

Mikrobaszám és enzimaktivitás változása szárazbabfajták (*Phaseolus vulgaris* L.) rizoszférájában sóterhelés hatására

¹KHALIF A. ABDOUSSALAM, ¹ABDORHIM HAMED, ¹BAYOUMI HAMUDA E. A. F. HOSAM, ²OLDAL BÁLINT és ¹KECSKÉS MIHÁLY

¹Szent István Egyetem, Környezettudományi Doktori Iskola, Gödöllő–Budapest és
²MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet, Budapest

A talajban előforduló mikroorganizmusok által termelt enzimek a tápanyag-körforgalomban lejátszódó folyamatokat katalizálják, ezért minőségüktől és mennyiségüktől függően alkalmasak a különböző mikrobiális aktivitások becslésére is (MIKANOVA et al., 2001). Az enzimek között a foszfatáz növények táplálásában betöltött szerepe közismert, míg a fehérjék proteázok általi hidrolízise a talajban lejátszódó szerves-N-körforgalom egyik fontos lépése. Az állati, növényi és mikrobiális anyagok bomlása során az amidok hidrolízisét az ureáz és az amidáz végzi (DASH & PANDA, 2001), a β -glükózidáz pedig a cellulóz glükózzá történő teljes lebontásának fontos mediátora. A dehidrogenáz és a kataláz a redoxfolyamatok általános katalizátorai, mennyiségük ezért – ahogy a felsorolt többi enzimé – szintén a talaj mikrobiális aktivitásának kifejezője (TABATABAI, 1982; ANTAL & ANTON, 1986; ANTON et al., 1994).

Az ozmolaritás viszont a mikroorganizmusok élettevékenységét meghatározó egyik kulcsfontosságú környezeti tényező, amely így közvetlenül befolyásolja a talaj termékenységét. A növények rizoszférájának mikrobiális összetétele tehát direkt összefüggésbe hozható a talajállapottal (BIRÓ et al., 2002). A jellemző mikrobák között a környezeti tényezőkkel szemben toleráns, így pl. sótűrő fluoreszkáló *Pseudomonas* baktériumok már korábban is leírt (BIRÓ et al., 1998) jó túlélő képessége és erős gyökérkolonizáló aktivitása eredményesen támogathatja a káros környezeti stressztényezők elviselését, ennél fogva kedvező a magasabb rendű növények környezeti adaptációja tekintetében is.

Előző vizsgálataink során leírtuk (KHALIF et al., 2004), hogy a talajhoz különböző mennyiségben adagolt NaCl hatására – fehér lóhere tesztnövényt alkalmazva – miként változik meg az egyes enzimek aktivitása és a fent jelzett „fluorescens-putida” típusú *Pseudomonas* baktériumok csíraszama a rizoszférában, valamint összefoglaltuk a talaj sótartalmának e mikrobaközösség sűrűségére és az enzimaktivitásokra gyakorolt hatásával kapcsolatos addigi legfontosabb megállapításokat. Jelen munkánkban a korábbi analógiájára, de bab jelzőnövényvel végzett kísérleteink eredményeit adjuk közre.

Postai cím: HOSAM E. A. F. BAYOUMI HAMUDA, Szent István Egyetem Környezettudományi Doktori Iskola, 1111 Budapest, Budafoki út 59. *E-mail:* titkar@mpv.ph.hu

Anyag és módszer

Kísérleti elrendezés. – Vizsgálatainkban Gödöllő város környékéről (Gödöllői-dombság) származó Ramann-féle barna erdőtalajt (Dystri-Chromic Cambisol; WRB, 1998) használtunk, melynek humusztartalma 1,2%, kémhatása pH(KCl) 4,67 volt. A talaj sótartalmának növelésére 99,5%-os tisztaságú NaCl-ot alkalmaztunk 0, 0,1, 0,2, 0,4, és 0,8 tömegszázalék (m/m%) arányban száraz talajra vonatkoztatva.

