sejtek méreteit a 9. Táblázat foglalja össze. Zöld színnel jelöltem a 9. Táblázatban, hogy az adott törzs az eredményként kapott referencifajjal milyen mértékben, hány paraméterig egyezik.

Komárek (2013) Süßwasserflora von Mitteleuropa című határozókönyve egy *Desmonostoc* fajt ír le: *Desmonostoc muscorum*. A típusfaj heterocitái 5-6.3 µm szélesek és 6-7 µm hosszúak, míg vegetatív sejtjei 3.5-5 µm szélesek és 4-5 µm hosszúak. A vegetatív sejtek hordó vagy henger, a heterociták pedig gömb és henger alakúak, míg elhelyezkedésük szerint fonalon belüliek, magányosak, de fonalvégiek is lehetnek. A nyolc, *Desmonostoc* filogenetikai csoportba sorolódott MACC

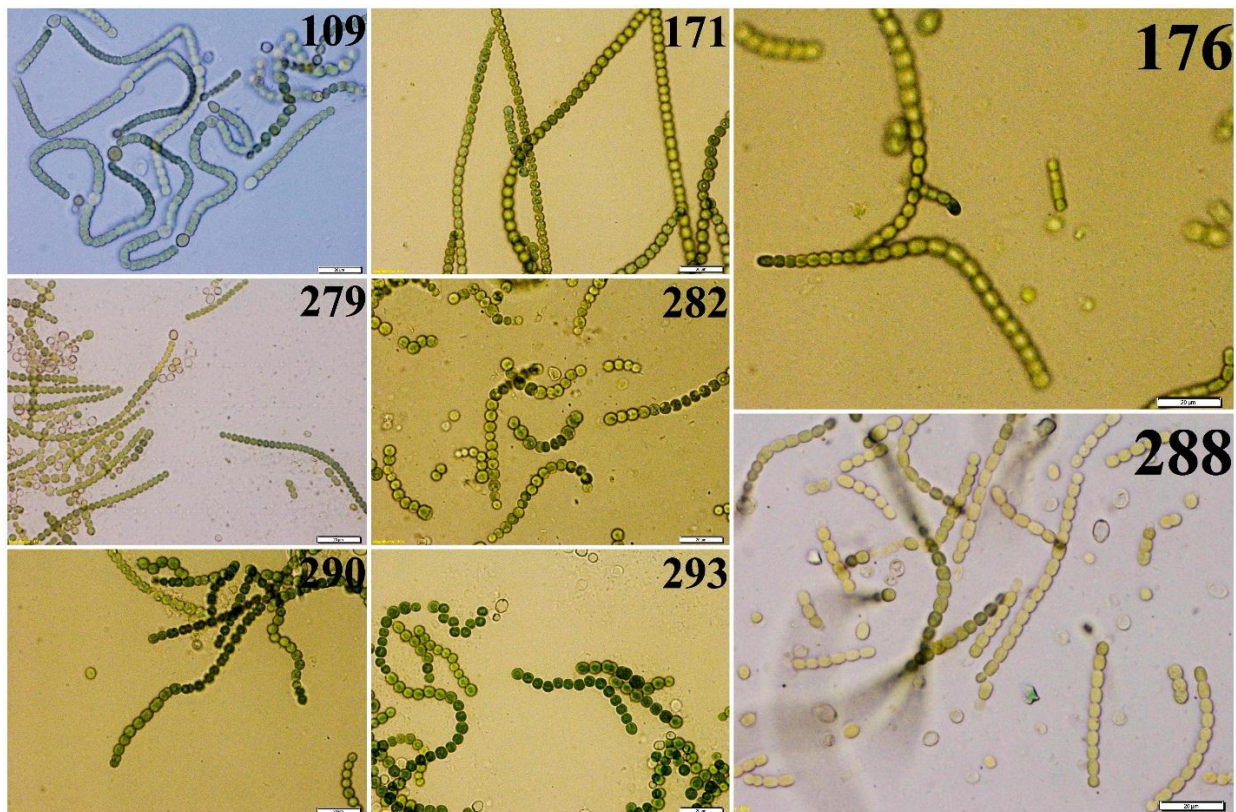
törzs közül a *D. muscorum* típusfajjal a legtöbb (6) paraméterben az MACC 293 hasonlított. Mindössze a vegetatív sejtek hosszértéke volt kisebb (3.6-4.5  $\mu\text{m}$ ) a típusfajhoz képest. Négyparaméteres egyezőséget az MACC 288, 282, 290 és 109 esetében figyeltem meg. Mind a négy törzsnél közös volt, hogy a vegetatív sejtek hordó vagy henger, a heterociták pedig gömb és henger alakúak, míg elhelyezkedésük szerint fonalon belüliek, magányosak, de fonalvégiek is lehetnek. Az MACC 282 és 288 törzsek esetében a típusfajjal a további egyezés az volt, hogy vegetatív sejtjeik szélessége megfelelt a *D. muscorum* vegetatív sejt szélességének (3.5-5  $\mu\text{m}$ ).

Három törzsnél (MACC 279, 176, 171) pedig mindössze három paraméter (vegetatív sejt alakja, heterocita alakja, heterocita elhelyezkedése) volt összhangban a típusfajnál leírtakkal, minden más paraméterben eltértek attól. Összességében elmondható, hogy a *Desmonostoc* volt az egyedüli filogenetikai csoport, ahol a vizsgált hét paraméterből, háromnál kevesebb paraméterhasonlóságot egy esetben sem tapasztaltam. Ehhez nagymértékben hozzájárulhatott, hogy az összehasonlításhoz csak egy leírt faj állt rendelkezésre és kijelenthető, hogy a nyolc vizsgált törzs *D. muscorum* fajnak tekinthető.

9. Táblázat. A Széchenyi István Egyetem MACC gyűjteményéből származó 8, a *Desmonostoc* filogenetikai csoportba tartozó cianobaktérium törzs alaktani eredményeinek összefoglalása. A sejtszélesség és sejthossz  $\mu\text{m}$ -ben van megadva. Jelmagyarázat: **A**: hordó, **B**: hengeres, **C**: gömbölyű, **D**: fonalon belüli, **E**: magányos, **F**: fonalvégi.

Csoport (klaszter)	MACC törzs	Vegetatív sejt szélesség/hossz		Heterocita szélesség/hossz		Vegetatív sejt alakja	Heterocita alakja	Heterocita elhelyezkedése	Alaktani behatárolás
<i>Desmonostoc</i>	109	5-5.9	4.3-5.2	8.1-9.3	8.4-9.5	A / B	C / A	D, E, F	<i>D. muscorum</i>
	171	5-5.5	5.1-6.9	4.6-7.1	7-8.3	A / B	C / A	D, E, F	<i>D. muscorum</i>
	176	5.4-5.8	5.7-6.4	4.7-5.3	5.7-6.4	A / B	C / A	D, E, F	<i>D. muscorum</i>
	279	2.8-3.5	2.2-2.6	3.8-4	4.7-5.5	A / B	C / A	D, E, F	<i>D. muscorum</i>
	282	4.8-5.1	5.8-6.1	4.7-5.5	5.9-7.7	A / B	C / A	D, E, F	<i>D. muscorum</i>
	288	4.2-4.4	5.5-6.4	4.3-5.4	5.6-6.5	A / B	C / A	D, E, F	<i>D. muscorum</i>
	290	5.5-6.1	5-5.6	5.1-6.4	6.9-7.6	A / B	C / A	D, E, F	<i>D. muscorum</i>
	293	3.6-4.3	3.6-4.5	4.8-5.3	6.3-6.5	A / B	C / A	D, E, F	<i>D. muscorum</i>



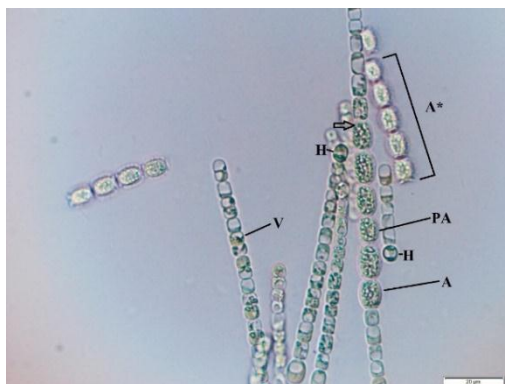


34. Ábra Az MACC 109, 171, 176, 279, 282, 288, 290 és 293 *Desmonostoc* sp. törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban. A méretskála 20  $\mu\text{m}$ .

## 5.7. Az akinétaképzés eredménye

*Foszfor- és vashiányos tápoldat:* Önmagában ez a kísérletkombináció nem eredményezett akinétaképződést. Bár a 10. nap után a törzsek többségénél megfigyelhető volt némi fonaltöredezés – amit általában akinéta képzés is követhet – kitartóképleteket mégsem találtam a vizsgált mintákban sem a 20. sem pedig a 30. napon.

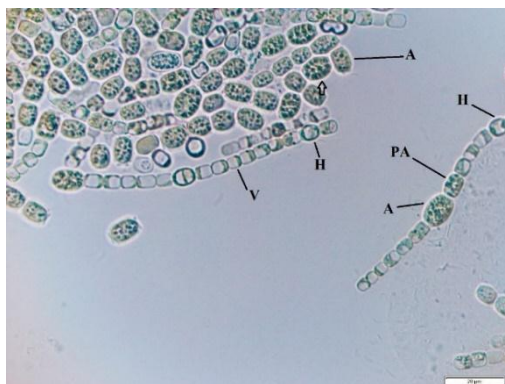
*Alacsonyabb hőmérséklet és tápanyagiány:* A kombinált kísérlet az MACC 110 törzs esetében eredménnyel járt. A 10 °C-on tárolt, fedetlen Petri-csészék a 30. npra teljesen kiszáradtak és a bennük lévő foszfor- és vashiányos agar teljesen elvékonyodott. Az eredményt az alábbi képekkel szemléltetem:



35. Ábra Az MACC 110 fonalainak fénymikroszkópos képe. A: akinéta, A\*: akinéták sorba rendeződve, H: heterocita, PA: proakinéta, Nyílhegy: cianoficin szemcsék, V: vegetatív sejt. Méretskála: 20  $\mu\text{m}$ .



36. Ábra Az MACC 110 fonalainak fénymikroszkópos képe. A: akinéta, H: heterocita, PA: proakinéta, Nyílhegy: cianoficin szemcsék, V: vegetatív sejt. Méretskála: 20  $\mu$ m.



37. Ábra Az MACC 110 fonalainak fénymikroszkópos képe. A: akinéta, H: heterocita, PA: proakinéta, Nyílhegy: cianoficin szemcsék, V: vegetatív sejt. Méretskála: 20  $\mu$ m.

Mindhárom ábrában közös (89-91 Ábrák), hogy a vegetatív sejtek (V) jelentős tápanyagvesztéset szenvedtek a gyors és összetett stressz hatására, néhol csak a vázuk maradt. A pusztuló vegetatív sejtek mellett kb. 14-16  $\mu$ m hosszú és 9-10  $\mu$ m vastag akinéták látszanak, amelyek mellett egyes esetekben úgynevezett proakinéták (fiatal akinéták) is

felfedezhető. Minél sértetlenebb és taxonómiai bélyegeken gazdagabb egy cianobaktérium fonal, annál inkább alkalmas faji szintű meghatározásra. Ezzel szemben az olyan letöredezett akinétákból álló halmaz, mint ami a 70. Ábra bal felső sarkában látható, már nem alkalmas további taxonómiai vizsgálatra.

## 6. AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

### 6.1. Filogenetikai megfigyelések

A vizsgálatom célja az volt, hogy a MACC gyűjtemény *Anabaena* cianobaktérium törzseit nemzetség szinten helyesen beazonosítsam, ugyanis a törzseket molekuláris filogenetikai szempontból még nem vizsgálták korábban. Ebben a tanulmányomban molekuláris elemzéssel pontosítottam 63 MACC törzs nemzetség szintű megnevezését és kiemeltem a törzsgyűjteményekben lévő cianobaktériumok pontos azonosításának szükségességét. A megnevezések javítása hozzájárul a taxonómiai modellek és módszerek finomításához és megfelelő platformot nyújt a jövőbeni munkához. A tanulmányom legfontosabb megállapítása az volt, hogy a részleges 16S rRNS alapján végzett molekuláris elemzés lehetővé tette 63 törzs (amelyek korábban alaktani szempontból az *Anabaena* nemzetséghez voltak rendelve) átsorolását olyan különböző nemzetségekbe, mint a *Desmonostoc*, a *Nostoc* és a *Trichormus*.

A korábbi molekuláris elemzések szintén megerősítették a fent említett három nemzetség közötti különbséget (Rajaniemi és mtsai. 2005a, 2005b, Kastovsky és Johansen 2008, Papaefthimiou és mtsai. 2008). A *Nostoc* nemzetség is polifiletikus és a 16S rRNS-szekvenciákon alapuló filogenetikai vizsgálatok azt mutatták, hogy számos morfortípus kívül esik a "valódi *Nostoc*" klaszteren (Novis és Smissen 2006, Lukesová és mtsai. 2009, Mateo és mtsai. 2011, Ramírez és mtsai. 2011, Osorio-Santos és mtsai. 2014, Silva és mtsai. 2014, Shalygin és mtsai. 2017). Következésképpen, néhány *Nostoc*-rokon morfortípust új nemzetségekhez helyeztek, mint például *Mojavia* és *Desmonostoc* (Reháková és mtsai.

2007, Hrouzek és mtsai. 2013, Genuario és mtsai. 2015). A *Desmonostoc* testvér csoportot alkot a *Nostoc*-kal és filogenetikai elhelyezkedésüket több szerző is megerősítette (Hrouzek és mtsai. 2003, Reháková és mtsai. 2007, Papaefthimiou és mtsai. 2008, Mateo és mtsai. 2011, Komárek 2013, Genuario és mtsai. 2015). Ez a csoport állandóan a *Nostoc sensu stricto*-n kívül esett a 16S rRNS filogenetikai vizsgálatok során és amíg *Nostoc*-tól el nem választották, "Nostoc Group II" -nek nevezték (Reháková és mtsai. 2007, Vaccarino és Johansen 2011, Johansen 2014, Hauer és mtsai. 2014, Bravakos és mtsai. 2016).

A *Nostoc sensu lato*-n belül nehéz csoportokat elkülöníteni csak az alaktani jellemzők alapján, így a genetikai markerek használata nélkülözhetetlenek bizonyul (Genuario és mtsai. 2015). Mivel elemzésemet a részleges 16S rRNS génen végeztem és a génbank jelenleg nem tartalmaz az említett cianobaktériumokról faji szinten megfelelő mennyiségű információt, a törzseket nemzetség szinten osztályoztam.

Javaslom, hogy a törzsgyűjtemények filogenetikai adatokkal frissítsék törzseik megnevezéseit. Bár egyes törzsek nagyon hasonlóak voltak a részleges 16S rRNS génszekvenciájukban és alaktanukban, mint például az MACC 165 és 258 esetében is, ugyanazon taxonként történő összevonásuk nem ajánlott csak egyetlen részleges génszekvencián végzett vizsgálat alapján. A testvérfajok helyes leírásához fontos, hogy ezeket az izolátumokat további genetikai vagy biokémiai vizsgálatoknak alá vessük (Perkerson 2011, Hentschke 2016, Sciuto és Moro 2016). Egy másik probléma az, hogy az alaktanilag leírt *Anabaena*, *Desmonostoc*, *Nostoc* és *Trichormus* fajok többsége vagy nem rendelkezik referenciaszekvenciákkal adatbázisokban vagy azok a szekvenciák, amelyek rendelkezésre állnak, csak néhány genetikai markerre

korlátozódnak (Perkerson 2011, Hentschke 2016, Sciuto és Moro 2016).

