

**Universitatea „BABEȘ-BOLYAI”**  
**Facultatea de Biologie și Geologie**  
**Departamentul de Biologie Moleculară și Biotehnologii**

**Teză de Doctorat**

**STUDII PRIVIND BIODIVERSITATEA  
PICOFITOPLANCTONULUI DIN UNELE LACURI  
SĂRATE DIN ROMÂNIA**

**Rezumat**

**Conducător de doctorat:  
Prof. Dr. Dragoș Nicolae**

**Student doctorand  
Keresztes Zsolt Gyula**

**Cluj-Napoca**

**2012**

<b><u>INTRODUCERE</u></b> .....	<b>5</b>
<b><u>ASPECTE TEORETICE</u></b> .....	<b>6</b>
<b><u>Caracterizarea generală a picofitoplanctonului</u></b> .....	<b>6</b>
<u>Factori biotici în controlul picofitoplanctonului</u> .....	10
<b><u>Taxonomia picofitoplanctonului</u></b> .....	<b>13</b>
<u>Diversitatea filogenetică a picofitoplanctonului procariot</u> .....	13
<u>Diversitatea filogenetică a picofitoplanctonului eucariot</u> .....	14
<b><u>Probleme metodologice în investigarea picofitoplanctonului</u></b> .....	<b>17</b>
<u>Prelucrarea probelor și investigații microscopice</u> .....	17
<u>Metode moleculare folosite în studiul picofitoplanctonului</u> .....	18
<b><u>Fitoplanctonul din ape hipersaline</u></b> .....	<b>21</b>
<b><u>Lacuri saline în Bazinul Transilvaniei</u></b> .....	<b>23</b>
<u>Lacuri saline din Ocna Dej</u> .....	24
<u>Lacuri saline din Sic</u> .....	26
<u>Lacuri saline din Cojocna</u> .....	28
<u>Lacuri saline din Turda</u> .....	30
<u>Lacuri saline din Ocna Mureș</u> .....	34
<u>Lacuri saline din Ocna Sibiului</u> .....	34
<b><u>OBIECTIVELE LUCRĂRII</u></b> .....	<b>36</b>
<b><u>MATERIALE ȘI METODE</u></b> .....	<b>37</b>
<b><u>Localizarea lacurilor și colectarea probelor</u></b> .....	<b>37</b>
<b><u>Caracterizarea fizică și chimică a lacurilor</u></b> .....	<b>41</b>
<b><u>Determinarea concentrației de clorofilă</u></b> .....	<b>42</b>
<b><u>Investigarea fitoplanctonului</u></b> .....	<b>42</b>
<b><u>Numărarea nanoflagelatelor heterotrofe</u></b> .....	<b>44</b>
<b><u>Tehnici de biologie moleculară</u></b> .....	<b>44</b>
<u>Extracție de ADN</u> .....	44
<u>Amplificare cu PCR</u> .....	44
<u>Electroforeză în gel denaturant (DGGE)</u> .....	46
<u>Analiza secvențelor</u> .....	46
<u>Analiza și prelucrarea datelor</u> .....	46

<b><u>REZULTATE</u></b> .....	<b>47</b>
<b><u>Compoziția ionică a lacurilor</u></b> .....	<b>47</b>
<b><u>Stratificarea lacurilor</u></b> .....	<b>47</b>
<u>Stratificarea apei în lacul 1 (Ocna Dej, Lacul Cabdic)</u> .....	48
<u>Stratificarea apei în lacul 2 (Sic, Lacul Băilor)</u> .....	49
<u>Stratificarea apei în lacul 3 (Sic, Lacul Săpat)</u> .....	51
<u>Stratificarea apei în lacul 4 (Cojocna, Lacul Băilor)</u> .....	51
<u>Stratificarea apei în lacul 5 (Cojocna, Lacul Durgău)</u> .....	52
<u>Stratificarea apei în lacul 7 (Turda, Lacul Tarzan)</u> .....	53
<u>Stratificarea apei în lacul 8 (Turda, Lacul Ocnei)</u> .....	54
<u>Stratificarea apei în lacul 9 (Turda, Lacul Rotund)</u> .....	55
<u>Stratificarea apei în lacul 6 (Ocna Sibiului, Lacul Oconița-Avram Iancu)</u> .....	56
<u>Stratificarea apei în lacul 10 (Ocna Sibiului, Lacul Fără Fund)</u> .....	56
<b><u>Starea trofică a lacurilor</u></b> .....	<b>58</b>
<b><u>Abundența și compoziția fitoplanctonului</u></b> .....	<b>59</b>
<u>Fitoplancton în lacul 1 (Ocna Dej, Lacul Cabdic)</u> .....	60
<u>Fitoplancton în lacul 2 (Sic, Lacul Băilor)</u> .....	61
<u>Fitoplancton în lacul 3 (Sic, Lacul Săpat)</u> .....	61
<u>Fitoplancton în lacul 4 (Cojocna, Lacul Băilor)</u> .....	61
<u>Fitoplancton în lacul 5 (Cojocna, Lacul Durgău)</u> .....	62
<u>Fitoplancton în lacul 7 (Turda, Lacul Tarzan)</u> .....	62
<u>Fitoplancton în lacul 8 (Turda, Lacul Ocnei)</u> .....	63
<u>Fitoplancton în lacul 9 (Turda, Lacul Rotund)</u> .....	63
<u>Fitoplancton în lacul 6 (Ocna Sibiului, Lacul Oconița-Avram Iancu)</u> .....	63
<u>Fitoplancton în lacul 10 (Ocna Sibiului, Lacul Fără Fund)</u> .....	64
<b><u>Nanoflegelate heterotrofe (HNF)</u></b> .....	<b>66</b>
<b><u>Diversitatea moleculară a fitoplanctonului</u></b> .....	<b>66</b>
<b><u>DISCUȚII</u></b> .....	<b>74</b>
<b><u>Caracteristicile fizico-chimice ale lacurilor studiate</u></b> .....	<b>74</b>
<b><u>Fitoplanctonul din lacurile saline din Bazinul Transilvaniei</u></b> .....	<b>75</b>
<u>Starea trofică</u> .....	75
<u>Nanofitoplanctonul</u> .....	75
<u>Picofitoplanctonul</u> .....	76
<b><u>Fitoplancton în gradient de salinitate</u></b> .....	<b>80</b>

