

Ecology of Lake Balaton/ A Balaton ökológiája

MTA ÖK BLI Elektronikus folyóirata
2016. 3: 1-7.



A VÍRUSOK MENNYISÉGÉNEK SZEZONÁLIS VÁLTOZÁSA A BALATONBAN 2015-BEN

Kovács W. Attila*, Présing Mátyás†, Horváth Hajnalka

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

*kovacs.attila@okologia.mta.hu

Kulcsszavak: virioplankton, bakterioplankton, tápanyag regeneráció, abundancia

Kivonat: A vírusok, létszámukat tekintve a leggyakoribb organizmusok a Földön, minden ökoszisztémában megtalálhatóak, fontos szerepet játszanak a fito- és bakterioplankton mortalitásába, a tápanyagok mikrobiális körforgásában. A Balatonban szerepük mégis kevésbé ismert. Munkánk első lépéseként havi gyakorisággal meghatároztuk a vírusok vírusszerű partikulumok, és baktériumok abundanciáját a Balaton két trofitásban elkülönülő medencéjében és a tó legnagyobb befolyójában 2015-ben. A vizsgálatok során a SYBRGreen fluoreszcens festékkel jelölt sejteket epifluoreszcens mikroszkóppal detektáltuk. Eredményeink szerint a baktériumok abundanciája $8,35 \times 10^8$ – $9,35 \times 10^9$ sejt l^{-1} , a vírusok abundanciája $3,88 \times 10^{10}$ – $2,7 \times 10^{11}$ sejt l^{-1} tartományban változott az év során. A trofitásnak megfelelően a Keszthelyi-medence abundancia értékei nagyobbak voltak a Siófoki-medencében mértéknél, maximális értékük megegyezett az a-klorofill maximumok időpontjával. A vírus baktérium arány 10 felett volt szinte egész évben. A korábbi felméréssel összevetve a 15 év alatt a vírus abundancia kismértékű (1,5-2-szeres) emelkedése és a baktérium mennyiségének csökkenése figyelhető meg.

Bevezetés

A vírusok, létszámukat tekintve a leggyakoribb organizmusok a Földön, minden ökoszisztémában megtalálhatóak. Ez a tény mintegy két évtizeddel ezelőtt vált ismerté és kezdődött kutatásuk (BERGH *et al.*, 1989). Gyorsan bebizonyosodott, hogy létszámuknál fogva figyelemreméltó szerepet játszanak a fito- és bakterioplankton mortalitásában (PROCTOR & FUHRMAN, 1990, SUTTLE *et al.*, 1990). A lízis által felszabaduló sejttananyagok könnyen hozzáférhető tápanyagforrást jelentenek a fito- és bakterioplankton szervezetek számára, ezzel jelentősen hozzájárulva a tápanyagok mikrobiális körforgásához (SUTTLE, 2005; ALLEN & WILSON, 2008).

A Balatonban a vírusok jelentősége jórészt ismeretlen, a tavon belül betöltött funkcionális szerepükről szinte semmi információt nem közöltek. Az ezredfordulón végeztek egy hároméves felmérésorozatot, amely befejeztével rendelkezésre állnak az adott években levő vírus abundancia értékek és lépések története egyes vírus partikulumok morfológián alapuló tipizálására elektromikroszkópiával, ugyanakkor a program nem terjedt ki a vírusok funkcionális szerepének feltárására (ELEKES *et al.*, 2000, 2001, 2002).

Az ezredfordulótól napjainkig megfigyelhető változások kapcsán első lépésben célnk volt újra felmérni a vírus abundanciában bekövetkező szezonális változásokat a Balatonban.