Számos téves azonosítás is létezik a GenBank-ban, amely megnehezíti a cianobakteriális taxonómiai munkát és a filogenetikai összehasonlításokat. Sok esetben az új szekvenciaadatokat helytelenül adják hozzá a nyilvános adatbázisokhoz, amely félrevezető azonosítást eredményez. A molekuláris adatbázisokban elérhető óriási mennyiségű információ ellenére a kutatóknak körültekintően kell megközelíteniük az adatokat.

## 6.2. Alaktani megfigyelések

Egy fontos tényező, amely hátráltatta az azonosítási tevékenységemet az az akinéták hiánya volt. Az akinéták mérete és alakja kulcsfontosságú alaktani jelleg, amely az izolátumok fajonkénti megkülönböztetését eredményezi. Ezen kívül az azonos fajokból álló törzstenyészetek (morfofajok) gyakran alaktanilag nagyon képlékenyek, tükrözve a változatos növekedési körülmények hatását és emellett téves azonosítást eredményezhetnek (Zapomelová és mtsai. 2008b). Komárek és Anagnostidis (1989) becslése szerint a gyűjteményekben lévő törzsek több mint 50%-a nem felel meg azoknak a taxonoknak, amelyekhez hozzárendelték őket.

A *Trichormus* nemzetség fajai hasonlóak az *Anabaena* nemzetség fajaihoz, de az akinéta képzésük sokkal inkább a *Nostoc* nemzetségéhez hasonlít (Komárek és Anagnostidis 1989, Hindák 2000). A Mosonmagyaróvári Algagyűjteményben (MACC) elsőként vizsgáltam akinéták jelenlétét. A foszfor- és vashiány előidézésével, ultratiszta (Mili-Q®) vízzel történő atmoszással és alacsony hőmérséklettel kombinálva az

MACC 110 törzs esetében akinétaképződést figyeltem meg. A 14-16  $\mu\text{m}$  hosszú és 9-10  $\mu\text{m}$  széles akinéták mellett egyes esetekben úgynevezett proakinéták (fiatal akinéták) is felfedezhetők voltak. Sajnos ez az egy eset ugyan figyelemre méltó, mégis a mért adatok tekintetében teljesen általános (Komárek 2013) és nem segítette a további azonosítást.

Természetesen más metrikus jellemzők, mint például a vegetatív sejtek és heterociták szélessége és hossza hasznosak a taxonómiai megkülönböztetéshez. Azonban, a további, faji szintű meghatározáshoz nem elegendő a részletes genetikai feltérképezése a törzseknek, hanem épp ilyen fontos az akinéták jelenléte illetve a cianobaktérium fonalán belüli elhelyezkedésüknek a vizsgálata. Fontos kihangsúlyozni, hogy az akinéta (és heterocita) képzés képessége elveszhet genetikai mutáció hatására, ami a törzseket a hosszan tartó, akár több évtizedes törzsfenntartás során éri laboratóriumi tenyészetekben (Meeks és mtsai. 2002). Ezt a tényt támasztja alá, hogy mindössze egy törzs, az MACC 110 esetében sikerült akinétaképzést kiváltanom, amit külön sikerként könyveltem el, annak nehézsége miatt. Természetesen nem zárható ki teljeskörűen, hogy újabb vizsgálatok alkalmazásával és további ásványi anyagok elvonásával más MACC törzsek is mutathatnak még akinétaképzést.

A törzsek alaktani összehasonlítását hét paraméter alapján végeztem el: 1. vegetatív sejt szélesség, 2. vegetatív sejt hosszúság, 3. heterocita szélesség, 4. heterocita hosszúság, 5. vegetatív sejt alakja, 6. heterocita alakja, 7. heterocita elhelyezkedése a fonalon belül. Ezek értelemszerűen nem helyettesíthetik a cianobaktérium taxonómiában diakritikusnak (megkülönböztetőnek) minősített akinéták jelenlétét, fonalon belüli elhelyezkedését, mintázatát, azonban remek kiindulópontot jelentenek a törzsek behatárolására.



A *Trichormus* tavi alcsoport törzseit a hét fent nevezett paraméter összehasonlítása után három esetben *T. botulus*, egy-egy esetben *T. rotundosporus* és *T. steloides*, két esetben *T. pseudovariabilis* illetve kilenc esetben *T. variabilis* fajokként azonosítottam. Ami a *Trichormus* talaj alcsoportját illeti, a 28 vizsgált MACC törzs közül egy-egy esetben *T. polysporus* és *T. variabilis* fajokat figyeltem meg, melyek megfeleltek a Rajaniemi és mtsai. (2005a), Willame és mtsai. (2006), Matula és mtsai. (2007) illetve Komárek (2013) által közölt sejt méret adatokkal. Huszonhat törzsnél a mikroszkópi vizsgálatok során mért adatok a *T. hallensis* fajleírásával volt összhangban (Komárek 2013, Kirjakov és Velichkova 2016, Kozlíková-Zapomelová és mtsai 2016).

Ami a *Nostoc* filogenetikai csoportként beazonosított 11 MACC törzs alaktani behatárolását illeti, egy esetben *N. edaphicum*, 2-2 esetben *N. commune* és *N. parmelioides*, míg 6 esetben *N. paludosum* fajként határoztam be őket Komárek (2013) kutatásai alapul véve. A *N. paludosum* fajra vonatkozóan Flechtner és mtsai. (2008) is közölnek adatokat, amelyek a vegetatív sejt szélességét illetően 3,2-3,5  $\mu\text{m}$ , a vegetatív sejt hosszára vonatkozóan pedig 2,4-3,5  $\mu\text{m}$  voltak. A heterocita szélessége Flechtner és mtsai. (2008) értelmezésében 4  $\mu\text{m}$ , vagyis gömb alakú, míg a heterocita hossza 4-5  $\mu\text{m}$ . Ezzel szemben Komárek (2013) sokkal tágabb skálán mozog, hiszen közleményében a *N. paludosum* fajleírásánál a következő adatokat adta meg: vegetatív sejt szélesség 3-5  $\mu\text{m}$ , vegetatív sejt hossz 2-6  $\mu\text{m}$ , heterocita szélesség 4-8.5  $\mu\text{m}$ , heterocita hossz 4-8.5  $\mu\text{m}$ . Ami a *N. commune* fajt illeti, Czerwik-Marcinkowska és Mrozinska (2011), mindössze csak vegetatív sejtszélességet közöl (4-6  $\mu\text{m}$ ) a faj leírásakor, tehát ezesetben is Komárek (2013) határozókönyve volt az irányadó.

A nyolc, *Desmonostoc* filogenetikai csoportba sorolódott MACC törzs közül a *D. muscorum* típusfajjal a legtöbb (6) paraméterben az MACC 293 hasonlított. Mindössze a vegetatív sejtek hosszértéke volt kisebb (3.6-4.5  $\mu\text{m}$ ) a típusfajhoz képest. Összességében elmondható, hogy a *Desmonostoc* volt az egyedüli filogenetikai csoport, ahol a vizsgált hét paraméterből, háromnál kevesebb paraméterhasonlóságot egy esetben sem tapasztaltam. Nevezetesen, a vegetatív sejt (hordó / hengeres) és a heterocita alakja (gömbölyű / hordó) és a heterocita elhelyezkedése (fonalon belüli, magányos, fonalvégi) is megfelelt a *Desmonostoc* kulcsreferenciájaként számontartott Komárek (2013) művével. Hrouzek és mtsai. (2013) 14 *D. muscorum* törzset vizsgáltak. Az általuk közölt adatok Komárek (2013) adataihoz képes jóval szélesebb skálán mozognak. Esetükben volt olyan törzs, aminek a vegetatív sejt szélessége 2,7  $\mu\text{m}$ -nél, míg a vegetatív sejt hosszúsága 2  $\mu\text{m}$ -nél kezdődött és 8  $\mu\text{m}$  hosszúságú sejteket is megfigyeltek. Ezzel szemben a Komárek (2013) által közölt adatok kisebb skálán (12. Táblázat) mozogtak a *D. muscorum* esetében.

### **6.3. A cianobaktériumok rendszerezésénél alkalmazott nevezéktani szabályok**

A cianobaktériumok rendszertani besorolását két olyan nevezéktani kódex határozta meg a közelmúltban, amelyeket történeti értelemben különálló hagyományokkal bírnak. Ezeket a különböző nómenklatúrális kódexeket különböző elvek szerint alapították és ennek megfelelően eltérőek az előírásaik (Palinska és Surosz 2014). Algákra hasonlító életmódjuk miatt a cianobaktériumokat (Wilmotte, 1994) a Botanikai Nevezéktan Nemzetközi Kódexe (ICN) szerint kezelték a múlt

század hetvenes éveinek végéig (Stanier és mtsai. 1978). Mivel azonban a cianobaktériumok Gram-negatív prokarióták, a Bakteriológiai Nevezéktan Nemzetközi Kódexe (ICNP) szerinti osztályozásuk szintén helytálló (Stanier és mtsai. 1978, Castenholz 2001).

Mivel az említett két nevezéktani megközelítésnek teljesen eltérő jellege van, sok zavart okoznak. A különbségek ellenére mind a botanikai mind pedig a bakteriológiai nómenklatúra módszerei alapvetően járultak hozzá öt, nagymértékben egyező csoport létrehozásához. Ide tartoznak a *Chroococcales* (egysejtű taxonok), a *Pleurocapsales* (többszörös hasadással és baeocitákkal szaporodó taxonok), az *Oscillatoriales* (heterociták nélküli fonalas taxonok), a *Nostocales* (elágazás nélküli vagy álelágazással rendelkező heterocitaképző fonalas taxonok) és a *Stigonematales* (ál- vagy valódi elágazással rendelkező heterocitaképző fonalas taxonok) (Anagnostidis és Komárek 1990).

A cianobaktériumok rendszertanában a fő probléma az, hogy a cianobaktériumok szexuális szaporodása máig nem ismert. Ennek számos következménye van:

1. A hagyományos fajkonceptiók alkalmazhatatlansága (Mayr 1982).
2. A törzsek evolúción mennek keresztül; az átmeneti formák száma és számos ökotípus (Rippka és mtsai. 2001).
3. A természetből izolált populációk laboratóriumi körülmények között drasztikusan megváltoztatják morfológiájukat. Ez az oka annak, hogy a természetből izolált törzsek teljesen különböznek a törzstenyészetektől (Palinska és mtsai. 2006).

Ez utóbbi állítás fokozottan igaz az MACC 82, korábban alaktanilag *Anabaena* nemzetség tagjaiként azonosított cianobaktérium törzseire. Ugyanis csupán egy törzsnél sikerült megfigyelnem a faji szintű azonosításukhoz leginkább szükséges diakritikus határozóbélyeg, az akinéta jelenlétét és ott sem a legmegfelelőbb körülmények között apogogy paraheterocitás formában a fonalakon, hanem a tápoldatban letöredezve.

A cianobaktériumok globális jelentősége ellenére taxonómiájuk továbbra is jelentősen elmarad a genom szekvenálás előrelépéseitől. A nomenklatúrával kapcsolatos problémák és a fajok azonosításának nehézségei mellett ez a problémakör leginkább a hiányzó cianobaktérium referenciatörzsek és referenciaszekvenciák következménye (Mishra 2020). Az ICN szerint besorolt nemzetségek száma körülbelül 270, és jelenleg nincs megbízható becslés az ICN szerint besorolt fajok számáról, amelyek jól dokumentáltak lennének és kielégítő mennyiségű adott fajra jellemző fizikai példánnyal (holotípus), illusztrációval rendelkeznének (Oren 2017). Az ICNP szerint besorolt cianobaktériumok száma nagyon csekély: a *Prochlorotrichaceae* család, valamint a *Halospirulina*, a *Planktotricoides*, a *Prochlorothrix* és a *Rubidibacter* nemzetségek. Ezek mindegyike egyetlen fajt foglal magába: *Halospirulina tapeticola*, *Planktotricoides raciborskii*, *Prochlorothrix hollandica* (Suda és mtsai. 2002, Oren és Tindall 2005, Choi és mtsai. 2008). A leírtakból adódik, hogy jelenleg az MACC korábban alaktanilag *Anabaena* nemzetség tagjaiként azonosított cianobaktérium törzseire is a széles körben alkalmazott Botanikai Nevezéktan Nemzetközi Kódexének (ICN) szabályai az irányadók.

## 6.4. Más gyűjtemények tapasztalatai

A mikroalga törzsgyűjtemények komoly gondja a helyesen azonosított törzsek biztosítása. Például a SAG esetében a legtöbb azonosított törzset olyan szakemberek szolgáltatták, akiket a SAG kért fel erre a feladatra. Annak ellenére, hogy a SAG mindent megtesz a törzsek helyes azonosítása érdekében, a faji szinten nem egyértelműen azonosítható törzsek száma továbbra is jelentős, 16%. Ez a mikroalga taxonómia hírhedt problémája, mivel a megkülönböztető alaktani jellemzőik száma nagyon csekély (Friedl és Lorenz 2012).

A konzervált markergének DNS szekvenciáinak összehasonlítása nagyon jó alternatíva, de ehhez megbízhatóan azonosított törzsek nagyszámú referenciaszekvenciája szükséges. A SAG törzsek 37%-a szolgálhat referenciatörzsként, mert konzervált markergéneket szekvenáltak belőlük és a szekvenciák elérhetők nyilvános adatbázisokban (Day és mtsai. 2004, Hegewald és mtsai. 2010, Rindi és mtsai. 2011, Pniewski és mtsai. 2010). Érdekesség még, hogy a SAG törzsgyűjtemény jókora része klóntörzsként (duplikációk) fellelhető más gyűjteményben (CCAP, UTEX), egyfelől a véletlen elvesztés vagy szennyeződés megelőzése, másfelől a fontos törzsek világszerte történő rendelkezésre állásának biztosítása érdekében (Day és mtsai. 2004).

A cianobaktériumok PCC gyűjteményének fenntartói óriási erőfeszítéseket tettek a cianobaktériumok filogenetikai kapcsolatainak finomítására és 750 PCC törzs 16S rRNS génjét szekvenálták (Surek 2008). Ami a NIES törzsgyűjteményt illeti, a törzsek fajneveit elsősorban a gyűjteményben törzseket elhelyező gyűjtők (depozitorok) adják. Másrészt a NIES törzsgyűjtemény DNS szekvenálással újraértékelte a

NIES törzsek egy részét, főleg a kokkoid zöld algákat. Az újraértékelés során találtak néhány olyan törzset, amelyet alaktani jellemzők alapján tévesen azonosítottak. Az ilyen törzsek esetében megváltoztatták a fajnevet, vagy javaslatokat tettek a megfelelő taxonómiai álláspontra vonatkozóan. Továbbá, szívesen veszik a felhasználók észrevételeit a NIES törzsek fajnevével és taxonómiájával kapcsolatban (URL<sup>1</sup>).