<u>Diversitatea genetică a fitoplanctonului în lacurile sărate studiate</u> .....	83
<u>CONCLUZII</u> .....	86
<u>MULȚUMIRI</u> .....	88
<u>BIBLIOGRAFIE</u> .....	89
<u>PUBLICAȚIILE AUTORULUI DIN DOMENIUL TEZEI</u> .....	99
<u>ALTE PUBLICAȚII ALE AUTORULUI</u> .....	99
<u>Cărți</u> .....	99
<u>Articole</u> .....	99
<u>Rezultate prezentate în conferințe internaționale</u> .....	100
<u>Rezultate prezentate în conferințe naționale</u> .....	101
<u>PARTICIPĂRI ÎN PROIECTE DE CERCETARE</u> .....	103

Rezumat

**CUVINTE CHEIE:** Picofitoplancton, Lacuri saline, Transylvania, *Synechococcus*,  
*Picochlorum*

## ASPECTE TEORETICE

### Clasificarea fitoplanctonului

Planctonul poate fi divizat pe baza unor criterii taxonomice sau dimensionale. După Dussart (1965) și Sieburth *et al.* (1978) fitoplanctonul poate fi împărțit în grupe de mărime după cum urmează:

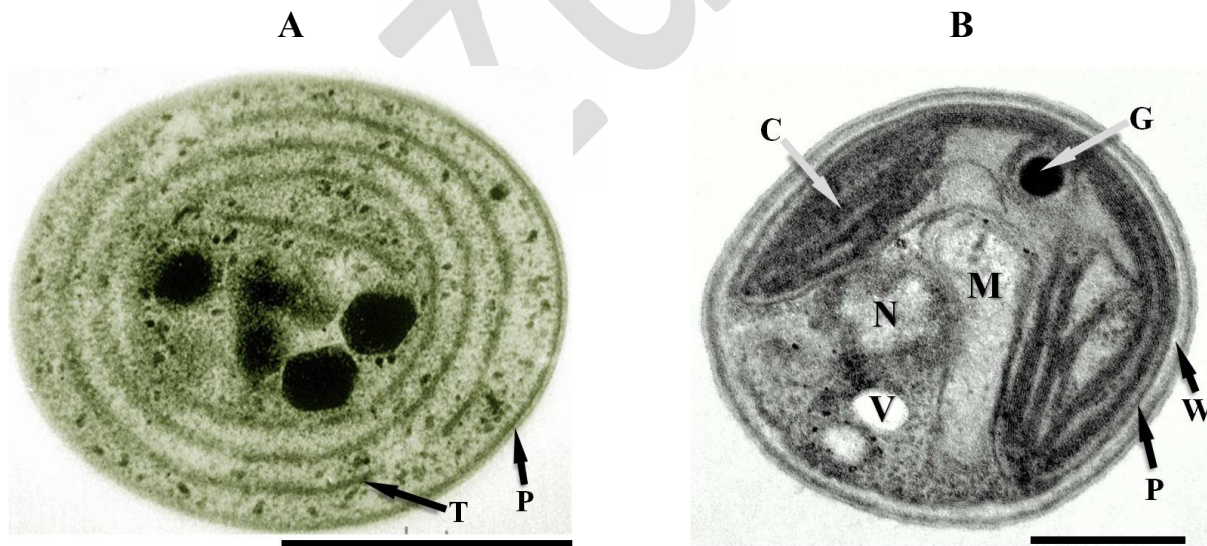
Macroplancton: 2000-200  $\mu\text{m}$

Microplancton: 200-20  $\mu\text{m}$

Nanoplancton: 20-2  $\mu\text{m}$

Picoplancton: 2-0,2  $\mu\text{m}$

Picoplanctonul autotrof sau fotosintetizant (PPP) are o răspândire globală în mediile acvatice, fiind alcătuit din cianobacterii și alge unicelulare cu dimensiuni cuprinse între 0,2-2  $\mu\text{m}$ . În general celulele eucariote sunt mai mari decât celulele de picocianobacterii din cauza că eucariotele sunt caracterizate printr-o structură celulară mai complexă (**Fig. 1.**)



**Figura 1.** Imagine a cianobacteriei *Synechococcus sp.* (A), (Terry Beveridge, 2012) și a algei unicelulare *Chloroparva pannonica* (B), (Somogyi *et al.*, 2011) la microscopul electronic cu

transmisie. C = cloroplast; W = perete celular; T = membrană tilacoidală, M = mitocondrie; N = nucleu; G = plastoglobul; P = membrană celulară; V = vacuolă. Bara = 0,5  $\mu$ m.

Existența picoplanctonului a fost descoperită doar după 1980, datorită unei noi tehnici de microscopie prin epifluorescență și a citometriei de flux (Callieri și Stockner 2002). Distincția între PPP și microorganismele heterotrofe este posibilă datorită autofluorescenței pigmentilor fotosintetici. Pe baza autofluorescenței putem distinge trei grupe majore de organisme care compun picoplanctonul: cianobacterii bogate în ficoeritrină (PE), cianobacterii în care predomină ficocianina (PC) și alge fără ficobiliproteine (EuPPP).