Anyag és módszerek

Mintavételi helyek, időpontok

A vírusok, vírusszerű partikulumok számának változását 2015-ben 12 alkalommal, közel havi gyakorisággal (02.12., 03.23., 04.27., 05.21., 06.15., 07.20., 08.10., 08.31., 09.30., 10.26., 11.23. és 12.09.) követtük nyomon. A vízmintákat a Balaton két trofitás szempontjából legeltérőbb medencéjének (Siófoki-medence 46°55'19.0"N; 17°55'53.6"E és Keszthelyi-medence 46°44'05.8"N; 17°16'32.0"E), mederközép részén, valamint a Balaton legnagyobb befolyójának a Zala-folyó torkolati részén (46°42'14,9"N; 17°15'35,8"E) vettük vízoszlop mintavevővel. A hűtőtáskában laboratóriumba szállított vízminták a-klorofill pigment tartalmát metanolos kivonást (IWAMURA *et al.*, 1970), a lebegőanyag tartalmát szűrés (Whatman GF/F filter) és tömegállandóságot való szárítást (105°C, 24 h) követően gravimetriás méréssel határoztuk meg.

Autofluoreszkáló fotoautotróf pikofitoplankton mennyiségének meghatározására

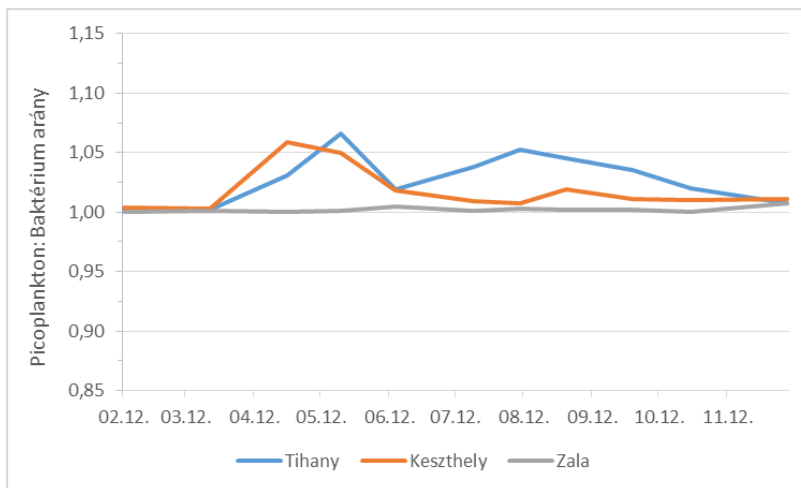
Az autofluoreszkáló fotoautotróf pikofitoplankton mennyiségének meghatározására a vízmintákat 0,45µm pórusátmérőjű fekete kevert-észter membránfilterre (Porafil, Macherey-Nagel) szűrtük majd glicerinbe ágyazva kék és zöld gerjesztés mellett a világító sejteket fluoreszcens mikroszkóppal (Nikon Optiphot 2, 1000x nagyítás, B-2A és G-2A filter) számoltuk meg MACISAAC & STOCKNER (1993) alapján.

Vírusok, vírusszerű partikulumok és baktériumok számának meghatározása

A vírus és vírusszerű partikulumok, valamint a baktériumok számának meghatározásához fluoreszcens technikát alkalmaztunk (PATEL *et al.*, 2007). A vízmintákat formalin (2%, V/V) hozzáadásával tartósítottuk. A számolás alkalmával a vízmintákat igény szerinti hígítást követően 0,02µm pórusátmérőjű Al₂O₃ filterre (Anodisk, Whatman) szűr-

A vírusok mennyiségének szezonális változása

tűk, majd SYBRGreen I fluoreszcens festékekkel jelöltük a nukleinsav tartalmú partikulumokat, sejteket. A jelölést követően az intenzív sárga fényt kibocsájtó objektumokat fluoreszcens mikroszkóppal fényképeztük (Olympus BX-51, 1000x nagyítás, U-MWB filter), majd ImageJ program kijelölő segédlete segítségével számoltuk. A világító objektumok mérete alapján különítettük el a vírusokat vírusszerű partikulumokat (későbbiekben vírusok) a pikoplankton (0,2-2 μ m) szervezetektől. A baktériumszámot az összes világító pikoplankton méretű objektum és az autofluoreszkáló fotoautotróf picoszervezetek különbsége adta. Az utóbbiak száma nagyságrendekkel kevesebb volt (**1. ábra**).