Ezzel szemben az ACOI céljai között inkább a biotechnológiailag értékes vegyületek kutatása és a törzsek fagyaszttva tárolása áll (Santos és Santos 2004). A CAUP gyűjtemény pedig felismerve a mikroalga taxonómiában zajló, alig követhető változásokat, ugyancsak inkább az értékes törzsek fenntartására helyezi a hangsúlyt (Puncocharova 1990). Az UTEX álláspontja pedig az, hogy az elnevezések és a filogenetikai kapcsolatok gyakorlatilag minden taxonómiai szinten állandó változásban vannak az algák többségében. Így véleményük szerint szinte lehetetlen olyan neveket kijelölni, amelyek idővel érvényesek maradnak vagy, amelyek általánosan elfogadottak lesznek a hozzárendelésük idején is. Ezért az UTEX nem alkalmazza a törzsek legújabb közleményekben megjelent elnevezéseit. Továbbá, az UTEX munkatársai nem keresik aktívan a szakirodalomban a felülvizsgált neveket, de amikor tudomást szereznek egy UTEX törzs névváltozásáról, amelyet elismert szakértő ajánlott, akkor az új nevet, valamint a változást leíró, közzétett kéziratra való hivatkozást feltüntetik a törzs leírásában (URL<sup>2</sup>).

Összességében elmondható, hogy az MACC gyűjtemény kihasználatlan potenciállal rendelkezik az alga sokféleségre vonatkozó taxonómiai adatok terén, összehasonlítva az eddig még ilyen szinten nem vizsgált alga törzsgyűjteményekkel. Az MACC gyűjtemény fenntartói a törzsek legmodernebb módszerekkel történő azonosítása mellett, a

biotechnológiailag értékes vegyületek kutatását egyaránt fontosnak tartják.

## 7. KÖVETKEZTETÉSEK

Amint azt több szerző (Castenholz és Norris 2005, Komárek 2006, Oren 2011) is kiemelte, a polifázikus megközelítés a legmegbízhatóbb lehetőség a cianobaktériumok azonosítására. Tanulmányomban azonban rámutattam arra, hogy a molekuláris eljárások alkalmazása annak ellenére, hogy gyorsan terjednek, a természetből izolált cianobaktérium minták pontos és végleges meghatározása továbbra is kihívást jelent. Várható, hogy az egyre növekvő számú faj teljes genomszekvencia-adatai elérhetőek lesznek, illetve hogy a GenBank adatbázisban (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) található tévesen azonosított szekvenciák fokozatosan kiszűrhetővé válnak, majd pedig a promóter DNS-szakaszok is felülvizsgálatra és kizárásra kerülnek. Ezen teljes genomszekvenciakombinációk (az egy faj esetében rendelkezésre álló több génszakaszra vizsgált majd publikált szekvenciák, GenBank-ban történő elérhetősége), valamint a cianobaktériumok azonosítását szolgáló alternatív módszerek segíteni fogják a meghatározást molekuláris szinten is. Azonban amíg ez nem történik meg, addig e mikroszervezetek azonosítása továbbra is vitatható marad. Több molekuláris marker kombinációját kell használni a megfelelő filogenetikai elhatárolás érdekében. Sok, a múltban leírt faj közül jelenleg csupán néhány jól ismert és elfogadott, így mind több taxon szekvenálásával a rendelkezésre álló genomok száma is emelkedni fog és a közeljövőben további felülvizsgálatok várhatóak (Komárek és mtsai. 2014).

Értekezésemben hangsúlyozom a helyes törzsmegjelölések szükségességét a MACC gyűjteményben és más alga törzsgyűjteményben is. A gyűjteménynek ezt a részét még soha nem vizsgálták molekuláris



módszerekkel és a folyamatosan változó taxonómiának köszönhetően felülvizsgálatra szorult. A nemzetségen belüli fajok közötti kapcsolatok nem teljesen egyeznek meg a korábbi alaktani osztályozással. Vizsgálatom feltárta, hogy a törzsek legalább három különböző nemzetséghez tartoznak. A molekuláris eljárások használata megbízhatóbb taxonómiai meghatározást eredményez, és átfogóbb ismereteket nyújt az MACC cianobaktériumok illetve más törzsgyűjteményekben fellelhető cianobaktériumok sokféleségét illetően. Ám a további, faji szintű meghatározáshoz nem elegendő a részletes genetikai feltérképezése a törzseknek, hanem újabb vizsgálatok szükségesek és további ásványi anyagok elvonásával fokozni kell az akinétaképzésüket. Érdeemes lenne vizsgálni a Z8 táptalajon kívül más táptalajokat. Úgyszintén érdekes eredményeket adhatna a sötét- és fényszakasz állandó változtatása a természetestől eltérő ritmusban. A szélsőséges hőhatás, a lassú kiszáradás/szárítás ugyancsak akinétaképződéssel járhat. Ezen kívül, akinétaszpecifikus géneket is meg lehetne vizsgálni.

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

A cianobaktériumok alkalmazási területei rendkívül változatosak, különösen a mezőgazdaságban, az élelmiszer-kiegészítők piacán és a biotechnológiai iparban terjedtek el, de szerepük a biológiai szennyvíztisztításban is egyre nagyobb. Továbbá ismert, hogy bioaktív vegyületek széles skáláját is képesek megtermelni. A cianobaktériumok rendszertani helyének megállapítása korábban alaktani jellemzők alapján történt. A molekuláris módszerek fejlődése magával hozta az alaktani és molekuláris meghatározás együttes alkalmazását. Ma a taxonómiai rendszerezés már a kombinált, ún. „polifázikus” megközelítést alkalmazza, ugyanis a fajok azonosításánál molekuláris, alaktani, élettani, citológiai, toxikológiai és ökofiziológiai adatokat is figyelembe vesznek

A részleges 16S rRNS alkalmazásával 82 MACC izolátumot tanulmányoztam, amelyeket korábban alaktani szempontból az *Anabaena* nemzetség részeként azonosítottak. Az *Anabaena* nemzetség tagjai édesvízi, fonalas, heterocitával rendelkező taxonok. Tanulmányomban megállapítottam, hogy a törzsek korábbi megnevezése már nem időszerű. Három filogenetikailag és alaktanilag hasonló csoportot azonosítottam. Az előző meghatározásokat az új taxonómiai osztályozás alkalmazásával módosítottam. Néhány alaktani jellemző nem volt jelen elegendő mennyiségben, a kultúrákban (például akinéták). A molekuláris adatok szerint a 82 MACC törzs közül nyolc a *Desmonostoc*, tizenegy a *Nostoc* nemzetség tagja, negyvennégy törzs pedig genetikai hasonlóságot mutat a *Trichormus* nemzetséggel. Tizenkilenc törzs pontos meghatározásához további gének vizsgálata szükséges. A kládokat a 16S rRNS hasonlósággal (10. Táblázat) és a p-távolságok kiszámításával (11. Táblázat) határoztam

meg. A vizsgálat legfőbb célja az volt, hogy korszerűsítsem a gyűjtemény törzseinek megnevezését.

A foszfor- és vashiány előidézésével és alacsony hőmérséklettel kombinálva az MACC 110 törzs esetében akinétaképződést figyeltem meg. A vizes atmoszféra szolgálta, hogy vizsgálható szuszpenzió álljon rendelkezésre a mikroszkópos vizsgálatokhoz. Az MACC 110 kiváló alanya lehet későbbi vizsgálatoknak, amelyek arra irányulnak, hogy az akinéta kialakulása és a nyugvó folyamatok mennyiben lehetnek alkalmazhatók az eukarióta sejtek hosszú távú megóvása érdekében.

Kellő mennyiségű akinéta hiányában, a filogenetikai eredményekből kiindulva, elvégeztem 63 törzs alaktani behatárolását 7 paraméter alapján: 1. vegetatív sejt szélesség, 2. vegetatív sejt hosszúság, 3. heterocita szélesség, 4. heterocita hosszúság, 5. vegetatív sejt alakja, 6. heterocita alakja, 7. heterocita elhelyezkedése a fonalon belül. Ennek eredményeként 1-1 törzs a *N. edaphicum*, a *T. polysporus*, a *T. rotundosporus*, a *T. steloides*, 2-2 törzs a *N. commune*, a *N. parmelioides*, a *T. pseudovariabilis*, 3 törzs a *T. botulus*, 6 törzs a *N. paludosum*, 8 törzs a *D. muscorum*, 10 törzs a *T. variabilis*, míg 26 törzs a *T. hallensis* faj leírásának felelt meg a leginkább Komárek (2013) munkája nyomán.

Értekezésem feltárja annak szükségességét, hogy a törzsgyűjtemények, amelyek eredetileg csak alaktani adatokat használtak a fajok azonosítására, vegyék figyelembe a legújabb filogenetikai módszereket is. Ugyancsak áttekintést adok az *Anabaena* nemzetség fajainak kísérleti és biotechnológiai alkalmazásáról, valamint taxonómiai kutatásuk legújabb eredményeiről.

## 9. IRODALOMJEGYZÉK

### 9.1. Tudományos közlemények hivatkozásai

1. Adams D.G., Duggan P.S. 1999: Heterocyst and akinete differentiation in cyanobacteria. *New Phytologist* 144: 3–33.
2. Adams D.G. 2000: Cyanobacterial phylogeny and development: questions and challenges. In: Brun Y. V., Shinkets L. J. (eds) *Prokaryotic development*. American Society for Microbiology, Washington, DC: 51–81.
3. Ahmed M., Stal L.J., Hasnain S. 2010: Association of non-heterocystous cyanobacteria with crop plants. *Plant and Soil* 336: 363–375.
4. Akkerman I., Janssen M., Rocha J., Wijffels R.H. 2002: Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design. *International Journal of Hydrogen Energy* 27: 1195–1208.
5. Altschul S., Madden T.L., Schaffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J. 1997: Gapped BLAST and PSI-Blast: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25: 3389–3402.
6. Anagnostidis K., Komárek J. 1988: Modern approach to the classification system of cyanophytes. Teil 3. Oscillatoriales. *Archiv für Hydrobiologie, Supplement* 80: 327–472.
7. Anagnostidis K., Komárek J. 1990: Modern approach to the classification system of cyanophytes. Teil 5. Stigonematales. *Archiv für Hydrobiologie / Algological Studies* 59: 1–73.

8. Anand N. 1988: Culture studies and taxonomy of blue-green algae – certain identification problems. *Archiv für Hydrobiologie, Supplement 80*: 141–147.
9. Barker G.L.A, Hayes P.K., O’Mahony S.L., Vacharapiyasophon P., Walsby A.E. 1999: A molecular and phenotypic analysis of *Nodularia* (cyanobacteria) from the Baltic Sea. *Journal of Phycology* 35: 931–937.
10. Becerra-Absalón I., Rodarte B., Osorio K., Alba-Lois L., Segal-Kischinevzky C., Montejano G. 2013: A new species of *Brasilonema* (Scytonemataceae, Cyanoprokaryota) from Tolantongo, Hidalgo, Central Mexico. *Fottea* 13: 25-38.
11. Beltrami O. 2008: Assessing taxonomic issues with the genera *Anabaena*, *Aphanizomenon* and *Nostoc* using morphology, 16S rRNA and *efp* genes. MSc Thesis. University of Waterloo. Waterloo, Ontario, Canada.
12. Beltran E.C., Neilan B.A. 2000: Geographical segregation of the neurotoxin-producing cyanobacterium *Anabaena circinalis*. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 4468–4474.
13. Berrendero E., Perona E., Mateo P. 2008: Genetic and morphological characterization of *Rivularia* and *Calothrix* (Nostocales, Cyanobacteria) from running water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58: 447-460.
14. Bohunická M., Pietrasiak N., Johansen J.R., Berrendero-Gomez E., Hauer T., Gaysina L., Lukešová A. 2015: *Roholtiella*, gen. nov. (Nostocales, Cyanobacteria) - a tapering and branching member of the Nostocaceae (Cyanobacteria). *Phytotaxa* 197: 84-103.

15. Bornet É., Flahault C. 1886: Nostocacées Hétérocystées. (*Anabaena*). Annales des Sciences Naturelles, Botanique 7: 177–262.
16. Boyer S., Fletcher V.R., Johansen J.R. 2001: Is the 16S-23S internal transcribed spacer region a good tool for use in molecular systematics and population genetics? A case study in cyanobacteria. *Molecular Biology and Evolution* 18: 1057-69.
17. Bravakos P., Kotoulas G., Skaraki K., Pantizadou A., Amilli. A.E. 2016: A polyphasic taxonomic approach in isolated strains of Cyanobacteria from thermal springs of Greece. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 98: 147-160.
18. Bryant D.A. 1994: *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 879.
19. Burja A.M., Banaigs E.B., Abou-Mansour, Burgess J.G., Wright P.C. 2001: Marine cyanobacteria – a prolific source of natural products. *Tetrahedron* 57: 9347-9377.
20. Butler J.M. 2012: *Advanced topics in forensic DNA typing: methodology*. San Diego, CA: Elsevier Academic Press.
21. Cardemil L., Wolk C.P. 1979: The polysaccharides from heterocyst and spore envelopes of a bluegreen alga. Structure of the basic repeating unit. *Journal of Biological Chemistry* 254: 736–741.
22. Carmichael W. 1997: The cyanotoxins. *Advances in Botanical Research* 27: 211-240.
23. Casamatta D.A., Gomez S.R., Johansen J.R. 2006: *Rexia erecta* gen. et sp. nov. and *Capsosira lowei* sp. nov., two newly described

- cyanobacterial taxa from the Great Smoky Mountains. *Hydrobiologia* 561: 13–26.
24. Casamatta D.A., Johansen J.R., Vis M.L., Broadwater S.T. 2005: Molecular and morphological characterization of ten polar and near-polar strains within the *Oscillatoriales* (Cyanobacteria) 1. *Journal of Phycology* 41: 421-438.
  25. Castenholz R.W. 1989: Subsection IV. Order Nostocales. In: Staley J.T., Bryant M.P., Pfennig N., Holt J.G. (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 3. Williams & Wilkins, Baltimore, Hong Kong, London, Sydney 1780–1793.
  26. Castenholz R.W. 2001: Phylum BX. Cyanobacteria. In: Boone D.R., Castenholz R.W. (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edition, Vol. 1. Springer, New York 473–487.
  27. Castenholz R.W., Norris T.B. 2005: Revisionary concepts of species in the cyanobacteria and their applications. *Archiv für Hydrobiologie*, Supplement 159: 53–69.
  28. Castresana J. 2000: Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution* 17: 540-52.
  29. Cavalier-Smith T. 1998: A revised six-kingdom system of life. *Biological Reviews* 73: 203–266.
  30. Cavalier-Smith T. 2002: The eukaryotic origin of archaeobacteria, the eubacterial root of the universal tree and bacterial megaclassification. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 7–76.