La microscopul de epifluorescență, sub excitație cu lumină albastră-violet algele verzi apar roșii-purpuri datorită fluorescenței clorofilei *a*, picocianobacteriile bogate în ficoeritrină (PE) apar galbene și cianobacteriile în care predomină ficocianina (FC) emit fluorescență roșie deschisă. Sub excitație verde toate componentele PPP apar în culoare roșie, dar intensitatea fluorescenței crește semnificativ la picocianobacterii, în timp ce fluorescența picoalgelor scade în intensitate.

### **Picofitoplanctonul în ape continentale**

În ape continentale PPP a fost studiat în lacuri ultra-oligotrofe cum ar fi Lacul Baikal, în lacuri arctice, în iazuri și lacuri superficiale eutorfe. Există o diferență semnificativă în compoziția, abundența și diversitatea picoplanctonului corpurilor de apă, în funcție de gradientii trofici și de sezon. Picocianobacteriile unicelulare sunt foarte abundente în lacuri oligo- și oligomezotrofe, în timp ce formele coloniale apar mai ales în ape mezotrofe și eutrofe. În general abundența picoalgelor (PPP eucariot) este mai mică cu un ordin de mărime față de picocianobacterii, iar în regiunile temperate au tendința de a arăta abundența maximă iarna sau primăvara. Picocianobacteriile au de obicei abundența maximă în timpul verii.

Contribuția PPP la producție primară a planctonului poate să fie foarte mare, de exemplu în lacul oligotrof Baikal această contribuție a fost de 80% (Nagata *et al.* 1994), iar în lacul Balaton (lac oligo-mezotrof) a variat în jurul a 50% în timpul verii, când prezența cianobacteriilor cu capacitate de a fixa azotul atmosferic a fost neglijabilă (Vörös *et al.* 1991).

Comunitatea de picoalge și picocianobacterii poate juca un rol important în procesele biogeochimice din lacuri, iar schimbările în producția de substanțe organice realizată de picoplanctonul autotrof poate afecta profund troficitatea apei, precum și fauna și comunitățile bacteriene din mediile acvatice. Prin urmare, PPP reprezintă o importantă sursă de carbon asimilabil, ca bază a lanțurilor trofice acvatice. Consumatorii primari ai picoplanctonului sunt în special protozoarele (Callieri și Stockner 2002).

De la descoperirea picoplanctonului autotrof de după 1980, cunoștințele despre fiziologia și ecologia acestuia s-au acumulat rapid. S-a demonstrat că PPP conține cei mai vechi supraviețuitori ai mărilor primordiale și sunt cei mai vechi producători primari de substanțe organice din ecosistemele acvatice, cu o remarcabilă capacitate de adaptare la medii extreme.

### **Diversitate și taxonomie**

În ciuda importanței lor deosebite, cunoștințele noastre referitoare la taxonomia, filogenia și diversitatea organismelor care alcătuiesc picoplanctonul autotrof sunt foarte limitate. Identificarea acestor microorganisme prin metode algologice clasice este dificilă din cauza dimensiunilor mici și a lipsei caracterelor morfologice distinctive, precum și datorită plasticității lor în funcție de condițiile de mediu. Studiile ecologice, biochimice (în deosebi ale pigmentilor fotosintetici și ale metaboliților specifici), ultrastructurale (de microscopie electronica cu baleiaj și de transmisie) și în mod special metodele moleculare (DGGE, FISH, clonare, secvențiere) au îmbunătățit în ultimii ani caracterizarea acestor microorganisme autotrofe.

De obicei, investigarea picoplanctonului începe cu observarea celulelor folosind microscopia cu epifluorescență, realizându-se astfel o primă distincție bazată pe autofluorescența pigmentilor fotosintetici. O tehnică rapidă pentru numărarea celulelor de diferite dimensiuni este reprezentată de citometria de flux. Cu aceste tehnici a fost posibilă în ultimii ani descrierea dinamicii PPP în timp și spațiu în tot mai multe ecosisteme acvatice.

Folosirea metodelor moleculare oferă o alternativă promițătoare la identificarea speciilor și în examinarea filogenetică a picoplanctonului procariot și eucariot. Introducerea metodelor moleculare în ecologia microalgelor face posibilă identificarea celor mai mici producători primari ai mediilor acvatice. Izolarea, identificarea și caracterizarea moleculară a tulpinilor de alge este o tehnică utilizată pentru a obține informații despre filogenia picoalgelor (la picocianobacterii pe baza ARNr 16S, la picoalge pe baza ARNr 18S) (Nubel *et al.* 1997, Diez *et*

*al.* 2001a). Cu toate acestea, nu există nici o garanție că organismele introduse în culturi celulare sunt cele dominante în cadrul comunităților naturale (Guillou 1999, Lim 1999). Față de izolarea unor tulpini de picoalge din probe de apă, metodele moleculare independente de cultivare oferă informații noi despre diversitatea PPP, în special despre speciile necultivabile în mediile artificiale cunoscute. În ultimii ani clonarea genei ARNr a făcut posibilă evaluarea diversității PPP marin (Giovannoni *et al.* 1990). Tehnicile de amprentare, cum ar fi DGGE (electroforeza în gradient de gel denaturant) și T-RFLP (polimorfismul lungimii fragmentelor terminale de restricție) oferă cel mai bun compromis între numărul de probe prelucrate și informațiile obținute. DGGE, în special, oferă atât o comparație rapidă a datelor despre numeroase comunități de picoalge, cât și informații filogenetice specifice derivate din benzile excizate (Muyzer și Smalla 1998, Diez *et al.* 2001b, Marie *et al.* 2006, Felföldi *et al.* 2009). Pentru a explora compoziția naturală a picoplanctonului, în general sunt folosite amorse universale (pt. ARNr 16S sau 18S) sau specifice (cpcBA-IGS sau rbcL, gena unei subunități a enzimei Rubisco) (Nubel *et al.* 1997, Robertson *et al.* 2001, Diez *et al.* 2001a).