1. ábra. A pikoplankton szervezetek (0,2-2 μ m) és a baktériumok arányának szezonális változása a Balatonban 2015-ben.

Eredmények és megbeszélésük

A lebegőanyag és az a-klorofill pigment mennyiségének szezonális változása

A vízminták lebegőanyag tartalma (**2.A ábra**) a mintavételi időpontokban számottevően nem tért el a Balatonban mért átlagos értékektől (20-30 mg l^{-1}), sem a keleti, sem a nyugati medencében. A Zala-folyó torkolati szakaszában értékei (az augusztus végi mintát kivéve, 15,75 mg l^{-1}) rendre alacsonyabbak voltak a balatoni értékeknél.

A fitoplankton mennyiségének egyik legelterjedtebben alkalmazott mérőszáma az a-klorofill pigment tartalom a vízben. Értékei (**2.B ábra**) a Siófoki-medencében a mintavételi időpontokban 1,95 $\mu\text{g l}^{-1}$ és 8,73 $\mu\text{g l}^{-1}$ között változott, nem mutatott jelentősebb szezonálisan változást. A Keszthelyi-medence vizében értékei, mint ahogy a sokévi átlag is tükrözi, 2016-ban is magasabbak voltak. A legalacsonyabb mért érték 6,01 $\mu\text{g l}^{-1}$ volt, míg a legmagasabb értéket (38,65 $\mu\text{g l}^{-1}$) augusztus 31-i mintázáskor mértük. A Balatonra jellemző trofikus gradiens kialakulása 2016-ban is megfigyelhető volt a Keszthelyi-medencében megfigyelhető kisebb mértékű tavaszi, majd az egyértelműen kimutatható nyári algacsúccsal. A Balaton legnagyobb befolyójának, a Kis-Balatont átszelő Zala-folyónak a torkolatában mért értékek a Siófoki-medence értékeihez közelítőek voltak (1,65-13,7 $\mu\text{g l}^{-1}$) az augusztusi mintavételek kivételével. E hónapban a vízben az a-klorofill tartalom kiugró értékre emelkedett (127,24 $\mu\text{g l}^{-1}$), melyet a *Cylindrospermopsis raciborskii* nitrogénkötő cianobaktérium fonalainak tömeges jelenléte okozott.



2. ábra. A lebegőanyag (A), az a-klorofill pigment (B), a baktériumok (C) és a vírusok (D) mennyiségének szezonális változása a Balatonban 2015-ben.