31. Chatchawan T., Peerapornpisal Y., Komárek J. 2011: Diversity of cyanobacteria in man-made solar saltern, Petchaburi Province, Thailand - a pilot study. *Fottea* 11: 203-214.
32. Chauvat F., Corre B., Herdman M., Joset-Espardellier F. 1982: Energetic and metabolic requirements for the germination of akinetes of the cyanobacterium *Nostoc* PCC 7524. *Archives of Microbiology* 133: 44–49.
33. Choi C.W., Yoo S.A., Oh I.H., Park S.H. 1998: Characterization of an extracellular flocculating substance produced by a planktonic cyanobacterium, *Anabaena* sp. *Biotechnology Letters* 20: 643–646.
34. Choi D.H., Noh J.H., Lee C.M., Rho S. 2008: *Rubidibacter lacunae* gen. nov., sp. nov., a unicellular, phycoerythrin-containing cyanobacterium isolated from seawater of Chuuk lagoon, Micronesia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58: 2807–2811.
35. Chorus I., Bartram J. 1999: Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. E & FN Spon, London 416.
36. Codd G.A. 1995: Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. *Water Science and Technology* 32: 149-156.
37. Cronberg G., Komárek J. 2004: Some nostocalean Cyanoprokaryotes from lentic habitats of Eastern and Southern Africa. *Nova Hedwigia* 78: 71-106.
38. Crosbie L.M., Chapin D. 2003: Hydrogen production by nuclear heat. GENES4/ANP2003.



39. Croft K.P.C., Jüttner F., Slusarenko A.J. 1993: Volatile products of the lipoxygenase pathway evolved from *Phaseolus vulgaris* (L.) leaves inoculated with *Pseudomonas syringae* Pv-phaseolicola. *Plant Physiology* 101: 13-24.
40. Czerwik-Marcinkowska J., Mrozinska T. 2011: Algae and Cyanobacteria in caves of the Polish Jura. *Polish Botanical Journal* 56: 203–243.
41. Day J.G., Lukavsky J., Friedl T., Brand T.J., Campbell C.N., Lorenz M., Elster J. 2004: Pringsheim's living legacy: CCALA, CCAP, SAG and UTEX culture collection of algae. *Nova Hedwigia* 79: 27-37.
42. Delwiche C.F., Kuhsel M., Palmer J.D., 1995: Phylogenetic analysis of *tufA* sequences indicates a cyanobacterial origin of all plastids. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4, 110-128.
43. Dodds W.K., Gudder D.A., Mollenhauer D. 1995: The ecology of *Nostoc*. *Journal of Phycology* 31: 2-18.
44. Dvornyk V. 2006: Subfamilies of *cpmA*, a gene involved in circadian output, have different evolutionary histories in cyanobacteria. *Microbiology* 152:75-84.
45. Edgar, R.C. 2004: MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32: 1792-1797.
46. Elenkin A.A. 1934: Ob osnovnykh principakh sistemy Cyanophyceae. *Soviet Botany* 1934: 51–83.
47. Elenkin A.A. 1938: Monographia algarum cyanophycearum aquidulcium et terrestrium in finibus URSS inventarum.

- (Sinezelenye vodorosli SSSR). Izd. AN SSSR, Moskva-Leningrad, Pars spec. 1–2: 1908.
48. Ezhilarasi A., Anand N. 2009: Phylogenetic analysis of *Anabaena* spp. (Cyanobacteria) using sequences of 16S rRNA Gene. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 3: 4026-4031.
  49. Fay P. 1969: Cell differentiation and pigment composition in *Anabaena cylindrica*. Archives of Microbiology 67: 62–70.
  50. Fay P., Van Baalen C. (eds) 1987: The Cyanobacteria. Elsevier, Amsterdam 534.
  51. Fewer D., Friedl T., Büdel B. 2002: *Chroococidiopsis* and heterocyst-differentiating cyanobacteria are each other's closest living relatives. Molecular Phylogenetics and Evolution 23: 82-90.
  52. Fjerdingsstad E. 1966: Cell dimensions of some members of *Aphanizomenon* Morren (Cyanophyceae). Schweizerische Zeitschrift für Hydrobiologie 28: 133–147.
  53. Fletchner V.R., Boyer S.L., Johansen J.R., DeNoble M.L. 2002: *Spirirestis rafaensis* gen. et sp. nov. (Cyanophyceae), a new cyanobacterial genus from arid soils. Nova Hedwigia 74: 1–24.
  54. Flechtner V.R., Johansen J.R., Belnap J. 2008: The biological soil crusts of the San Nicolas Island: Enigmatic algae from a geographically isolated ecosystem. Western North American Naturalist 68: 405-436.
  55. Forastiere F., Badaloni C., de Hoogh K., von Kraus M.K., Martuzzi M., Mitis F. 2011: Health impact assessment of waste management facilities in three European countries. Environmental Health 10: 53.

56. Fox G.E., Wisotzkey J.D., Jurtshuk P. Jr. 1992: How close is close: 16S rRNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 42: 166-170.
57. Frankmölle W.P., Larsen L.K., Caplan F.R., Patterson G.M.L., Knübel G., Levine I.A., Moore R.E. 1992: Antifungal cyclic peptides from the terrestrial blue-green alga *Anabaena laxa*. I. Isolation and biological properties. *Journal of Antibiotics* 45: 1451–1457.
58. Friedl T., Lorenz M. 2012: The Culture Collection of Algae at Göttingen University (SAG): a biological resource for biotechnological and biodiversity research. *Procedia Environmental Sciences* 15: 110 – 117.
59. Garczarek L., van der Staay G.W.M., Hess W.R., Gall F.L., Partensky F. 2001: Expression and phylogeny of the multiple antenna genes of the low-light-adapted strain *Prochlorococcus marinus* SS120 (Oxyphotobacteria). *Plant Molecular Biology* 46: 683-693.
60. Geitler L. 1925: Synoptische Darstellung der Cyanophyceen in morphologischer und systematischer Hinsicht. Beihefte zum Botanischen Centralblatt 41: 163–294.
61. Geitler L. 1932: Cyanophyceae. Koeltz Scientific Books, Berlin.
62. Genuario D.B., Vas M.G.M.V., Hentschke G.S., Sant’Anna C.L., Fiore M.F. 2015: *Halotia* gen. Nov., a phylogenetically and physiologically coherent cyanobacterial genus isolated from marine coastal environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 65: 663-675.

63. Gugger M.F., Hoffmann L. 2004: Polyphyly of true branching cyanobacteria (*Stigonematales*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 349-357.
64. Gugger M., Lyra C., Suominen I., Tsitko I., Humbert J.F., Salkinoja-Salonen M.S., Sivonen K. 2002: Cellular fatty acids as chemotaxonomic markers of the genera *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Nostoc* and *Planktothrix* (Cyanobacteria). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 1007–1015.
65. Gupta V., Ratha S.K., Sood A., Chaudhary V., Prasanna R. 2013: New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (blue-green algae). Prospects and challenges. Review article. *Algal Research* 2: 79–97.
66. Haselkorn R. 1978: Heterocysts. *Annual Review of Plant Physiology* 29: 319–344.
67. Hauer T., Mareš J., Bohunická M., Johansen J.R., Berrendero-Gomez E. 2014: Heterogeneity of the cyanobacterial genus *Microchaete*: reassessment of the family Microchaetaceae and establishment of new families Tolypothrichaceae and Godleyaceae. *Journal of Phycology* 50: 1089–1100.
68. Hegewald E., Wolf M., Keller A., Friedl T., Krienitz L. 2010: ITS2 sequence-structure phylogeny in the *Scenedesmaceae* with special reference to *Coelastrum* (Chlorophyta, *Chlorophyceae*), including the new genera *Comasiella* and *Pectinodesmus*. *Phycologia* 49: 325-35.
69. Henson B.J., Hesselbrock S.M., Watson L.E., Barnum S.R. 2004: Molecular phylogeny of the heterocystous cyanobacteria

- (subsections IV and V) based on nifD. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 493-497.
70. Hentschke G.S., Johansen J.R., Pietrasiak N., Fiore M.F., Rigonato J., Sant'Anna C.L., Komárek J., 2016: Phylogenetic placement of *Dapisostemon* gen. nov. and *Streptostemon*, two tropical heterocytous genera (Cyanobacteria). *Phytotaxa* 245: 129-143.
71. Herdman M. 1987: Akinetes: structure and function. In: Fay P, van Baalen C. (eds) *The cyanobacteria*. Elsevier, Amsterdam 227–250.
72. Herdman M. 1988: Cellular differentiation: akinetes. *Methods in Enzymology* 167: 222–232.
73. Hindák F. 2000: Morphological variation of four planktic nostocalean cyanophytes – members of the genus *Aphanizomenon* or *Anabaena*? *Hydrobiologia* 438: 107–116.
74. Hori K., Ishii S., Ikeda G., Okamoto J., Tanji Y., Weeraphasphong C., Unno H. 2002: Behavior of filamentous cyanobacterium *Anabaena* spp. in water column and its cellular characteristics. *Biochemical Engineering Journal* 10: 217–225.
75. Hori K., Ji O., Tanji Y., Unno H. 2003: Formation, sedimentation and germination properties of *Anabaena* akinetes. *Biochemical Engineering Journal* 14: 67–73.
76. Hrouzek P., Lukesová A., Mares J., Ventura S. 2013: Description of the cyanobacterial genus *Desmonostoc* gen. nov. including *D. muscorum* comb. nov. as a distinct, phylogenetically coherent taxon related to the genus *Nostoc*. *Fottea* 13: 201-213.
77. Hrouzek P., Simek M., Komarek J. 2003: Nitrogenase activity (acetylene reduction activity) and diversity of six soil *Nostoc* stains. *Algological Studies* 108: 87-101.

78. Huelsenbeck J.P., Ronquist F. 2001: MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17: 754-755.
79. Jäger K., Bartók T., Ördög V., Barnabás B. 2010: Improvement of maize (*Zea mays* L.) anther culture responses by algae-derived natural substances. *South African Journal of Botany* 76: 511–516.
80. Johansen J.R., Bohunická M., Lukešová A., Hřčková K., Vaccarino M.A., Chesarino N.M., 2014: Morphological and molecular characterization within 26 strains of the genus *Cylindrospermum* (Nostocaceae, Cyanobacteria), with descriptions of three new species. *Journal of Phycology*. 50: 187-202.
81. John D.M., Whitton B.W., Brook A. J. 2002: The freshwater algae of the British Isles. Cambridge University Press, Cambridge 702.
82. Joosten A.M.T. 2006: Flora of the blue-green algae of the Netherlands. 1. The non-filamentous species of inland waters. KNNV Publishing, Utrecht 240.
83. Kaneko T., Nakamura Y., Wolk C.P., Kuritz T., Sasamoto S., Watanabe A., Iriguchi M., Ishikawa A., Kawashima K., Kimura T., Kishida Y., Kohara M., Matsumoto M., Matsuno M., Muraki A., Nakazaki N., Shimpo S., Sugimoto M., Takazawa M., Yamada M., Yasuda M., Tabata S. 2001: Complete genomic sequence of the filamentous nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *DNA Research* 8: 205-253.
84. Kastovsky J., Johansen J.R. 2008: *Mastigocladus laminosus* (Stigonematales, Cyanobacteria): phylogenetic relationship of strains from thermal springs to soil-inhabiting genera of the order

- and taxonomic implications for the genus. *Phycologia* 47: 307–320.
85. Katona Sz. 2013: Gibberellinsav és mikroalga kezelés hatása néhány fűszernövény magjának csírázására. Szakdolgozat. Nyugat-magyarországi Egyetem. Mosonmagyaróvár.
86. Kearsse M., Moir R., Wilson A., Stones-Havas S., Cheung M., Sturrock S., Buxton S., Cooper A., Markowitz S., Duran C., Thierer T., Ashton B., Mentjies P., Drummond A. 2012: Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28: 1647-1649.
87. Kirjakov I.K., Velichkova K.N. 2016: A new cyanobacterial species of *Anabaena* genus (Nostocales, Cyanobacteria) from Bulgaria. *Anales de Biología* 38: 69-72.
88. Komárek J. 1958: Algologische Studien: Algologická studia. Verlag der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, 358.
89. Komárek J. 1996: Klíč určování vodních kvetů sinic v České republice. [A key for determination of water-bloom-forming cyanobacteria in the Czech Republic]. In: Maršálek B., Keršner V., Marvan P. (eds) Vodní kvety sinic. [Cyanobacterial water blooms], *Nadatio flos-aquae*, Brno 22–85 (in Czech).
90. Komárek J. 2006: Cyanobacterial taxonomy: current problems and prospects for the integration of traditional and molecular approaches. *Algae* 21: 349–375.

91. Komárek J. 2013: Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bd. 19/3: Cyanoprokaryota 3. Teil / 3rd part: Heterocytous Genera. Springer Spektrum.
92. Komárek J., Anagnostidis K. 1986: Modern approach to the classification system of cyanophytes. Teil 2. Chroococcales. Archiv für Hydrobiologie / Algological Studies 43: 157–226.
93. Komárek J., Anagnostidis K. 1989: Modern approach to the classification system of Cyanophytes. Teil 4. Nostocales. Archiv für Hydrobiologie Supplement 82: 247–345.
94. Komárek J., Anagnostidis K. 2005: Süßwasserflora von Mitteleuropa. Cyanoprokaryota: 2. Teil/2nd Part: Oscillatoriales. Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, München 19: 759.
95. Komárek J., Kastovsky J., Mares J., Johansen J.R. 2014: Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera), using a polyphasic approach. Preslia 86: 295–335.
96. Komárek J., Komárková J. 2006: Diversity of *Aphanizomenon* – like Cyanobacteria. Czech Phycology, Olomouc, 6: 1–32.
97. Komárek J., Kováčik L. 1989: Trichome structure of four *Aphanizomenon* taxa (Cyanophyceae) from Czechoslovakia, with notes on the taxonomy and delimitation of the genus. Plant Systematics and Evolution 164: 47–64.
98. Komárek J., Mares J. 2011: An update to modern taxonomy of freshwater planktic heterocytous cyanobacteria. Hydrobiologia 698: 327–351.
99. Komárek J., Zapomelová E. 2007: Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus *Anabaena* = subg. *Dolichospermum* – 1. part: coiled types. Fottea 7: 1–31.



100. Komárek J., Zapomelová E. 2008: Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus *Anabaena* = subg. *Dolichospermum* – 2. part: straight types. *Fottea* 8: 1–14.
101. Korelusová J. 2008: Phylogeny of heterocytous Cyanobacteria (Nostocales and Stigonematales). University of South Bohemia, České Budejovice, 33.
102. Kotai J. 1972: Instructions for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae. NIVA B-11/69.
103. Kozhevnikov I.V., Kozhevnikov N.A. 2011: Phylogenetic and morphological evaluation of *Wollea saccata* (Nostocales, Cyanobacteria) isolated from the Yenissei River basin (Eastern Siberia, Russia). *Fottea* 11: 99-106.
104. Kozlíková-Zapomelová E., ChatChawan T., Kastovsky J., Komárek J. 2016: Phylogenetic and taxonomic position of the genus *Wollea* with the description of *Wollea salina* sp. nov. (Cyanobacteria, *Nostocales*). *Fottea* 16: 43–55.
105. Kumar S., Stecher G., Tamura K. 2015: MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution*.
106. Larsson J., Nylander J.A., Bergman B. 2011: Genome fluctuations in cyanobacteria reflect evolutionary, developmental and adaptive traits. *BMC Evolutionary Biology* 11: 187.
107. Lauterborn R. 1915: Die sapropelische Lebewelt. Ein Beitrag zur Biologie des Faulschlammes natürlicher Gewässer. *Verhandlungen des Naturhistorisch-Medizinischen Vereins zu Heidelberg ser. 2* 13: 395–481, pl. III.