A vizsgálatot három, Magyarország eltérő ökológiai adottságú területein biztonságosan termesztendő, azonos tenyészidejű étkezési szárazbabfajtaival (*Phaseolus vulgaris* L.): Diana (Pinto típusú tarkabab, mozaikvírusokkal és baktériumos hüvelyfoltossággal szemben ellenálló); Albamax (nagy szemű fehérbab, szárazságtűrő, a betegségekkel szemben ellenálló); és Perle (konzervipari célra is alkalmas gyöngybab, jó vízfelvevő képességű, de fenékedéssel szemben fogékony) – végeztük el. Egyenként 5 szem felületén sterilizált bab magot vetettünk 2 l-es, 2,5 kg fentiek szerint kezelt talajt tartalmazó cserépedényekbe úgy, hogy a magokat 2 cm vastag talajréteggel takartuk be. Két hét elteltével a magból kikelt csíranövényeket 3 töre ritkítottuk, és a továbbiakban a cserepeket szükség szerint öntöztük steril, desztillált vízzel. A növényeket üvegházban, természetes fényen (14 órás fotoperiódusnál), 23 ± 2 °C-on neveltük 50 napig, majd a relatív száraz tömeget 50 napig tartó nevelést követően határoztuk meg (75 °C hőmérsékleten, szárítószekrényben, tömegállandóságig szárítva) a kontrollhoz képest.

Talaj-mikroorganizmusok előfordulása. – A mikroorganizmusok rizoszférában való előfordulásának felmérése során a növényeket gyökereitől kivettük a talajból, és folyó csapvízzel tisztára mostuk a rátapadó talajrészecskék eltávolítása céljából. Ezt követően a gyökereket apróra vágtuk, majd steril, 0,85%-os sótartalmú fiziológiás sóoldatban, dörzsmozsárban homogenizáltuk. A gyökerekből 1 g mennyiséget felaprítottunk, majd 9 ml fiziológiás sóoldattal maceráltunk. A szuszpenzióból steril csapvízzel hígítási sort készítettünk. A rizoszférában előforduló összes aerob mikrobaszámot, az aerob spóráképzők, az aktinomiceták és a mikroszkopikus gombák számát szelektív táplemezek felhasználásával határoztuk meg SZEGI (1979) módszere szerint. Ennek során a mintákból 0,1–0,1 ml-nyi mennyiségeket szélesztettünk King-B, Pseudosel, Nutrient, tripton-glükóz-élesztőkivonat, Martin, malátakivonat, Jensen, valamint Küster-Williams szilárd táptalajokra. A különböző táptalajokon történt tenyésztés során *Pseudomonas*, *Bacillus* faj-reprezentánsokat, ill. spóráképző baktériumokat, mikroszkopikus gombákat (pl. élesztők és *Trichoderma* sp.), valamint aktinomicetákat is izoláltunk. Az agarlemezeket a mikrobák típusának megfelelően 28, 30, ill. 37 °C-on inkubáltuk 2–7 napig.

A fluoreszkáló Pseudomonasok kimutatása. – A feltárt gyökérmintákból steril fiziológiás sóoldattal hígítási sort készítettünk. Mintánként 0,1 ml-t King-B (KING et al., 1954) és Pseudosel agar táptalajra szélesztettünk fluoreszkáló *Pseudomonas* törzsek izolálása céljából. A táptalajokhoz cikloheximidet ($100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) és benomilt ($30 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) adtunk a gombák elszaporodásának megakadályozása céljából. A táplemezeket 30 °C-on inkubáltuk, majd két nap után megszámloltuk a kinőtt telepeket.

Ezekből random módon izolálást végeztünk King-B agarra, hígítással és szilárd táptalajon történő szélesztéssel megtisztítottuk, majd 4 °C-on tároltuk a későbbi vizsgálatokig. Az izolált fluoreszkáló *Pseudomonas*ok meghatározása a BBL CrystalTM identifikációs kittel történt. A rizoszférában élő mikroorganizmusokat NAUTIYAL és DION (1990) módszerével jellemeztük.

Az enzimaktivitások mérése. – A dehidrogenázaktivitás méréséhez 1 g talajmintát 0,2 ml 4%-os 2-P-jód-fenil-3-P-nitrofenil-5-fenil-tetrazólium kloridba (INT) áztattuk 22 °C-on, fénytől védve. A talajban keletkezett jódnitrotetrazólium formazánt (INTF) etilén-klorid és aceton 1:1,5 arányú elegyével extraháltuk, koncentrációját spektrofotométeren mértük meg 490 nm hullámhosszon (GARCÍA et al., 1993). Az aktivitást $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ mértékegységben fejeztük ki, a keletkezett INTF mennyiségét a száraz talaj egy grammjára vonatkoztatva.