Baktériumok mennyiségének szezonális változása

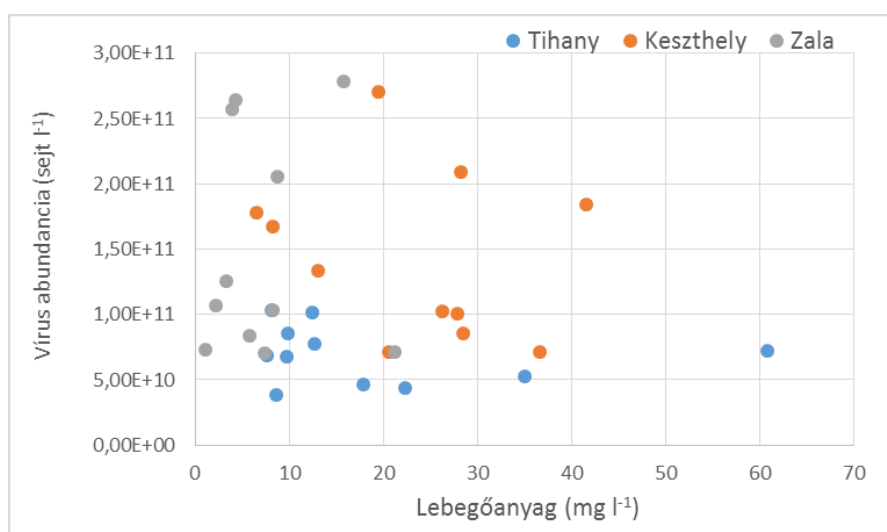
A baktériumok mennyisége (**2.C ábra**) a Siófoki-medence mintavételi helyén júniusi-júliusi mérsékelt emelkedést ($5,61 \times 10^9$ sejt l^{-1}) leszámítva éves szinten nem mutatott jelentősebb változást ($2,56 \times 10^9 - 4,35 \times 10^9$ sejt l^{-1}). A Keszthelyi-medencében a szezonális hatás kifejezettebb, a nyári periódusban határozottan magasabb baktériumszámokat kaptunk ($9,35 \times 10^9 - 1,12 \times 10^{10}$ sejt l^{-1}), mint a hidegebb hónapokban ($3,65 \times 10^9 - 6,40 \times 10^9$ sejt l^{-1}). A Zala-folyó torkolatában észleltük a legalacsonyabb ($8,35 \times 10^8 - 2,11 \times 10^9$ sejt l^{-1} a hideg téli hónapokban) és a legmagasabb értéket is ($1,36 \times 10^{10}$ sejt l^{-1} nyáron) amely megegyezett a torkolatban mért a-klorofill csúcs időpontjával.

Vírusok mennyiségének szezonális változása

A vírusok mennyisége (**2.D ábra**) a Siófoki-medence mintavételi helyén nem mutatott számottevő változást az év folyamán. A tavaszi enyhe csökkenést ($7,77 \times 10^{10} - 3,88 \times 10^{10}$ sejt l^{-1}) követően a számuk szinte folyamatosan enyhén emelkedett decemberig ($1,04 \times 10^{11}$ sejt l^{-1}). Ezzel ellentétben az átlagosan 2-3-szor magasabb vírus abundanciát mutató keszthelyi mintavételi helyen a vírusok számának változása határozott szezonális mintázatot mutatott. Az éves vírus abundancia maximumok a tavaszi kisebb csúcsnál egy hónapos késéssel, az augusztusi éves csúcsnál ($2,70 \times 10^{11}$ sejt l^{-1}) pedig pontosan megegyezett az a-klorofill maximumok időpontjával. A Zala-folyó torkolatában vett vízminták éves vírus abundancia ($2,78 \times 10^{11}$ sejt l^{-1}) és a-klorofill maximum időpontjai is egy időpontra estek. Az év elején a folyótorkolatban a vírus abundancia a keszthelyi értékekkel szinte együtt halad, míg június és júliusban több mint kétszeresével múlta felül azokat. Ugyanakkor a vírusok száma az augusztusi csúcs után a siófoki értékekre esett vissza.

A számolás nem ad lehetőséget a vírusok gazda specifikálására, hiszen a fluoreszcens festék nem specifikus nukleinsavkötő sajátossága nem elégséges a különböző vízben élő állatok, növények, algák, gombák, baktériumok vírusainak azonosítására. A pigment csúcsok és a vírusszám maximumok egybeesései a gazda-parazita kapcsolatból, valamint a lítikus életciklusból kiindulva jelzésértékűek lehetnek arra vonatkozólag, hogy a fitoplankton specifikus vírusok mennyisége növekedett az adott időszakban. Ugyanakkor a lízis által felszabadult szerves anyag mennyisége a baktériumok szaporodását is jelentősen felgyorsíthatja.