108. Leflaive J., Ten-Hage L. (2007): Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: a comparison of allelopathic compounds and toxins. *Freshwater Biology* 52: 199-214.
109. Lepossa A. 2003: Talajalgák mennyiségi vizsgálata a Balaton-felvidéki Nemzeti Parkban, valamint talajból izolált algatenyészetek növényi növekedést befolyásoló hatásainak kimutatása. PhD értekezés, Veszprémi Egyetem, Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok Doktori Iskola, Keszthely, 124.
110. Li R., Watanabe M., Watanabe M.M. 1997: Akinete formation in planktonic *Anabaena* spp. (Cyanobacteria) by treatment with low temperature. *Journal of Phycology* 33: 576–584.
111. Li R., Watanabe M.M. 2001: Fatty acid profiles and their chemotaxonomy in planktonic species of *Anabaena* (Cyanobacteria) with straight trichomes. *Phytochemistry* 57: 727–731.
112. Livingstone D., Jaworski G.H.M. 1980: The viability of akinetes of blue-green algae recovered from the sediments of Rostherne Mere. *British Phycological Journal* 15: 357–364.
113. Lockhart P.J., Beanland T.J., Howe C.J., Larkum A.W.D. 1992: Sequence of *Prochloron didemni* atpBE and the inference of chloroplast origins. *PNAS* 89: 2742-2746.
114. Lodders N., Stackebrandt E., Nubel U. 2005: Frequent genetic recombination in natural populations of the marine cyanobacterium *Microcoleus chthonoplastes*. *Environmental Microbiology* 7: 434-442.

115. Lukesová A., Johansen J.R., Martin M.P., Casamatta D.A. 2009: *Aulosira bohemensis* sp. nov.: further phylogenetic uncertainty at the base of the Nostocales (Cyanobacteria). *Phycologi.* 48: 118–129.
116. Lürling M., Van Oosterhout F., Faassen E. 2017: Eutrophication and warming boost cyanobacterial biomass and microcystins. *Toxins* 9: 64-80.
117. Lyra C., Laamanen M., Lehtimäki J., Surakka A., Sivonen K. 2005: Benthic cyanobacteria of the genus *Nodularia* are non-toxic, without gas vacuoles, able to glide and genetically more diverse than planktonic *Nodularia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55: 555-568.
118. Malone C.F.S., Rigonato J., Laughinghouse IV H.D., Schmidt E., Bouzon Z.L., Wilmette A., Fiore M.F., Sant'Anna C.L. 2015: *Cephalothrix* gen. nov. (Cyanobacteria): towards an intraspecific phylogenetic evaluation by multilocus analyses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 65: 2993-3007.
119. Mateo P., Perona E., Berrendero E., Leganés F., Martín M., Golubić S. 2011: Life cycle as stable trait in the evaluation of diversity of *Nostoc* from biofilms in rivers. *FEMS Microbial Ecology* 76: 185-98.
120. Matula J., Pietryka M., Richter D., Wojtun B. (2007): Cyanoprokaryota and algae of Arctic terrestrial ecosystems in the Hornsund area, Spitsbergen. *Polish Polar Research* 28: 283-315.

121. Mayr E. 1982: The Growth of Biological Thought: Diversity, Evolution, and Inheritance (Belknap Press of Harvard Univ. Press, Cambridge, MA).
122. Meeks J.C., Campbell E.L., Summers M.L., Wong F.C.Y. 2002: Cellular differentiation in the cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. Archives of Microbiology 178: 395–403.
123. Metting F.B. 1994: Algae and cyanobacteria. In: Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties. SSSA, 427–458.
124. Milkovics J., Molnár Z., Ördög V. 2012: Mikroalga biomasza hatásának a vizsgálata dohány szövettenyészetek táptalajaiban. XXXIV. Óvári Tudományos Nap. Mosonmagyaróvár, 2012. október 5.
125. Miscoe L.H., Johansen J.R., Vaccarino M.A., Pietrasiak N., Sherwood A.R. 2016: Novel cyanobacteria from caves on Kauai, Hawaii. Bibliotheca Phycologica 120: 75-152.
126. Mishra S. 2020: Chapter 1 - Cyanobacterial imprints in diversity and phylogeny. Advances in Cyanobacterial Biology 1-15.
127. Molnár Z., Ördög V. 1996: Cytokinin-like activity of eight *Anabaena* strains estimated by bioassays. Acta Agronomica Óváriensis 37: 137–142.
128. Moore R.E., Patterson G.M.L., Carmichael W.W. 1988: New pharmaceuticals from cultured blue-green algae. In: Fautin D.G. (Edit): Biomedical importance of marine organisms. Memoirs of the Southern California Academy of Sciences 13: 143-150.

129. Morden C.W., Golden S.S. 1991: Sequence analysis and phylogenetic reconstruction of the genes encoding the large and small subunits of ribulose1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from the chlorophyllb-containing prokaryote *Prochlorothrix hollandica*. *Journal of Molecular Evolution* 32: 379-395.
130. National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [1988] – [cited 2017 Nov 03]. Internetes elérhetőség: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
131. Neilan B.A., Jacobs D., Goodmann A. 1995: Genetic diversity and phylogeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within the pycocyanin locus. *Applied Environmental Microbiology* 61: 3875-3883.
132. Nichols J.M., Adams D.G., Carr N.G. 1980: Effect of canavanine and other amino acid analogues on akinete formation in the cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *Archives of Microbiology* 127: 67–75.
133. Niva 1976: Estimation of algal growth potential. Norwegian Institute for Water Research Publ. D2-25.
134. Novis P., Smissen R., 2006: Two genetic and ecological groups of *Nostoc commune* in Victoria Land, Antarctica, revealed by AFLP analysis. *Antarctic Science* 18: 573-581.
135. Otsuka S., Suda S., Shibata S., Oyaizu H., Matsumoto S., Watanabe M.M. 2001: A proposal for the unification of five species of the cyanobacterial genus *Microcystis* Kützing ex

- Lemmermann 1907 under the rules of the Bacteriological Code. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 873–879.
136. Ördög V. 1993: Busaetetési kísérletek alga-és cyanobaktérium-tenyészetekkel. XVII. Halászati Tudományos Tanácskozás HAKI, Szarvas, 1–8.
137. Ördög V., Molnár Z., Pulz O. 1995: Microalgal plant growth regulators (PGRs) for agricultural purposes. Conference on Plant in Vitro Culture in Memory of the 50th Anniversary of Gottlieb Haberlandts Death, September 1–3, 1995. Mosonmagyaróvár 1–6.
138. Ördög V., Pulz O. 1995: Potential use of microalgae in the crop production. 2nd European Workshop Biotechnology of Microalgae, September 11–12, Bergholz-Rehbrücke, 123–126.
139. Ördög V., Stirk W., Lenobel A., Bancírová R. M., Strnad M., Staden J. van, Szigeti J., Németh L. 2004: Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. *Journal of Applied Phycology* 16: 309–314.
140. Ördög V. 1982: Apparatus for laboratory algal bioassays. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie* 67: 127-136.
141. Ördög V. 2015: Dissertation: Mikroalgák biotechnológiai alkalmazása a növénytermesztésben és növényvédelemben. Hungarian Academy of Sciences.
142. Oksanen I., Lohtander K., Sivonen K., Rikkinen J. 2004: Repeat-type distribution in trnL intron does not correspond with species phylogeny: comparison of the genetic markers 16S rRNA

- and trnL intron in heterocystous cyanobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 765-772.
143. Oren A. 2011: Cyanobacterial systematics and nomenclature as featured in the *International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy / International Journal of Systematic Bacteriology / International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 61: 10–15.
144. Oren A., Tindall B.J. 2005: Nomenclature of the cyanophyta/cyanobacteria/cyanoprokaryotes under the International Code of Nomenclature of Prokaryotes. *Algological Studies* 117: 39–52.
145. Oren A., Ventura S. 2017: The current status of cyanobacterial nomenclature under the “prokaryotic” and the “botanical” code. *Antonie van Leeuwenhoek* 110:1257-1269.
146. Osorio-Santos K., Pietrasiak N., Bohunická M., Miscoe L., Kovacik L., Martin M.P., Johansen J.R. 2014: Seven new species of *Oculatella* (Pseudanabaenales, Cyanobacteria): taxonomically recognizing cryptic diversification. *European Journal of Phycology* 49: 450–470.
147. Padisák J. 1997: *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Archiv für Hydrobiologie* 107: 563–593.
148. Palinska K.A., Surosz W. 2014: Taxonomy of cyanobacteria: a contribution to consensus approach. *Hydrobiologia* 740: 1–11.

149. Palinska K.A., Thomasius C.F., Marquardt J., Golubic S. 2006: Phylogenetic evaluation of cyanobacteria preserved as historic herbarium exsiccata. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56: 2253–2263.
150. Pereyra J.P.A, D'Agostino P.M., Mazmouz R., Woodhouse J.N., Pickford R., Jameson I., Neilan B.A. Molecular and morphological survey of saxitoxin-producing cyanobacterium *Dolichospermum circinale* (*Anabaena circinalis*) isolated from geographically distinct regions of Australia. *Toxicon* 138: 68-77.
151. Peterson P. (ed.) 2001: Biological soil crusts: ecology and management. Technical Reference 1730–2111.
152. Papaefthimiou D., Hrouzek P., Mugnai M.A., Lukesova A., Turicchia S., Rasmussen U., Ventura S. 2008: Differential patterns of evolution and distribution of the symbiotic behaviour in Nostocacean cyanobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58: 553–564.
153. Perkerson R., Johansen J.R., Kovacik L., Brand J., Casamatta D.A. 2011: A unique Pseudanabaenalean (Cyanobacteria) genus *Nodosilinea* gen. nov. based on morphological and molecular data. *Journal of Phycology*. 47: 1397-1412.
154. Pniewski F.F., Friedl T., Latala A. 2010: Identification of diatom isolates from the Gulf of Gdansk: testing of species identifications using morphology, 18S rDNA sequencing and DNA barcodes of strains from the Culture Collection of Baltic Algae (CCBA). *Oceanological and Hydrobiological Studies* 39: 3-20.



155. Póthe P., Gergely I., Ördög V. 2018: Mikroalga kezelések hatása napraforgóra szántóföldi kísérletben. XXXVII. Óvári Tudományos Nap. Mosonmagyaróvár, 2018. november 9-10.
156. Prasanna R., Chaudhary V., Gupta V., Babu S., Kumar A., Singh R., Shivay Y.S., Nain L. 2013: Cyanobacteria mediated plant growth promotion and bioprotection against *Fusarium* wilt in tomato. *European Journal of Plant Pathology* 136: 337–353.
157. Prasanna R., Jaiswal P., Singh Y. V., Singh P.K. 2008: Influence of biofertilizers and organic amendments on nitrogenase activity and phototrophic biomass of soil under wheat. *Acta Agronomica Hungarica* 56: 149–159.
158. Prasanna R., Nayak S. 2007: Influence of diverse rice soil ecologies on cyanobacterial diversity and abundance. *Wetlands Ecology and Management* 15: 127–134.
159. Puncocharova M. 1990: Culture Collection of Algae at the Department of Botany, Faculty of Natural Sciences, Charles University of Prague (CAUP). *Archiv für Protistenkunde* 138: 143-158.
160. Rai A.N., Rao V.V., Singh H.V. 1985: The biology of cyanobacterial akinetes. *The Journal of Plant Research* 1: 1–20.
161. Rai L.C., Mallick N. 1992: Removal and assessment of toxicity of Cu and Fe to *Anabaena doliolum* and *Chlorella vulgaris* using free and immobilized cells. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 8: 110–114.
162. Rajaniemi P., Hrouzek P., Kaštovská K., Willame R., Rantala A., Hoffmann L., Komárek J., Sivonen K. 2005a: Phylogenetic and morphological evaluation of the genera

- Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Trichormus* and *Nostoc* (Nostocales, Cyanobacteria). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 55: 11–26.
163. Rajaniemi P., Komárek J., Willame R., Hrouzek P., Kaštovská K., Hoffmann L., Sivonen K. 2005b: Taxonomic consequences from the combined molecular and phenotype evaluation of selected *Anabaena* and *Aphanizomenon* strains. Algological Studies 117: 371–391.
164. Ramírez M., Hernández M.M., Mateo P., Berrendero E., Roldán M. 2011: Polyphasic approach and adaptative strategies of *Nostoc cf. commune* (Nostocales, Nostocaceae) growing on Mayan monument. Fottea 11: 73-86.
165. Raymond J., Siefert J.L., Staples C.R., Blankenship R.E. 2004: The natural history of nitrogen fixation. Molecular Biology and Evolution 21: 541-554.
166. Reháková K., Johansen J.R., Casamatta D.A., Xuesong L., Vincent J. 2007: Morphological and molecular characterization of selected desert soil cyanobacteria: Three species new to science including *Mojavia pulchra* gen. et sp. nov. Phycologia 46: 481-502.
167. Rindi F., Mikhailyuk T.I., Sluiman H.J., Friedl T., López-Bautista J.M. 2011: Phylogenetic relationships in *Interfilum* and *Klebsormidium* (*Klebsormidiophyceae*, Streptophyta). Molecular Phylogenetics and Evolution 58: 218-31.
168. Rippka R., Castenholz R.W., Herdman M. 2001: Subsection IV (formerly Nostocales Castenholz 1989b sensu Rippka, Deruelles, Herdman and Stanier 1979). In: Staley J. T.,

- Bryant M. P., Pfennig N., Holt J. G. (eds) Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md. 562–566.
169. Rippka R., DeReuelles J., Waterbury J.B., Herdman M., Stanier R. 1979: Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Microbiology* 111: 1–61.
170. Rippka R., Herdman M. 1985: Division patterns and cellular differentiation in cyanobacteria. *Annales de l'Institut Pasteur / Microbiologie* 136A: 33-39.
171. Risser D.D., Wong F.C.Y, Meeks J.C. 2012: Biased inheritance of the protein PatN frees vegetative cells to initiate patterned heterocyst differentiation. *PNAS* 109: 15342-15347.
172. Robertson B.R., Tezuka N., Watanabe M.M. 2001: Phylogenetic analyses of *Synechococcus* strains (cyanobacteria) using sequences of 16S rDNA and part of the phycocyanin operon reveal multiple evolutionary lines and reflect phycobilin content. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 861-871.
173. Roeselers G., Norris T. B., Castenholz R. W., Rysgaard S., Glud R. N., Kuhl M., Muyzer G. 2007: Diversity of phototrophic bacteria in microbial mats from Arctic hot springs (Greenland). *Environmental Microbiology* 9: 26–38.
174. Ronquist F., Huelsenbeck J.P. 2003: MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 19: 1572-1574.