## **OBIECTIVELE LUCRĂRII**

Deși cercetarea fitoplanctonului are o mare tradiție în România, atât în ape dulci cât și în mediile saline, comunitățile de picofitoplancton încă nu au fost studiate. Prin urmare, distribuția și diversitatea picofitoplanctonului în lacurile sărate din România a rămas necunoscută până în prezent. Din aceste motive obiectivele studiului au fost:

- Determinare proprietăților fizico-chimice ale lacurilor saline din Bazinul Transilvaniei și investigarea condițiilor de stratificare ale acestor lacuri pe timp de vară și de iarnă
- Determinarea stării trofice a unor lacuri saline din Bazinul Transilvaniei
- Caracterizarea distribuției, abundenței, dinamicii și importanței picofitoplanctonului din aceste lacuri saline
- Evaluarea diversității genetice a fitoplanctonului, cu accent pe picofitoplanctonul lacurilor saline.

## MATERIALE ȘI METODE

Zece lacuri saline, cu diferite suprafețe, adâncimi, nivele de salinitate și stări ecologice au fost alese pentru studiu. Aceste lacuri sunt localizate în Bazinul Transilvaniei (România), toate la mai puțin de 150 km distanță de Cluj-Napoca (Fig. 2)



**Figura 2.** Localizarea lacurilor încadrate în studiu: Ocna Dej: Lacul Cabdic (1), Sic: Lacul Băilor (2) și Lacul Săpat (3), Cojocna: Lacul Băilor (4) și Lacul Durgău (5), Turda: Lacul Tarzan (7), Lacul Ocnei (8) și Lacul Rotund (9), Ocna Sibiului: Lacul Očnița-Avram Iancu (6) și Lacul Fără Fund (10).

Principalele caracteristici fizico-chimice ale apei, cum ar fi: temperatura, conductivitatea electrică, pH-ul, concentrația de oxigen dizolvat, transparența Secchi și grosimea de gheață (în

timpul ierni) au fost determinate pe teren. Probele de apă nefixate au fost transportate în laborator în cutii termoizolante, în condiții de întuneric, pentru analize ulterioare. În laborator a fost determinată concentrația clorofilei *a*, iar studierea picofitoplanctonului a fost efectuată prin microscopie de epifluorescență. Abundența și compoziția nanoplanctonului a fost determinată cu ajutorul unui microscop inversat. Tehnicile de biologie moleculară (DGGE, clonare, secvențializare) au fost aplicate pentru identificarea speciilor din fitoplancton.

## DISCUȚII

### **Caracteristicile fizico-chimice ale lacurilor**

În lacurile investigate concentrația de sare depășește salinitatea oceanelor (Puyate & Rim-Rukeh, 2008), și pe baza sintezei mai multor sisteme de clasificare aceste lacuri se încadrează la mediile acvatice hipersaline (Covardin *et al.*, 1979, Hammer, 1986). Analizând profilul de temperatură al lacului Fără Fund din Ocna Sibiului, s-a evidențiat o heliatermie tipică. Apariția heliatermiei coincide cu dispariția perturbărilor umane. S-a putut concluziona că scăldatul intensiv din timpul verii influențează în mod semnificativ stratificarea naturală a apei acestor lacuri sărate.

### **Fitoplanctonul din lacurile saline din Bazinul Transilvaniei**

#### ***Starea trofică a lacurilor***

În majoritatea lacurilor investigate concentrația fosforului indică condiții hipertrofice ca rezultat al perturbării umane pronunțate. Cea mai mare concentrație de fosfor total a fost găsită în lacul Băilor Cojocna, unde în momentul colectării densitatea turiștilor în lac era de 1164 persoane/ha. Conform rezultatelor noastre, scăldatul intensiv modifică semnificativ structura fizică a coloanei de apă și contribuie la creșterea concentrației nutrienților pentru alge, ducând la înmulțirea masivă a acestora, când concentrația clorofilei *a* devine extrem de mare. De exemplu, în Lacul Săpat din Sic concentrația clorofilei *a* a fost în medie de 1713  $\mu\text{g L}^{-1}$  în timpul verii anului 2010. Valorile de biomasă extrem de mari observate în aceste lacuri sunt foarte rare în habitate naturale.

## *Picofitoplanctonul*

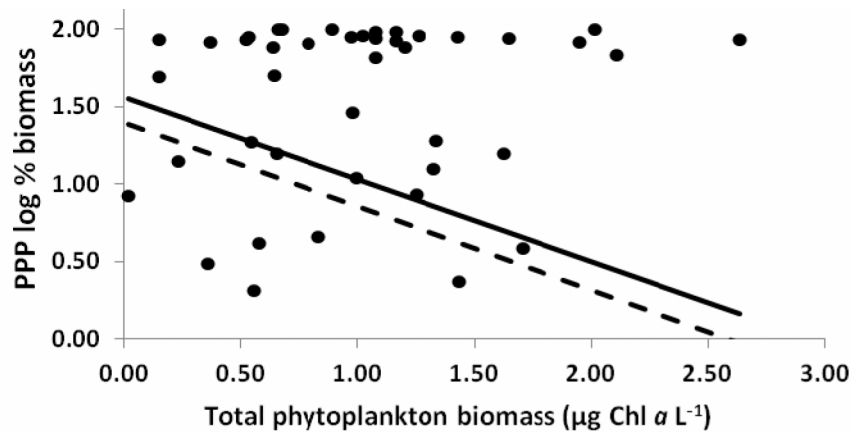
Cu excepția Lacului Săpat, în fiecare lac studiat a fost confirmată prezența picofitoplanctonului. În pofida concentrației mari de sare, picofitoplanktonul a fost prezent cu o abundență și biomasă extrem de mare în comparație cu datele găsite în literatură (**Tab. 1**).