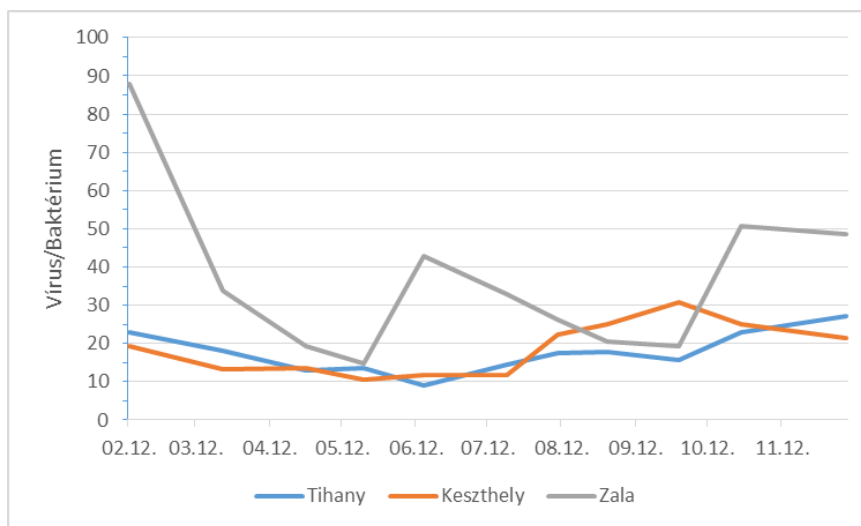
A lebegőanyag, mint adszorbens, illetve közösségi élettér jelentős befolyást gyakorolhat a vírusok mennyiségére az adott víztérben, azonban a kapcsolat negatív hatását gyakrabban tapasztalják (WEINBAUER *et al.*, 2009). Vizsgálatainkban is inkább negatív összefüggést vélünk felfedezni a lebegőanyag mennyiségének változása és a vírusszám között (**3. ábra**) azonban az egyértelmű korreláció megállapítására több éves adatsor, illetve időjárásra való tekintet nélküli (viharos körülmények) gyakoribb mintavételezések adnának lehetőséget.



3. ábra. A vírusok mennyiségének változása a lebegőanyag függvényében a Balatonban 2015-ben.

Vírusok előfordulnak a legváltozatosabb körülmények között a sivatagtól a sarkvidékig. A természetes környezetben meghatározott vírus abundanciák nagyságrendileg a 10^7 - 10^{11} sejt l⁻¹ értéktartományban mozognak (WOMMACK & COLWELL, 2000). A Balatonban meghatározott értékek ennek a skálának a felső tartományában helyezkednek el. A 2000-2002 évi felmérés sorozatban az algabiomassza csúcsok ideje nem mindig egyezett a baktériumok, illetve a vírusok abundancia csúcsaival. A vírusok abundanciája általánosan inkább növekedést (1,5-2-szeres) mintsem csökkenést mutat.

A vírusok száma általában különböző víztesteknél egy nagyságrenddel nagyobb, mint az adott helyen meghatározott baktériumszám (WEINBAUER, 2004). A Balatonban minkét mintavételi helyen a vírus/baktérium arány a legtöbb alkalommal 10 és 20 között változott, azonban a Zala-folyó torkolatában a vírusok mennyisége akár 88-szor felülmúlta a baktériumok számát 2015-ben (**4. ábra**). A 2000-2002 évi felmérés sorozatban rendre alacsonyabb értékek adódtak, a magasabb baktérium abundancia következményeként.



4. ábra. A vírus baktérium arány szezonális változása a Balatonban 2015-ben.

A Balatonban a vírusok szerepe és jelentősége ismeretlen, pedig mint látjuk a legnagyobb számban jelenlevő organizmusok. A tavon belüli életciklusukról, potenciális fertőzőképességükről, gazda-specificitásukról és az anyagforgalomban betöltött szerepükről keveset tudunk. Ezen irányú vizsgálatok mindenképpen hiánypótló munkák lennének, melyek alapvetően hozzájárulnának a Balaton és párhuzamosan a vízi ökoszisztémák anyagforgalmában kulcsszerepet betöltő mikrobiális folyamatok jobb megértéséhez.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük Németh Balázsnak és Dobos Gézáknak a terepi mintavételezésben való segítségét, valamint Horváth Viktória laboratóriumi munkákban nyújtott segítségét.