175. Santos L.M.A., Santos F.M. 2004: The Coimbra Culture Collection of Algae (ACOI). *Nova Hedwigia* 79: 39-47.
176. Schmidthoffer I., Skribanek A., Kovács B. 2018: A szárazságstressz vizsgálata alga-szuszpenzióval kezelt tavaszi árpafajtákon. XXXVII. Óvári Tudományos Nap. Mosonmagyaróvár, 2018. november 9-10.
177. Sciuto K., Moro I. 2016: *Thermoletolyngbya* (Cyanobacteria, Leptolyngbyaceae) using the 16S rRNA and 16S-23S ITS region. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 105: 15-35.
178. Seo, P.S., Yokota. A. 2003: The phylogenetic relationships of cyanobacteria inferred from 16S rRNA, *gyrB*, *rpoC1* and *rpoD1* gene sequences. *Journal of General and Applied Microbiology* 49: 191-203.
179. Shalygin S., Shalygina R., Johansen J.R., Pietrasiak N., Berrendero E., Bohunická M., Mareš J., Sheil C. 2017: *Cyanomargarita* gen. nov. (Nostocales, Cyanobacteria): convergent evolution resulting in a cryptic genus. *Journal of Phycology* 53: 762-777.
180. Silva C.S.P., Genuario D.B., Vaz M.G.M.V., Fiore M.F. 2014: Phylogeny of culturable cyanobacteria from Brazilian mangroves. *Systematic and Applied Microbiology* 37: 100–112.
181. Simon R.D. 1977: Macromolecular composition of spores from the filamentous cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *Journal of Bacteriology* 129: 1154–1155.
182. Simon R.D. 1987: Inclusion bodies in the cyanobacteria: cyanophycin, polyphosphate, and polyhedral bodies. In: Fay P, van

- Baalen C (eds) The Cyanobacteria: current research. Elsevier/ North Holland Biomedical Press, Amsterdam 199–226.
183. Singh P., Singh S.S., Elster J., Mishra A.K. 2013: Molecular phylogeny, population genetics and evolution of heterocystous cyanobacteria using *nif* H gene sequences. *Protoplasma* 250: 751–764.
184. Spiller H., Gunasekaran M. 1991: Simultaneous oxygen production and nitrogenase activity of an ammonia-excreting mutant of the cyanobacterium *Anabaena variabilis* in a co-culture with wheat. *Applied Microbiology and Biotechnology* 35: 798–804.
185. Stamatakis A. 2014: RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312–1313.
186. Stanier R.Y., Sistrom W.R., Hansen T.A., Whitton B.A., Castenholz R.W., Pfennig N., Gorlenko W.N., Kondratieva E.N., Eimhjellen K.E., Whittenbury R., Gherna R.L., Triiper H.G. 1978: Proposal to place the nomenclature of the cyanobacteria (bluegreen algae) under the rules of the International Code of Nomenclature of Bacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology* 28: 335-336.
187. Starmach K. 1966: Cyanophyta-Sinice. Glaucophyta-Glaukofii ty. In: Starmach K. (ed.) *Flora slodkowodna Polski*. Tom 2., Panstwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 807.
188. Staub R. 1961: Ernährungsphysiologisch-autökologische Untersuchungen an *Oscillatoria rubescens* D.C. *Schweizer Zeitschrift für Hydrobiologie*. 23: 82-198.

189. Stirk W.A., Tarkowská D., Turecová V., Strnad M., van Staden J. 2014: Abscisic acid, gibberellins and brassinosteroids in Kelpak, a commercial seaweed extract made from *Ecklonia maxima*. *Journal of Applied Phycology* 26: 561-567.
190. Stulp B.K. 1982: Morphological variability of *Anabaena* strains (Cyanophyceae) under different culture conditions. *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 63: 165–176.
191. Szigeti J., Ördög V., Földes T., Pulz O. 1996: Microbial growth stimulation and inhibition caused by cyanobacteria. Conference on Progress in Plant Sciences from Plant Breeding to Growth Regulation, June 17–19, 1996. Mosonmagyaróvár, 149–154.
192. Suda S., Watanabe M.M., Otsuka S., Mahakahant A., Yongmanitchai W., Nopartnaraporn N., Liu Y., Day J.G. 2002: Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatoriid cyanobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 1577–1595.
193. Surek B. 2008: Meeting Report: Algal Culture Collections 2008. An International Meeting at the Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP), Dunstaffnage Marine Laboratory, Dunbeg, Oban, United Kingdom; June 8—11. *Protist* 159: 509—517.
194. Sutherland J.M., Herdman M., Stewart W.D.P. 1979: Akinetes of the cyanobacterium *Nostoc* PCC 7524: macromolecular composition, structure and control of differentiation. *Journal of General Microbiology* 115: 273–287.
195. Sutherland J.M., Reaston J., Stewart W.D.P., Herdman M. 1985: Akinetes of the cyanobacterium *Nostoc* PCC 7524:

- macromolecular and biochemical changes during synchronous germination. *Microbiology* 131: 2855-2863.
196. Takács G., Gergely I., Molnár Z., Ördög V. 2019: Plant biostimulating effects of the green alga *Tetracystis sp.* on winter wheat in field experiments. 9th Symposium on Microalgae and Seaweed Products. Mosonmagyaróvár, 2019. június 25-26.
197. Tanabe Y., Kasai F., Watanabe M.M. 2007: Multilocus sequence typing (MLST) reveals high genetic diversity and clonal population structure of the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Microbiology* 153: 3695-3703.
198. Teneva I., Stoyanov P., Mladenov R., Dzhambazov B. 2012: Molecular and phylogenetic characterization of two species of the genus *Nostoc* (Cyanobacteria) based on the *cpcB*-IGS-*cpcA* locus of the phycocyanin operon. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 1: 9-19.
199. Tóth J., Gergely I., Ördög V. 2016: Mikroalga tartalmú biostimulánsok hatása a repce őszi fejlődésére. XXXVI. Óvári Tudományos Nap. Mosonmagyaróvár, 2016. november 10.
200. Tóth J., Berzsenyi Z., Ördög V. 2019: Effect of *Arthrospira platensis* on the growth and condition of nursery plants. 9th Symposium on Microalgae and Seaweed Products. Mosonmagyaróvár, 2019. június 25-26.
201. Tuji A., Niiyama Y. 2012: Three new combinations of Japanese planktonic cyanobacteria species. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series B* 38: 37-38.

202. Turner S. 1997: Molecular systematics of oxygenic photosynthetic bacteria. *Plant Systematics and Evolution Supplement* 11: 13–52.
203. Vaccarino M.A., Johansen J.R. 2011: *Scytonematopsis contorta* sp. nov. (Nostocales), a new species from the Hawaiian Islands. *Fottea* 11: 149-161.
204. van Dok W., Hart B.T. 1996: Akinete differentiation in *Anabaena circinalis* (Cyanophyta). *Journal of Phycology* 32: 557-565.
205. van Geel B., Mur L.R., Ralska-Jasiewiczowa M., Goslar T. 1994: Fossil akinetes of *Aphanizomenon* and *Anabaena* as indicators for medieval phosphate-eutrophication of Lake Gosciadz (Central Poland). *Review of Palaeobotany and Palynology* 83:97–105.
206. Wacklin P., Hoffmann L., Komárek J. 2009: Nomenclatural validation of the genetically revised cyanobacterial genus *Dolichospermum* (Ralfs ex Bornet et Flahault) comb. nova. *Fottea* 9: 59–64.
207. Watson S.B. 2003: Cyanobacterial and eukaryotic algal odour compounds: signals or byproducts? A review of their biological activity. *Phycologia* 42: 332-350.
208. Weller R., Walsh Weller J., Ward D.M. 1991: 16S rRNA sequences of uncultivated hot spring cyanobacterial mat inhabitants retrieved as randomly primed cDNA. *Applied and Environmental Microbiology* 57, 1146-1151.
209. Werner V.R., Haywood D.R., Marli F.F., Célia L.S.A., Hoff C., De Souza Santos K.R., Neuhaus E.B., Molica R.J.R.,



- Honda R.Y., Echenique R.E. 2012: Morphological and molecular studies of *Sphaerospermopsis torques-reginae* (Cyanobacteria, Nostocales) from South American water blooms. *Phycologia* 51: 228–238.
210. Werner V.R., Laughinghouse H.D. IV 2009: Bloom-forming and other planktonic *Anabaena* (Cyanobacteria) morphospecies with twisted trichomes from Rio Grande do Sul State, Brazil. *Nova Hedwigia* 89: 17–47.
211. Wettstein R. 1924: *Handbuch der systematischen Botanik*. 1st ed. Franz Deuticke, Leipzig 1071.
212. Willame R., Boutte C., Grubisic S., Wilmotte A., Komárek J., Hoffmann L. 2006: Morphological and molecular characterization of planktonic cyanobacteria from Belgium and Luxembourg. *Journal of Phycology* 42: 1312–1332.
213. Wilmotte A. 1994: Molecular evolution and taxonomy of the cyanobacteria. In: Bryant, D.A. (Ed.): *The molecular biology of cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1-25.
214. Wilmotte A., Herdman M. 2001: Phylogenetic relationships among the cyanobacteria based on 16S rRNA sequences. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria* 1: 487-493.
215. Wolk C.P., Simon R.D. 1969: Pigments and lipids of heterocysts. *Planta* 86: 92–97.

216. Wolk C.P. 1989: Alternative models for the development of the pattern of spaced heterocysts in *Anabaena* (Cyanophyta). *Plant Systematics and Evolution* 164: 27–31.
217. Yadav S., Sinha R.P., Tyagi M.B., Kumar A. 2011: Cyanobacterial secondary metabolites. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2: 144-167.
218. Yilmaz M., Phlips E.J., Szabo N.J., Badylak S. 2008: A comparative study of Florida strains of *Cylindrospermopsis* and *Aphanizomenon* for cylindrospermiopsin production. *Toxicon* 51: 130–139.
219. Zapomelová E. 2008a: *Anabaena*, phenotypic and genotypic diversity of planktonic strains in fishponds and reservoirs of the Czech Republic. PhD dissertation, Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budejovice, 13.
220. Zapomelová E., Hrouzek P., Řeháková K., Šabacká M., Stibal M., Caisová L., Komárková J., Lukešová A. 2008b: Morphological variability in selected heterocystous cyanobacterial strains as a response to varied temperature, light intensity and medium composition. *Folia Microbiologica* 53: 333-341.
221. Zapomelová E., Hrouzek P., Rezanka T., Jezberová J., Řeháková K., Hisem D., Komárková J. 2011: Polyphasic characterization of *Dolichospermum* spp. and *Sphaerospermopsis* spp. (Nostocales, Cyanobacteria): morphology, 16S rRNA gene sequences and fatty acid and secondary metabolite profiles. *Journal of Phycology* 47: 1152–1163.
222. Zapomelová E., Řeháková-Kaštovská K., Jezberová J., Komárková J. 2010: Polyphasic characterization of eight

planktonic *Anabaena* strains (Cyanobacteria) with reference to the variability of 61 *Anabaena* populations observed in the field. *Hydrobiologia* 639: 99–113.

223. Zapomelová E., Skácelová O., Pumann P., Kopp R., Janecek E. (2012): Biogeographically interesting planktonic *Nostocales* (Cyanobacteria) in the Czech Republic and their polyphasic evaluation resulting in taxonomic revisions of *Anabaena bergii* Ostenfeld 1908 (*Chrysoosporum* gen. nov.) and *A. tenericaulis* Nygaard 1949 (*Dolichospermum tenericaule* comb. nova). *Hydrobiologia* 698: 353-365.
224. Zeidner G., Bielawski J.P., Shmoish M., Scanlan D.J., Sabehi G., Beja O. 2005: Potential photosynthesis gene recombination between *Prochlorococcus* and *Synechococcus* via viral intermediates. *Environmental Microbiology* 7: 1505-1513.

## 9.2. Internetes hivatkozások

1. URL<sup>2</sup> / Az NIES gyűjtemény honlapjára mutató internetes hivatkozás: <https://mcc.nies.go.jp/02introduction-e.html>
2. URL<sup>2</sup> / Az UTEX gyűjtemény honlapjára mutató internetes hivatkozás: <https://utex.org/pages/criteria-for-accession-of-new-algal-strains-into-the-utex-collection-taxonomic-considerations-for-algal-cultures>

## 10. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A Mosonmagyaróvári Algagyűjtemény (MACC) történetében elsőként izoláltam, PCR módszerrel sokszorosítottam, ezt követően szekvenáltattam, majd rendszertanilag elemeztem 82, az *Anabaena* nemzetség tagjainak vélt MACC cianobaktérium törzs genomi DNS-ét. Ennek alapjául a 16S rRNS a riboszómális gén egy bizonyos szakasza szolgált. Az említett gént a 8F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') és az S8 (5'-CTT CGA GCC CCC AAC TTT C-3') primerek segítségével sokszorosítottam. A PCR termék hossza 510-660 bázispár között változott.
2. Ráműtattam arra, hogy a törzsek többsége, a cianobaktérium taxonómiában az elmúlt években bekövetkezett jelentős változások miatt, új nemzetségekbe sorolandó. Ehhez hozzájárult, hogy új lehetőség nyílt filogenetikai meghatározásukra a 16S rRNS marker gén segítségével. Ezen kívül, megállapítottam, hogy a törzsek többsége 3 filogenetikai csoportba sorolható a cianobaktérium filogenetikai fán. A molekuláris adatok szerint a 63 törzs közül nyolc a *Desmonostoc*, tizenegy a *Nostoc* nemzetség tagja, negyvennégy törzs pedig a *Trichormus* nemzetséggel mutat genetikai hasonlóságot. Tizenkilenc törzs pontos meghatározásához további gének vizsgálata szükséges.
3. Rávilágítottam arra, hogy a tanszéken korábban már vizsgált törzsekhez a filogenetikai fán közel eső törzsek szintén rendelkezhetnek a káposzta gyökérlégy tojásrakását csökkentő vagy növényi gombabetegségek ellen fungicid hatással, de ennek bizonyítására további vizsgálatokra van szükség. A következő törzsek

sorolódtak a filogenetikai elemzés során bizonyítottan bioaktív törzsek mellé: MACC 110, MACC 113, MACC 127, MACC 206, MACC 211, MACC 221, MACC 255, MACC 643.

4. Nyolcvankét törzs mikroszkópi módszerrel történő elemzését ugyancsak elvégeztem. Rávilágítottam arra, hogy az alaktani meghatározást meg kell erősíteni a molekuláris biológiai eredményekkel, ugyanis a nagy mennyiségben keletkező filogenetikai adatok korában, már a nemzetség szintű azonosítás sem biztosított alaktani szinten. Akinéták hiányában a törzsek alaktani összehasonlítása hét paraméter alapján történt: 1. vegetatív sejt szélesség, 2. vegetatív sejt hosszúság, 3. heterocita szélesség, 4. heterocita hosszúság, 5. vegetatív sejt alakja, 6. heterocita alakja, 7. heterocita elhelyezkedése a fonalon belül.
5. A Mosonmagyaróvári Algagyűjteményben (MACC) elsőként vizsgáltam akinéták jelenlétét. A foszfor- és vashiány előidézésével, ultratiszta (Mili-Q®) vízzel történő atmoszással és alacsony hőmérséklettel kombinálva az MACC 110 törzs esetében akinétaképződést figyeltem meg. A 14-16  $\mu\text{m}$  hosszú és 9-10  $\mu\text{m}$  széles akinéták mellett egyes esetekben úgynevezett proakinéták (fiatal akinéták) is felfedezhetők voltak.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Prof. Dr. Ördög Vince egyetemi tanár úrnak, valamint Dr. Molnár Zoltán docens úrnak a doktori tanulmányaim során nyújtott szakmai segítségükért, tanácsaikért.

Köszönöm Prof. Dr. Vörös Lajos egyetemi tanár úrnak, az MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet tudományos tanácsadójának a taxonómiai kutatások során nyújtott pótolhatatlan segítségét.

Szeretném megköszönni Dr. Maróti Gergely kutatónak, Dr. Wendy A. Stirk professzor asszonynak valamint Pap Bernadettnek, hogy szakmai észrevételeikkel hozzájárultak tudományos értekezésem jobbá tételéhez. Köszönettel tartozom továbbá a Növénytudományi Tanszék valamennyi dolgozójának, különös tekintettel Bálint Péternek és Lobik Ildikónak, az algatechnésztésben és az adatrögzítésben nyújtott segítségükért.