Tabel 1. Abundența maximă a PPP găsită în literatură, în comparație cu rezultatele noastre

Abundența PPP (10 <sup>6</sup> celule mL <sup>-1</sup> )	Origine	Referință
0,03 (picoeucariote)	Lac hipersalin, Tibet	Wu <i>et al.</i> , 2009
0,09 (picoeucariote)	Lac de mină salin	Zippel & Schimmele, 1998
0,48 (picocianobacterii)	Lac adânc hiposalin	Okada <i>et al.</i> , 2007
1,40 (picocianobacterii și picoeucariote)	Lagună	Schapira <i>et al.</i> , 2010
1,60 (picocianobacterii și picoeucariote)	Lac salin tropical	Macek <i>et al.</i> , 2009
7,06 (picoeucariote)	Lacuri hipersaline din România	Studiul actual
7,30 (picocianobacterii)	Lacuri hipersaline din România	Studiul actual
8,0 (picocianobacterii)	Lac salin, Antarctica	Powel <i>et al.</i> , 2005

Am constatat că în majoritatea lacurilor PPP a dominat fitoplanctonul cel puțin într-un caz pe durata studiului, cu o contribuție semnificativă, variind între 63-100% din biomasa totală a fitoplanctonului.

Rezultatele noastre arată că PPP în lacurile sărate din Bazinul Transilvaniei nu urmează tendința descrisă în mai multe publicații pentru alte medii acvatice (Szelag-Wasielewska, 1997, Bell & Kalff, 2001), conform cărora abundența relativă a PPP scade cu creșterea troficității. În lacurile sărate încadrate în acest studiu importanța relativă a PPP nu arată modificări cu schimbarea toficității (**Fig. 3**). În aceste lacuri sărate PPP a dominat (până la 100%) fitoplanctonul chiar și la o stare trofică foarte ridicată (99% la 431 μg Chl-*a* L<sup>-1</sup>).



**Figura 3.** Raportul între biomasa picofitoplanctonului (log%) și biomasa totală a fitoplanctonului ( $\mu\text{g Chl } a \text{ L}^{-1}$ ) în lacurile sărate din Bazinul Transilvaniei (puncte). Linia reprezintă contribuția PPP în ape dulci, linia punctată reprezintă contribuția PPP în mediul marin.

### **Diversitatea genetică a fitoplanctonului în lacurile sărate studiate**

Conform analizei secvențelor ARNr 16S picofitoplanctonul procariot a fost alcătuit din specii de *Synechococcus* de origine marină, conform celor publicate de Fuller *et al.* (2003). În lacul Ocnița-Avrăm Iancu din Ocna Sibiului a fost identificată specia *Picochlorum oklahomense* UTEX 279. Membrii genului *Picochlorum* sunt picoalge și pot fi găsite atât în mediul marin, cât și în lacuri saline. În acest studiu pe lângă specii ale picofitoplanctonului marin am identificat mai multe specii marine de criptofite și de haptofite.

## CONCLUZII

Lacurile sărate studiate din Bazinul Transilvaniei sunt supuse unei impact uman foarte pronunțat. Scăldatul intensiv și necontrolat distruge stratificarea naturală a lacurilor, astfel stratificarea termică și chimică se poate dezvolta numai după sezonul estival. În cazul unui lac în care scăldatul a fost restricționat, se poate observa fenomenul heliotermiei. În timpul iernii o stratificare inversă puternică a fost detectabilă în aceste lacuri meromictice.

În toate lacurile investigate concentrația fosforului indică condiții hipertrofile, ceea ce este rezultatul impactului uman. Potrivit concentrației ridicate de fosfor, aceste lacuri au o mare productivitate primară și sunt bogate în alge planctonice. Nanoplanctonul acestor lacuri hipersaline este alcătuit din specii halotolerante comune, în cele mai multe cazuri fiind dominat de genul *Dunaliella*.

Picofitoplanctonul a fost prezent în număr mare în lacurile studiate și a dominat fitoplanctonul chiar și în condiții hipertrofile. În lacurile studiate dinamica sezonieră a picofitoplanctonului arată mari diferențe față de dinamica sezonieră a picofitoplanctonului descris în alte lacuri din zona temperată, în care picocianobacteriile domină picofitoplanctonul în timpul verii, iar picoeucariotele sunt dominante în timpul verii. Potrivit rezultatelor noastre, aceste lacuri au un caracter unic pentru că contribuția relativă a picofitoplanctonului la biomasa totală a fitoplanctonului nu scade odată cu creșterea troficității, cum se întâmplă în oceane și în lacuri dulci. Abundența picofitoplanctonului din aceste lacuri sărate se încadrează printre cele mai mari valori publicate din ape saline.

Metoda PCR-DGGE folosită în acest studiu este specifică pentru cianobacterii și alge, secvențe din microorganisme heterotrofe nu au fost identificate. Din lacurile sărate din Bazinul Transilvaniei au fost identificați 11 taxoni de alge și cianobacterii de origine marină sau din ape hipersaline. Picofitoplanctonul a fost reprezentat de specii marine de *Synechococcus* (Cyanobacteria) și de genul *Picochlorum* (Chlorophyta), aceasta fiind prima raportare din Europa Centrală și de Est pentru ambele grupuri. De asemenea, în nanofitoplanctonul lacurilor studiate au fost detectate specii marine de criptofite și haptofite.