Irodalom

- ALLEN, M. J., & W. H. WILSON, 2008. Aquatic virus diversity accessed through omic techniques: a route map to function. *Curr. Opin. Microbiol.* **11**: 226-232.
- BERGH, Ø., K. Y. BØRSHEIM, G. BRATBAK & M. HELDAL, 1989. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature* **340**: 467-468.
- ELEKES, K., L. VÖRÖS, E. HEGEDŰS, ZS. N. FEKETE, B. BALÁZS & L. FERENCZY, 2001. Vírusok elektronmikroszkópos azonosítása és bakteriofágok potenciális szerepe a toxintermelő cianobaktériumok elterjedésében a Balaton vizében. In: Mahunka S. & J. Banczerowski (szerk.) *A Balaton kutatásának 2000. évi eredményei.* Magyar Tudományos Akadémia, Budapest: 69-77.
- ELEKES, K., L. VÖRÖS, E. HEGEDŰS, ZS. N. FEKETE, B. BALÁZS & L. FERENCZY, 2002. Vírusok elektronmikroszkópos azonosítása és bakteriofágok potenciális szerepe a toxintermelő cianobaktériumok elterjedésében a Balaton vizében. In: Mahunka S. & J. Banczerowski (szerk.) *A Balaton kutatásának 2001. évi eredményei.* Magyar Tudományos Akadémia, Budapest: 64-73.
- ELEKES, K., L. VÖRÖS, E. HEGEDŰS, ZS. N. FEKETE, B. BALÁZS & L. FERENCZY, 2003. Vírusok elektronmikroszkópos azonosítása és bakteriofágok potenciális szerepe a toxintermelő cianobaktériumok elterjedésében a Balatonban III. In: Mahunka S. &

A vírusok mennyiségének szezonális változása

- J. Banczerowski (szerk.) A Balaton kutatásának 2002. évi eredményei. Magyar Tudományos Akadémia, Budapest: 61-69.
- IWAMURA, T., H. NAGAI, & S. ICHIMURA, 1970. Improved methods for determining contents of chlorophyll, protein, ribonucleic acid, deoxyribonucleic acid in planktonic populations. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* **55**: 131-147.
- MACISAAC, E. A. & J. G. STOCKNER, 1993. Enumeration of phototrophic picoplankton by autofluorescence In: KEMP, P. F., B. F. SHERR, E. B. SHERR & J. J. COLE (eds) *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: 187-197.
- PATEL, A., R. T. NOBLE, J. A. STEELE, M. S. SCHWALBACH, I. HEWSON & J. A. FUHRMAN, 2007. Virus and prokaryote enumeration from planktonic aquatic environments by epifluorescence microscopy with SYBR Green I. *Nature Protocols* **2**: 269-276.
- PROCTOR, L. M., & J. A. FUHRMAN, 1990. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria. *Nature* **343**: 60-62.
- SUTTLE, C. A., 2005. Viruses in the sea. *Nature* **437**: 356-361.
- SUTTLE, C. A., A. M. CHAN & M. T. COTTRELL, 1990. Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity. *Nature* **347**: 467-469.
- WEINBAUER, M. G., 2004. Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiology Reviews* **28**: 127-181.
- WEINBAUER, M. G., I. BETTAREL, R. CATTANEO, B. LUEF, C. MAIER, C. MOTEGI, P. PEDUZZI & X. MARI, 2009. Viral interactions with organic and inorganic particles in the water column: implications for aquatic microbial ecology. *Aquatic Microbial Ecology* **57**: 321-341.
- WOMMACK, K. E. & R. R. COLWELL, 2000. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **64**: 69-114.

Érkezett: 2016. november 08

Javítva: 2016. december 09

Elfogadva: 2016. december 12