Szívből jövő köszönettel tartozom családomnak segítségükért és szeretetükért.

# AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

*A közlemények „A Magyar Tudományos Művek Tára (MTMT)”  
adatbázisban is megtalálhatók.*

## **Nemzetközi impakt faktoros folyóiratban megjelent publikációk:**

1. **N. Horváth**, S. Katona, D.E. Berthold, Z. Molnár, P. Bálint, V. Ördög, B. Pap, G. Maróti, F. Bánáti, K. Szenthe, L. Vörös, C. Kilgore, H.D. Laughinghouse 2019: The reclassification of 37 strains from The Mosonmagyaróvár Algal Culture Collection, Hungary, which were previously identified as *Anabaena* (Cyanobacteria, Nostocaceae). South African Journal of Botany. 123, 333-340. Q2, **IF: 1.792**.
2. S. Katona, **N. Horváth**, D.E. Berthold, Z. Molnár, P. Bálint, V. Ördög, B. Pap, G. Maróti, F. Bánáti, K. Szenthe, L. Vörös, C. Kilgore, H.D. Laughinghouse 2019: Phylogenetic re-evaluation of previously identified *Chlamydomonas* (Chlorophyta, Chlamydomonadaceae) strains from The Mosonmagyaróvár Algal Culture Collection, Hungary, using molecular data. South African Journal of Botany. 125, 16-23. Q2, **IF: 1.792**.

## **Hazai tudományos folyóiratban megjelent publikáció:**

3. S. Katona, **N. Horváth**, Z. Molnár, V. Ördög 2018: Extracellular polysaccharides in twenty *Chlamydomonas* strains of the

Mosonmagyaróvár Algal Culture Collection. Acta agronomica Óváriensis. 59, 62-81.

4. **N. Horváth**, Z. Molnár, V. Ördög 2016: Az *Anabaena* cianobakterium nemzetség biotechnológiai felhasználása és taxonómiai áttekintése. Botanikai közlemények. 103, 135-152.

#### **Nemzetközi konferencián tartott idegen nyelvű előadások:**

5. **N. Horváth**, S. Katona, Z. Molnár, V. Ördög 2019: Extracellular polysaccharides in twenty *Chlamydomonas* strains of the Mosonmagyaróvár Algal Culture Collection. 9th Symposium on Microalgae and Seaweed Products. Mosonmagyaróvár, 25-26 June, 2019

#### **Nemzetközi konferencián bemutatott posztterek:**

6. S. Katona, **N. Horváth**, D.E. Berthold, Z. Molnár, P. Bálint, V. Ördög, B. Pap, G. Maróti, F. Bánáti, K. Szenthe, L. Vörös, C. Kilgore, IV H.D. Laughinghouse 2019: The reclassification of 37 strains from The Mosonmagyaróvár Algal Culture Collection, Hungary, which were previously identified as *Anabaena* (Cyanobacteria, Nostocaceae). 9th Symposium on Microalgae and Seaweed Products. Mosonmagyaróvár, 25-26 June, 2019.
7. **N. Horváth**, S. Katona, Z. Molnár, V. Ördög 2015: Review of the possible ways to enhance the akinete germination of the genus *Anabaena*. 7th Symposium on Microalgae and Seaweed Products. Mosonmagyaróvár, 29-30 June, 2015.
8. S. Katona, **N. Horváth**, Z. Molnár, V. Ördög 2015: Review of the biotechnological research results of the genus *Chlamydomonas*.



- 7th Symposium on Microalgae and Seaweed Products. Mosonmagyaróvár, 29-30 June, 2015.
9. **N. Horváth**, S. Katona, Z. Molnár, V. Ördög 2014: Taxonomic and phylogenetic analysis of *Anabaena* cyanobacterium strains. XXXV. Óvári Tudományos Nap. Mosonmagyaróvár, 13 November, 2014.
  10. S. Katona, **N. Horváth**, Z. Molnár, V. Ördög 2014: Taxonomic and phylogenetic analysis of *Chlamydomonas* green alga strains. XXXV. Óvári Tudományos Nap. Mosonmagyaróvár, 13 November, 2014.
  11. **N. Horváth**, S. Katona, Z. Molnár, V. Ördög 2014: Phylogenetic and taxonomic review of the *Anabaena* (Nostocales, Cyanobacteria) cyanobacteria strains. 11th Congress of the Hungarian Society of Plant Biology. Szeged, 27-29 August, 2014.
  12. S. Katona, **N. Horváth**, Z. Molnár, V. Ördög 2014: Phylogenetic and taxonomic review of the *Chlamydomonas* (Volvocales, Chlorophyta) green algae strains. 11th Congress of the Hungarian Society of Plant Biology. Szeged, 27-29 August, 2014.
  13. **N. Horváth**, S. Katona, N. Makra, Z. Molnár, V. Ördög 2013: Application of PCR methods on the algae strains of Mosonmagyaróvár Algae Culture Collection (MACC). 6th Symposium on “Microalgae and seaweed products in plant/soil-systems”. Mosonmagyaróvár, 24-25 June, 2013.
  14. S. Katona, **N. Horváth**, Z. Molnár, V. Ördög 2012: Gibberellinsav és mikroalga kezelés hatása néhány fűszernövény magjának csírázására. XXXIV. Óvári Tudományos Nap. Mosonmagyaróvár, 2012. október 5.

# MELLÉKLETEK

## A LABORATÓRIUMI TENYÉSZTÉSÉHEZ FELHASZNÁLT Z8 TÁPOLDAT ÖSSZETÉTELE

Zehnder-8 tápoldat (Staub 1961)

<b>1. Törzsoldat</b>	<b>3 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup></b>
	300 cm <sup>3</sup> deszt.vízben
NaNO <sub>3</sub>	46,7 g
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	5,9 g
MgSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	2,5 g

<b>2. Törzsoldat</b>	<b>1 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup></b>
	300 cm <sup>3</sup> deszt.vízben
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	9,3 g
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	6,3 g

<b>3. Törzsoldat</b>	<b>10 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup></b>
<b>A)</b> 1,3515 g FeCl <sub>3</sub> * 6H <sub>2</sub> O + 1,5 cm <sup>3</sup> cc.HCl + 150 cm <sup>3</sup> deszt.víz	
<b>B)</b> 2,1915 g Na <sub>2</sub> -EDTA (Selecton B) + 150 cm <sup>3</sup> deszt.víz	
5cm <sup>3</sup> <b>A</b> + 5cm <sup>3</sup> <b>B</b> + 490 cm <sup>3</sup> deszt.víz	

<b>4. Mikroelem-oldat</b>	<b>0,08 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup></b>
	500 cm <sup>3</sup> deszt.vízben
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> * 9H <sub>2</sub> O	0,025 g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,550 g
MnCl <sub>2</sub> * 4H <sub>2</sub> O	1,115 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> * 4H <sub>2</sub> O	0,044 g
KBr	0,0595 g
KI	0,0415 g
ZnSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	0,1435 g
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> * 6H <sub>2</sub> O	0,073 g
CuSO <sub>4</sub> * 5H <sub>2</sub> O	0,0625 g
Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> * 18H <sub>2</sub> O	0,237 g
LiCl * H <sub>2</sub> O	0,025 g

## HASONLÓSÁGI MATRIX

10. Táblázat Huszonegy törzs hasonlósági mátrixa (százalékban). Három MACC törzs képviseli a filogenetikai elemzés eredményeként kapott három csoportot (*Desmonostoc*: MACC 282, *Nostoc*: MACC 165, *Trichormus*: MACC 274). A referencia törzsek hozzáférési számai a következők: A. *Cylindrospermum stagnale* PCC7417 (AJ133163), B. *Cylindrospermopsis raciborskii* (egyenes szálú) (AF067819), C. *Dolichospermum flos-aquae* UTEX LB2338 (DQ234823), D. *Desmonostoc muscorum* I (AJ630451), E. *Desmonostoc muscorum* II (AJ630452), F. *Desmonostoc muscorum* CENA61 (AY218828), G. *Fischerella muscicola* (KF417427), H. *Halotia longispora* CENA420 (KJ843313), I. *Mojavia pulchra* JT2-VF2 (AY577534), J. *Nodularia harveyana* Lukesová 18 94 (AM711554), K. *Nostoc punctiforme* PCC 73102 (AF027655), L. *Sphaerospermopsis reniformis* 06-01 (FM161348), M. *Tolypothrix* sp. IAM M-259 (AB093486), N. *Trichormus* sp. PCC 7120 (BA000019), O. *Trichormus variabilis* NIES23 (AF247593), P. *Trichormus variabilis* Hindák (AJ630456), Q. *Wollea saccata* ACCS 045 (GU434226) és R. *Chroococciopsis thermalis* (AB039005), amely a heterocitával nem rendelkező törzseket képviseli.

	165	274	282	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
MACC 165																				
MACC 274	92,5																			
MACC 282	92,3	94,4																		
A	92,7	95,5	93,1																	
B	89,1	89,3	86,9	92,4																
C	91,7	93,2	95,1	95,8	91,0															
D	93,5	93,0	95,3	95,9	91,5	97,7														
E	93,5	93,0	95,3	95,9	91,5	97,7	100													
F	88,9	91,9	89,7	94,7	92,2	94,2	94,7	94,7												
G	90,9	92,4	90,4	93,7	90,6	91,6	92,6	92,6	79,2											
H	91,2	93,3	92,6	95,4	91,4	94,9	95,6	95,6	83,2	72,7										
I	94,5	93,9	92,8	95,0	91,9	94,3	94,9	94,9	94,4	91,0	95,3									
J	92,3	93,8	91,5	95,2	92,2	94,4	95,1	95,1	93,5	92,3	96,4	93,6								
K	95,9	91,4	91,4	94,9	92,0	94,8	95,4	95,4	94,2	91,6	94,2	95,5	94,5							
L	90,5	92,3	90,5	93,1	95,3	92,1	92,2	92,2	91,8	90,0	93,0	92,4	92,6	91,2						
M	94,8	94,3	92,3	96,0	92,9	96,0	96,3	96,3	95,5	92,5	95,6	96,3	95,1	96,0	93,4					
N	91,5	97,4	92,3	96,6	92,3	95,8	96,4	96,4	96,2	92,3	95,4	95,7	95,3	94,5	92,7	96,7				
O	91,4	97,4	92,3	96,1	92,2	95,2	95,8	95,8	95,6	92,0	94,8	95,7	94,7	94,1	93,0	96,3	99,5			
P	90,6	91,4	92,1	95,4	93,4	94,3	95,5	85,5	94,3	92,7	95,5	94,6	95,0	93,3	94,1	94,8	94,7	94,1		
Q	89,1	90,1	88,8	92,1	93,7	91,5	91,7	91,7	91,1	88,9	91,6	91,7	91,6	90,8	93,2	92,5	92,5	91,9	93,9	
R	86,5	85,3	85,3	89,5	87,2	89,6	89,2	89,2	88,5	89,6	88,1	88,4	89,3	88,8	87,5	89,5	89,8	89,2	88,8	86,2

## SZEKVENCIA KÜLÖNBÖZŐSÉG BECSLÉS

11. Táblázat A szekvenciák közötti evolúciós különbség becslése. A szekvenciánkénti báziskülönbségek száma látható a táblázatban. Az elemzés huszonegy nukleotidszekvenciát tartalmazott. A hézagokat és hiányzó adatokat tartalmazó összes pozíció ki lett zárva a vizsgálatból. Összesen háromszázhusz pozíció volt a végső adatállományban. Három MACC törzs képviseli a filogenetikai elemzés eredményeként kapott három csoportot (*Desmonostoc*: MACC 282, *Nostoc*: MACC 165, *Trichormus*: MACC 274). A referencia törzsek hozzáférési számai a következők: A. *Cylindrospermum stagnale* PCC7417 (AJ133163), B. *Cylindrospermopsis raciborskii* (egyenes szálú) (AF067819), C. *Dolichospermum flos-aquae* UTEX LB2338 (DQ234823), D. *Desmonostoc muscorum* I (AJ630451), E. *Desmonostoc muscorum* II (AJ630452), F. *Desmonostoc muscorum* CENA61 (AY218828), G. *Fischerella muscicola* (KF417427), H. *Halotia longispora* CENA420 (KJ843313), I. *Mojavia pulchra* JT2-VF2 (AY577534), J. *Nodularia harveyana* Lukesová 18 94 (AM711554), K. *Nostoc punctiforme* PCC 73102 (AF027655), L. *Sphaerospermopsis reniformis* 06-01 (FM161348), M. *Tolypothrix* sp. IAM M-259 (AB093486), N. *Trichormus* sp. PCC 7120 (BA000019), O. *Trichormus variabilis* NIES23 (AF247593), P. *Trichormus variabilis* Hindák (AJ630456), Q. *Wollea saccata* ACCS 045 (GU434226) és R. *Chroococidiopsis thermalis* (AB039005), amely a heterocitával nem rendelkező törzseket képviseli.

	165	274	282	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
MACC 165																				
MACC 274	0,05																			
MACC 282	0,05	0,04																		
A	0,06	0,02	0,04																	
B	0,08	0,08	0,10	0,08																
C	0,06	0,04	0,04	0,04	0,10															
D	0,03	0,06	0,03	0,05	0,08	0,03														
E	0,03	0,06	0,03	0,05	0,08	0,03	0,00													
F	0,08	0,06	0,08	0,06	0,09	0,08	0,08	0,08												
G	0,08	0,07	0,08	0,07	0,08	0,08	0,06	0,06	0,09											
H	0,05	0,05	0,04	0,04	0,08	0,04	0,04	0,04	0,07	0,08										
I	0,05	0,06	0,06	0,05	0,09	0,07	0,06	0,06	0,08	0,09	0,04									
J	0,05	0,06	0,05	0,05	0,07	0,05	0,04	0,04	0,08	0,08	0,05	0,07								
K	0,01	0,05	0,05	0,05	0,07	0,05	0,03	0,03	0,08	0,08	0,05	0,05	0,05							
L	0,08	0,07	0,09	0,07	0,04	0,08	0,10	0,10	0,09	0,12	0,07	0,09	0,09	0,09						
M	0,04	0,04	0,05	0,03	0,08	0,05	0,04	0,04	0,06	0,07	0,02	0,03	0,06	0,04	0,08					
N	0,06	0,00	0,05	0,02	0,08	0,04	0,05	0,05	0,06	0,06	0,05	0,06	0,06	0,05	0,07	0,03				
O	0,06	0,00	0,05	0,02	0,08	0,04	0,05	0,05	0,06	0,06	0,05	0,06	0,06	0,05	0,07	0,03	0,00			
P	0,05	0,05	0,05	0,04	0,08	0,5	0,04	0,04	0,07	0,08	0,04	0,06	0,04	0,05	0,09	0,04	0,05	0,05		
Q	0,07	0,08	0,08	0,08	0,07	0,08	0,07	0,07	0,10	0,11	0,06	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06	0,08	0,08	0,06	
R	0,10	0,11	0,09	0,11	0,12	0,09	0,09	0,09	0,13	0,13	0,12	0,13	0,10	0,09	0,12	0,12	0,10	0,10	0,12	0,13

## ALAKTANI VIZSGÁLATOK

12. Táblázat. Az alaktani vizsgálatokhoz használt cianobaktérium referenciafajok alaktani eredményeinek összefoglalása Komárek 2013 nyomán. A sejtszélesség és sejthossz  $\mu\text{m}$ -ben van megadva. Jelmagyarázat: A: hordó, B: gömbölyded, C: gömbölyű, D: hengeres, E: fonalon belüli, F: magányos, G: fonalvégi.