## BIBLIOGRAFIE

- Bell T, Kalff J (2001) The contribution of picophytoplankton in marine and freshwater systems of different trophic status and depth. *Limnol. Oceanogr.* 46: 1243-1248.
- Callieri C, Stockner JG (2002) Freshwater autotrophic picoplankton: a review. *J. Limnol.* 61: 1-14.
- Cowardin LM, Carter V, Golet FC, Laroe ET (1979) Classification of wetlands and deepwater habitats of the United States. U.S. Fish and wildlife service rep. FWS/OBS-79/31. US Govt Printing Office, Washington D.C.: 103pp.
- Diez B, Pedros-Ailo C, & Massana R (2001a) Study of genetic diversity of eukaryotic picoplankton in different oceanic regions by small-subunit rRNA gene cloning and sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:2932-2941.
- Diez B, Pedros-Ailo C, Marsh, TL, Massana R (2001b) Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to study the diversity of marine picoeukaryotic assemblages and comparison of DGGE with other molecular techniques. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:2942-2951.
- Dussart BH (1965) Les different categories de plankton. *Hydrobiol.*, 26:72-74.
- Felföldi T, Somogyi B, Márialigeti K, Vörös L (2009) Characterization of photoautotrophic picoplankton assemblages in turbid, alkaline lakes of the Carpathian Basin (Central Europe). *J. Limnol.* 68: 385-395. DOI: 10.3274/JL09-68-2-21.
- Fuller NJ, Marie D, Partensky F, Vaultot D, Post AF, Scanlan DJ (2003) Clade-specific 16S ribosomal DNA oligonucleotides reveal the predominance of a single marine *Synechococcus* clade throughout a stratified water column in the Red Sea. *Appl Environ Microbiol* 69:2430-2443
- Giovannoni SJ, Britschgi TB, Moyer CL, Field KG (1990) Genetic diversity in Sargasso Sea bacterioplankton. *Nature* 345: 60-63.
- Guillou L, Chretiennot-Dinet MJ, Medlin LK, Claustre H, Loiseaux-deGoer S, Vaultot D (1999) *Bolidomonas*: a new genus with two species belonging to a new algal class, the Bolidophyceae (Heterokonta) *J. Phycol.* 35:368-381.
- Lim EL, Dennet ER, Caron DA (1999) The ecology of *Paraphysomonas imperforata* based on studies employing oligonucleotide probe identification in coastal water samples and enrichment cultures. *Limnol. Oceanogr.* 44:37-51.
- Hammer UT (1986) Saline lake ecosystems of the world. Dr W. Junk Publishers, Dordrecht, The Netherlands
- Macek M, Alcocer J, Lugo Vázquez A, Martínez-Pérez ME, Peralte Soriano L, Vilaclara Fatjó G (2009) Long term picoplankton dynamics in a warm-monomictic, tropical high altitude lake. *J. Limnol.* 68/2:183-192
- Marie D, Zhu F, Balague V, Ras J, Vaultot D (2006) Eukaryotic picoplankton communities of the Mediterranean Sea in summer assessed by molecular approaches (DGGE, TTGE, QPCR). *FEMS Microbiol. Ecol.* 55: 403-415.

- Muyzer G, De Waal EC, Uitterlinden AG (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 695-700.
- Nagata T, Takai K, Kawanobe K, Kim D, Nakazato R, Guselnikova N, Bondarenko N, Mologaway O, Kostronova T, Drucker V, Satoh Y, Watanabe Y (1994) Autotrophic picoplankton in southern Lake Baikal: abundance, growth and grazing mortality during summer. *J Plankt. Res.* 16: 945-959
- Nubel U, Garcia-Pichel F, Muyzer G (1997) PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3327-3332.
- Okada M, Taniuchi Y, Murakami A, Takaichi S, Ohtake S, Ohki K (2007) Abundance of picophytoplankton in the halocline of a meromictic lake, Lake Suigetsu, Japan. *Limnology* 8: 271-280
- Powell LM, Bowman JP, Skerratt JH, Franzmann PD, Burton HR (2005) Ecology of a novel *Synechococcus* clade occurring in dense populations in saline Antarctic lakes. *Mar Ecol Prog Ser* 291: 65–80
- Robertson BR, Tezuka N, Watanabe MM (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. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 861-871.
- Schapira M, Buscot MJ, Pollet T, Leterme SC, Seuront L (2010) Distribution of picophytoplankton communities from brackish to hypersaline waters in a South Australian coastal lagoon. *Saline Systems* 6/2:1-15
- Sieburth JN, Smetacek V, Lenz J (1978) Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnol. Oceanogr.* 23(6): 1256-1263
- Somogyi B, Felföldi T, Solymosi K, Makk J, Homonnay ZG, Horváth G, Turcsi E, Böddi B, Márialigeti K, Vörös L (2011) *Chloroparva pannonica* gen. et sp. nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) – a new picoplanktonic green alga from a turbid, shallow soda pan. *Phycologia* 50:1-10
- Szelag-Wasielewska E (1997) Picoplankton and other size groups of phytoplankton in various shallow lakes. *Hydrobiologia* 342/343: 79–85
- Terry Beveridge 2012: <http://www.sciencephoto.com/media/115212/view>
- Wu QL, Chatzinotas A, Wang J, Boenigk J (2009) Genetic diversity of eukaryotic plankton assemblages in Eastern Tibetan lakes differing by their salinity and Altitude. *Microb Ecol* 58:569-581
- Zippel B, Scimmele M (1999) Composition and dynamics of autotrophic picoplankton and spectral light distribution in saline mining lakes of Germany. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 2: 319-329



## **PUBLICAȚIILE AUTORULUI DIN DOMENIUL TEZEI**

1. **Zsolt Gyula Keresztes**, Tamás Felföldi, Boglárka Somogyi, Gyöngyi Székely, Nicolae Dragos, Károly Márialigeti, Csaba Bartha, Lajos Vörös (2012) First record of picophytoplankton diversity in Central European hypersaline lakes. *Extremophiles* 16:759–769. DOI 10.1007/s00792-012-0472-x (**IF: 2,943**)
2. **Keresztes Zsolt Gyula**, Nagy Erika, Somogyi Boglárka, Németh Balázs, Bartha Csaba, Székely Gyöngyi, Nicoale Dragoș, Vörös Lajos (2011) Trophic conditions of saline lakes in the Transylvanian-Basin. . *Hung. Hydrobiol. Soc* 91(6):46-48
3. Tamás Felföldi, Boglárka Somogyi, **Zsolt Gyula Keresztes**, Károly Márialigeti, Lajos Vörös (2012) Comments on the reliability of scientific papers using the example of picocyanobacteria inhabiting continental aquatic habitats. *Hung. Hydrobiol. Soc* 92/6:25-27
4. **Zsolt Gyula Keresztes**, Boglárka Somogyi, Emil Boros, Gyöngyi Székely, Csaba Bartha, Erika Nagy, Nicolae Dragoș, Lajos Vörös (2010) Picoplankton in soda lakes of the Carpathian Basin. *Contrib. Bot. XLV*: 41-46

### **Cărti**

1. Fodorpataki László, Papp Judit, Bartha Csaba, **Keresztes Zsolt Gyula**: Növényélettan és ökofiziológia laboratoriumi gyakorlatok. 2010 Kolozsvári egyetemi kiadó, ISBN 978-973-595-109-2
2. V.-Balogh Katalin, **Keresztes Zsolt Gyula**, Németh Balázs, Somogyi Boglárka, Vörös Lajos: Szervesanyagok szerepe a Balaton vízminőségének alakításában. A Balaton kutatásának 2008. évi eredményei, 2009. Szerkesztette: Bíró Péter, Banczerowski Januszné. MTA Budapest, ISSN 1419-1075

### **Participation on international scientific events:**

1. **Zsolt Gyula Keresztes**, Boglárka Somogyi, Tamás Felföldi, Erika Nagy, Csaba Bartha, Nicolae Dragos, Gyöngyi Székely, Lajos Vörös: Picophytoplankton blooms in Transylvanian hypersaline lakes. *Water resources and wetlands*. 14-16 September 2012, Tulcea, Romania

2. Andreea Baricz, Ștefan Adrian Andrei, Vasile Muntean, Cristian Coman, **Zsolt Gyula Keresztes**, Mircea Alexe and Horia Banciu: Spatial distribution of microbial communities along salinity gradient in six saline and hypersaline lakes from Transylvania (Central Romania). 9th International Congress on Extremophiles, 10-13 September 2012, Sevilla, Spain.
3. **Zsolt Gyula Keresztes**, Tamás Felföldi, Boglárka Somogyi, Csaba Bartha, Nicolae Dragos, Lajos Vörös, Gyöngyi Székely: Unknown picophytoplankton in Transylvanian salt lakes: great biotechnological potential in extreme environment. European Biotechnology Congress, 28.09.2011-01.10.2011, Istanbul, Turkey
4. **Zsolt Gyula Keresztes**, Boglárka Somogyi, Tamás Felföldi, Csaba Bartha, Nicolae Dragoș, Gyöngyi Székely, Lajos Vörös: Trophic state of Transylvanian hypersaline lakes. Interantional Conference on Ecological Problems of Tourist Lakes, 20-23 june,2011, Tihany, Hungary
5. **Zsolt Gyula Keresztes**, Emil Boros, Boglárka Somogyi, Lajos Vörös: Picoplankton in soda lakes of the Carpathian basin. Second International Conference on Phycology, Limnology and Aquatic Sciences, 14-16 febr. 2010, Port Said, Egypt

### **Participation on national scientific events:**

1. Keresztes Zsolt Gyula, Nagy Erika, Somogyi Boglárka, Németh Balázs, Dragoș Nicolae, Bartha Csaba, Székely Gyöngyi, Vörös Lajos : Pikofitoplankton dominancia az Erdélyi-Medence sós tavaiban. XII. Kolozsvári Biologus Napok, Kolozsvár, 2012 03. 30-31
2. **Keresztes Zsolt Gyula**, Nagy Erika, Somogyi Boglárka, Németh Balázs, Felföldi Tamás, Vörös Lajos: Erdély-i sós tavak fizikokémiai jellemzői. A Magyar Hidrológiai Társaság Szikes Vízi Munkacsoportjának éves találkozója. 2011. 06.17., Pusztaszer, Hungary
3. Felföldi Tamás, Somogyi Boglárka, **Keresztes Zsolt Gyula**, Márialigeti Károly és Vörös Lajos: A tudományos közlemények megbízhatóságának problémái a kontinentális vizekben élő legkissebb cianobaktériumok példáján. LIII. Hidrobiológus napok, Tihany, 2011.10.5-7

4. **Keresztes Zsolt Gyula**, Somogyi Boglárka, Németh Balázs, Székely Gyöngyi, Bartha Csaba, Nicolae Dragoş és Vörös Lajos: Néhány erdélyi sóstó rétegzettségi viszonyai 2011 telén. XII. Kolozsvári Biologus Napok, Kolozsvár, 2011.04.8-10
5. **Keresztes Zsolt Gyula**, Nagy Erika, Somogyi Boglárka, Németh Balázs, Batha Csaba, Székely Gyöngyi, Nicoale Dragoş, Vörös Lajos Az erdélyi medence sós tavainak trofitási viszonyai. LII. Hidrobiológus napok, Tihany, 2010.10.6-8.
6. **Keresztes Zsolt Gyula**, V.-Balogh Katalin, Dragoş Nicolae, Vörös Lajos: Diversitatea picoplanctonului autotrof și contribuția acestuia la producția primară a unor lacuri saline din Bazinul carpatic. Sesiunea Științifică Actualități în Biologia vegetală – Biodiversitate și etnoecosisteme, 24-25 septembrie 2010, Beliș, România.
7. **Keresztes Zsolt Gyula**, Vörös Lajos, Dragoş Nicolae: Epifluorescence microscopy and molecular techniques for investigation the diversity of the picoalgae. Transylvanian Scientific Days, Cluj-Napoca 20-21.11.2009.
8. **Keresztes Zsolt Gyula**, Ágyi Ákos, Vanyovszki József., Somogyi Boglárka, V.-Balogh Katalin, Vörös Lajos, Fodorpataki László: Influence of physical and chemical parameters of the aquatic environment on photosynthesis of microalgae. Transylvanian Scientific Days, Cluj-Napoca 23-24.11.2007