Referenciafaj	Vegetatív sejt szélesség/hossz		Heterocita szélesség/hossz		Vegetatív sejt alakja	Heterocita alakja	Heterocita elhelyezkedése
<i>Desmonostoc muscorum</i>	3.5-5	4-5	5-6.3	6-7	A / D	C / A	E, F, G
<i>Nostoc kihlmanii</i>	3.2-6	4-7.5	6-10	6-10	C / A	C / B	E, F
<i>Nostoc pruniforme</i>	4-6.7	4-6.7	6-7	6-7	A / C	C / B	E, F
<i>Nostoc caeruleum</i>	5-7	5-8.2	6.2-10	6.2-10	A	C / B	E, F
<i>Nostoc sphaericum</i>	3.5-5	4-6	4-6	6-8	A / C	C / B	E, F
<i>Nostoc parmelioides</i>	3.5-5.2	2.2-5	4.8-7	4.8-6.5	C / A	$\pm$ C	E, F
<i>Nostoc sphaeroides</i>	4-6	4-7	6-7	6-7	A / C	C	E, F, G
<i>Nostoc linckia</i>	3.5-4	4-5	5-6	5-6	$\pm$ A	$\pm$ C	E, F, G
<i>Nostoc carneum</i>	3-4	6-8	4-6	5-7	A / D	B	E, F
<i>Nostoc verrucosum</i>	3-4.5	4-5	6	7	$\pm$ A	$\pm$ C / B	E, F
<i>Nostoc zetterstedtii</i>	3.5-5	4-6	6-10	6-10	A / $\pm$ C	$\pm$ C	E, F
<i>Nostoc cf.cordubense</i>	3-5	3-5	5.3-7.5	5.3-7.5	C / B	A / $\pm$ C	E, F
<i>Nostoc punctiforme</i>	3-5	4-6	4-6.5	5-7	$\pm$ A	A / $\pm$ C	E, F, G
<i>Nostoc edaphicum</i>	3-4.2	4-5	4-6.5	5-7	$\pm$ A	A / $\pm$ C	G, F, E
<i>Nostoc flagelliforme</i>	4-5	5-6	5-6	5-6	A / $\pm$ C	$\pm$ C	E, F
<i>Nostoc microscopicum</i>	5-8	6-9	6.5-10	6.5-10	A / $\pm$ C	$\pm$ C	E, F, G
<i>Nostoc commune</i>	4-4.3	3-5.5	5-8	5.5-8.4	A / $\pm$ C	$\pm$ C	E, F, G

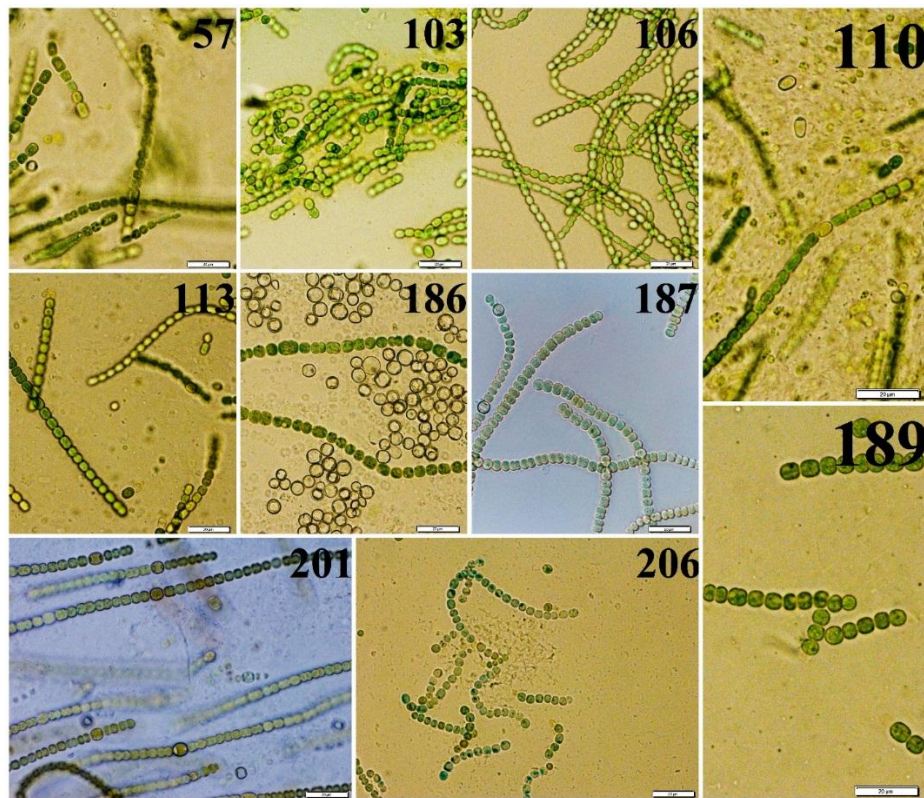
12. Táblázat folytatása. Az alaktani vizsgálatokhoz használt cianobaktérium referenciatípusok alaktani eredményeinek összefoglalása Komárek 2013 nyomán. A sejtszélesség és sejthossz  $\mu\text{m}$ -ben van megadva. Jelmagyarázat: A: hordó, B: gömbölyded, C: gömbölyű, D: hengeres, E: fonalon belüli, F: magányos, G: fonalvégi. *Nomen nudum*: még nem publikáltak megfelelő leírással.

Referenciatípus	Vegetatív sejt szélesség/hossz		Heterocita szélesség/hossz		Vegetatív sejt alakja	Heterocita alakja	Heterocita elhelyezkedése
<i>Nostoc paludosum</i>	3-5	2-6	4-8.5	4-8.5	A	C / A	E, F, G
<i>Nostoc minutissimum</i>	1-1.8	2-2.2	2-2.8	2-2.8	A / $\pm$ C	$\pm$ C / A	E, F
<i>Nostoc minutum</i>	2.5-3	3-4	4-5	4-5	A	$\pm$ C	E, F, G
<i>Nostoc calcicola</i>	2.5-3	3-4	4-5	4-5	A / $\pm$ C	C	E, F, G
<i>Nostoc passerinianum</i>	4	5-7	5	5	A	$\pm$ C	E, F
<i>Nostoc humifusum</i>	2.2-3	4-5	3	4-5	A / D	A	E, F, G
<i>Nostoc gelatinosum</i>	4	5-10	3	5-10	D	B	E, F, G
<i>Nostoc ellipsosporum</i>	4-5	6-14	6-7	6-14	D	$\pm$ C	E, F
<i>Trichormus azollae</i>	2-3	2.5-7	5-7	6.5-10	A / D	D	E, F, G
<i>Trichormus variabilis</i>	2.5-6	4-6	5-6	6-8.5	A / C	$\pm$ C / B	E, F
<i>Trichormus botulus</i>	3	3	4.5	4.5	A	$\pm$ C	E, F
<i>Trichormus cycadearum</i>	4	4	6	6	A / D	B	E, F
<i>Trichormus elipsosporus</i>	3.5-4.5	3.5-6	5.5-6.5	6.5-9	A / D	C / D	E, F, G
<i>Trichormus gunnerae</i>	<i>Nomen nudum</i>						
<i>Trichormus hallensis</i>	4-6.3	3.7-6	5-6.5	8	A / D	A	E, F
<i>Trichormus polysporus</i>	3.6-4.8	4.8-6.6	4.8-7.2	5.4-11.2	A / C	D / B	E, F

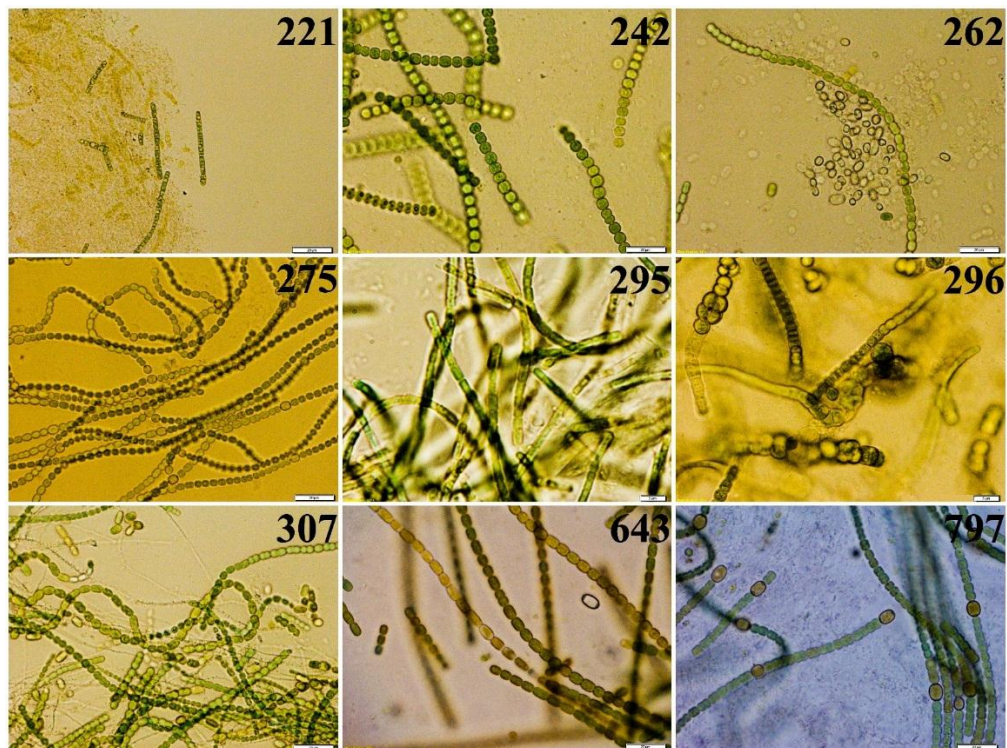


12. Táblázat folytatása. Az alaktani vizsgálatokhoz használt cianobaktérium referenciafajok alaktani eredményeinek összefoglalása Komárek 2013 nyomán. A sejtszélesség és sejthossz  $\mu\text{m}$ -ben van megadva. Jelmagyarázat: A: hordó, B: gömbölyded, C: gömbölyű, D: hengeres, E: fonalon belüli, F: magányos.

Referenciafaj	Vegetatív sejt szélesség/hossz		Heterocita szélesség/hossz		Vegetatív sejt alakja	Heterocita alakja	Heterocita elhelyezkedése
<i>Trichormus pseudovariabilis</i>	6	6	8	8	A / D	$\pm$ C / B	E, F
<i>Trichormus rotundosporus</i>	3.6-4.5	4-5	6-7	6-8	A	$\pm$ C / B	E, F
<i>Trichormus steloides</i>	5.4-6	5.6- 6.2	5.5-6.2	6-7	A	B	E, F
<i>Trichormus thermalis</i>	2.5-3.2	3-4.2	3-4	5-5.6	D	$\pm$ B	E, F



38. Ábra Az MACC 57, 103, 106, 110, 113, 186, 187, 189, 201 és 206 „megoldatlan” törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban. A méretskála 20  $\mu\text{m}$ .



39. Ábra Az MACC 221, 242, 262, 275, 295, 296, 307, 643 és 797 „megoldatlan” törzsek fénymikroszkópos képe 400-szoros nagyításban. A méretskála 20  $\mu\text{m}$ . Az MACC 295 és 296 esetében 100-szoros a nagyítás, a méretskála

pedig 5  $\mu\text{m}$ .

## A FILOGENETIKAI FA ÖSSZECSUKOTT RÉSZEI TÉTELESEN FELSOROLVA

- *Anabaena cylindrica* PCC 7122 Neilan 1998 (AF091150)
- *Anabaena cylindrica* DC-3 Pan és mtsai. 2008 (EU780157)
- *Anabaena cylindrica* NIES19 Beltran és Neilan 2000 (AF247592)
- *Anabaena cylindrica* UTAD A212 Galhano és mtsai. 2009 (GQ443447)
  
- *Sphaerospermopsis aphanizomenoides* 04 43 Zapomelová és mtsai. 2009 (FM161350)
- *Sphaerospermopsis kisseleviana* TAC33 Li és mtsai. 2004 (AY701557)
- *Sphaerospermopsis reniformis* 06-01 Zapomelová és mtsai. 2009 (FM161348)
- *Sphaerospermopsis torques-reginae* ITEP-024 Werner és mtsai. 2011 (HQ730086)
  
- *Gloeotrichia echinulata* PYH14 Sihvonen és mtsai. 2007 (AM230704)
- *Gloeotrichia echinulata* PYH6 Sihvonen és mtsai. 2007 (AM230703)
- *Gloeotrichia echinulata* URA3 Sihvonen és mtsai. 2007 (AM230705)
- *Gloeotrichia pisum* SL6-1-1 Shalygin és mtsai. 2017 (KY296602)
  
- *Fischerella muscicola* HA7617-LM2 Miscoe és mtsai. 2016 (KF417427)
- *Fischerella muscicola* PCC 73103 Seo és Yokota 2014 (AB074505)
  
- *Cylindrospermum alatosporum* SAG 43.79 Abdel-Basset és mtsai. 2011 (GQ287650)
- *Cylindrospermum stagnale* PCC 7417 Lyra és mtsai. 2001 (AJ133163)
- *Cylindrospermum stagnale* PCC 7417 Turner és mtsai. 1999 (AF132789)

- *Dolichospermum affine* NIES-40 Beltran és Neilan 2000 (AF247591)
- *Dolichospermum affine* NIES-40 Beltran és Neilan 2000 (AF247591)-1
- *Dolichospermum cf. crassum* 1tu27s7 Rajaniemi és mtsai. 2005 (AJ630413)
- *Dolichospermum crassum* 215 Gugger és mtsai. 2002 (AJ293112)
- *Dolichospermum spiroides* PMC9403 Gugger és mtsai. 2002 (AJ293116)
- *Dolichospermum spiroides* PMC9403 Gugger et al-1. 2002 (AJ293116)
  
- *Desmonostoc geniculatum* HA4340-LM1 clone 37A Miscoe és mtsai. 2016 (KU161660)
- *Desmonostoc geniculatum* HA4340-LM1 clone 37C Miscoe és mtsai. 2016 (KU161661)
- *Desmonostoc geniculatum* HA4340-LM1 clone 37D Miscoe és mtsai. 2016 (KU161662)
- *Desmonostoc muscorum* CENA61 Fiore és mtsai. 2005 (AY218828)
- *Desmonostoc muscorum* I Rajaniemi és mtsai. 2005 (AJ630451)
- *Desmonostoc muscorum* II Rajaniemi és mtsai. 2005 (AJ630452)
- *Desmonostoc muscorum* Lukesova 1 87 Papaefthimiou és mtsai. 2008 (AM711523)
- *Desmonostoc muscorum* NIVA-CYA 818 Papaefthimiou és mtsai. 2008 (AM711524)
- *Desmonostoc sp.* PCC 6302 Hrouzek és mtsai. 2013 (HG004582)
- *Desmonostoc sp.* UAM 307 Mateo és mtsai. 2011 (HM623782)
- *Desmonostoc vinosum* HA7617-LM4 Miscoe és mtsai. 2016 (KF417429)