## ALTE PUBLICAȚII ALE AUTORULUI

### Articole

1. László Fodorpataki, **Zsolt Gyula Keresztes**, Szabolcs Barna (2010) Algal Toxins and their biological effects. Acta Scientiarum Transylvanica-Biologia, 18/1:5-21
2. V.-Balogh, Katalin, Balázs Németh, **Gyula Zsolt Keresztes**, Ákos Ágyi, Boglárka Somogyi, Lajos Vörös (2010) The relationship between organic carbon pool, bacterioplankton, and photolytic degradation of organic substances in shallow lakes. J. Hung. Hydrobiol. Soc 90(6): 154-156
3. Csaba Bartha, László Fodorpataki, Erika Nagy, **Zsolt Gyula Keresztes**, Gyöngyi Székely, Octavian Popescu (2010) Photosynthesis and water relations of leaf cells exposed to salt stress. Annals of RSCB, Vol. XV. Issue, 1/2010: 211-218

4. László Fodorpataki, Csaba Bartha, **Zsolt Gyula Keresztes** (2009) Stress-physiological reactions of the green alga *Scenedesmus opoliensis* to water pollution with herbicides. Anal. Univ. Oradea, Fas. Biol., XVI/1: 51-56
5. **Zsolt Gyula Keresztes**, Boglárka Somogyi, Balázs Németh, László Fodorpataki, Katalin V.-Balogh (2009) The effect of ultraviolet radiation on the biological availability of dissolved organic substances. J. Hung. Hydrobiol. Soc 86(6):126-128
6. **Zsolt Gyula Keresztes**, Katalin V.-Balogh (2009) Photolytical degradation of dissolved organic substances in a shallow freshwater lake. Acta Scientiarum Transylvanica-Biologia. 17/1:35-45
7. **Keresztes Zsolt Gyula**, Fodorpataki László, V.-Balogh Katalin (2008) Photochemical degradation of dissolved organic substances in Lake Balaton, J. Hung. Hydrobiol. Soc 88(6): 81-83

### **Rezultate prezentate în conferințe internaționale**

1. László Fodorpataki, **Zsolt Gyula Keresztes**, Csaba Bartha, Attila-László Márton, Szabolcs Barna: Suitability of a green microalgal strain for wastewater bioremediation and biomass production. European Biotechnology Congress, 28.09.2011-01.10.2011 Istanbul, Turkey
2. Csaba Bartha, László Fodorpataki, **Zsolt Gyula Keresztes**, Gyöngyi Székely, Octavian Popescu: Influence of Salt Stress on Photosynthesis on different letuce cultivars. Photosintesis Congress, Research for Food Fuel and Future, 22-27 08. 2010, Beijing, People's Republic of China
3. László Fodorpataki, **Zsolt Gyula Keresztes**, Csaba Bartha, Szabolcs Barna: Methylmethionine (Vitamine U) alleviates negative effects of chemical stressors of photosynthesis of the green alga *Scenedesmus opoliensis*. Photosintesis Congress, Research for Food Fuel and Future, 22-27 08. 2010, Beijing, People's Republic of China.

## Rezultate prezentate în conferințe naționale

1. **Keresztes Zsolt Gyula**, Somogyi Boglárka, Németh Balázs, Székely Gyöngyi, Bartha Csaba, Nicolae Dragoș és Vörös Lajos: Néhány erdélyi sóstó rétegzettségi viszonyai 2011 telén. XII. Kolozsvári Biologus Napok, Kolozsvár, 2011.04.8-10
2. **Keresztes Zsolt Gyula**, Somogyi Boglárka, Németh Balázs, Fodorpataki László, V.-Balogh Katalin: Az UV sugárzás hatása a bakterioplankton szaporodására az oldott szervesanyagok biológiai hozzáférhetőségének tükrében. Kolozsvári Biologus Napok, Kolozsvár. 2009.04. 3-4
3. **Zsolt Gyula Keresztes**, Erika Nagy, Csaba Bartha, Szabolcs Barna, László Fodorpataki: Modificări fiziologice și biochimice în celulele algale, ca bioindicatori ai calității a mediului acvatic. A XXVIII-a Sesiune științifică a societății Române de biologie celulară. 9-12 iunie 2010, Constanța, România.
4. Csaba Bartha, Erika Nagy, **Zsolt Gyula Keresztes**, Gyöngyi Székely, László Fodorpataki, Octavian Popescu: Fotosinteza și regimul hidric al celulelor foliare la diferite varietăți de *Lactuca sativa* expuse stressului de salinitate. A XXVIII-a Sesiune științifică a societății Române de biologie celulară. 9-12 iunie 2010, Constanța, România
5. V.-Balogh Katalin, Németh Balázs, **Keresztes Zsolt Gyula**, Ágyi Ákos, Somogyi Boglárka, Vörös Lajos : *A szerveszén „pool”, a bakterioplankton, a szervesanyagok fotolitikus bomlástermékeinek in situ vizsgálata sekély tavakban.* LII. Hidrobiológus napok, Tihany, 2009.09.30-10.02

## PARTICIPĂRI ÎN PROIECTE DE CERCETARE

Molecular phylogeny of picoalgae from Romanian salt lakes, CNCSIS/UEFISCDI

TE306/70