A katalázaktivitást a talajmintákban H_2O_2 hozzáadását követően permanganometriás eljárással mértük meg (TABATABAI & BREMNER, 1970). Az aktivitást $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ mértékegységben fejeztük ki, az egy perc alatt fogyott O_2 mennyiségét a száraz talaj egy grammjára vonatkoztatva.

Az ureázaktivitás meghatározásához 2 ml foszfát-pufferoldatot (pH = 7) és 0,5 ml 6,4%-os karbamid-oldatot adtunk 0,5 g talajhoz, majd 30 °C-on inkubáltuk 90 percig. Ezután az elegyet steril desztillált vízzel 10 ml-re hígítottuk, majd NH_4^+ -szelektív elektróddal megmértük a 0,1 ml 10 M-os NaOH-dal felszabadított NH_4^+ -koncentrációt. Minden talajmintával kontrollvizsgálatot is végeztünk, karbamid hozzáadása nélkül (NANNIPIERI et al., 1980). Az enzimaktivitást a felszabadult NH_4^+ -N mennyiségével ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) mértük.

A proteázaktivitás mérése során 2 ml foszfát-pufferoldatot (pH = 7) és 0,5 ml 0,05 M N- α -benzoi-L-arginamid szubsztrátumot adtunk 0,5 g talajmintához, majd 37 °C-on 90 percig inkubáltuk. Ezután az elegyet 10 ml-re hígítottuk steril desztillált vízzel. A felszabadult NH_4^+ koncentrációját az ureáz meghatározására alkalmazott módon mértük (NANNIPIERI et al., 1980). Az aktivitást a felszabadult NH_4^+ -N ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; száraz talajra vonatkoztatva) mennyiségével írtuk le.

A foszfátázaktivitást TABATABAI és BREMNER (1969) módszere szerint határoztuk meg, s a felszabadult *p*-nitrofenol mennyiségével ($\mu\text{mol PNP}\cdot\text{g száraz talaj}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) jellemeztük.

A β -glükozidázaktivitás mérése a MASCIANDARO és munkatársai (1994) által leírt módszerrel történt. Az eredményt a felszabadult *p*-nitrofenol (PNP) mennyiségével ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) fejeztük ki, szintén száraz talajra vonatkoztatva.

Statisztikai analízis. – A kísérleteket teljes randomizált blokk elrendezésben, három ismétléssel végeztük. A kezelések közötti statisztikai különbségek meghatározásához egytényezős varianciaanalízist (Single Factor ANOVA) használtunk. A szignifikáns differenciát (SzD) $P \leq 0,05$ szinten állapítottuk meg.

Eredmények

Vizsgálatunk során a különböző babfajták rizoszférájában az egyes jellemző mikrobacsoportok száma az alkalmazott sókoncentrációtól függően, de fajtanként is változatosságot mutatott (1. táblázat). Az összes baktériumszám a koncentráció enyhe emelkedésével (0,2 m/m%-ig) párhuzamosan nőtt, de ennél nagyobb dózisok

1. táblázat

Mikrobaszámok változása a különböző koncentrációjú NaCl-oldattal (m/m%) kezelt babfajták (*Phaesolus vulgaris* L.) rizoszférájában

(1) Mikroba-csoportok	(2) Babfajta	(3) NaCl-kezelés (m/m%)					(4) SzD
		0	0,1	0,2	0,4	0,8	
a) Baktériumok (10 ⁶)	Diana	89	131*	154*	91	37*	28,08
	Albamax	88	195*	143*	77	54	35,71
	Perle	82	112*	66	45*	23*	21,37
b) Aerob spóra- képző baktéri- umok (10 ³)	Diana	1,9	3,3*	4,6*	6,6*	8,9*	1,39
	Albamax	2,7	3,9	4,4*	7,2*	9,8*	1,68
	Perle	1,2	2,3	3,3*	4,1*	6,5*	1,25
c) Aktinomiceták (10 ³)	Diana	1,6	2,4*	4,1*	3,3*	1,4	0,71
	Albamax	1,7	2,7*	3,3*	2,9*	1,6	0,47
	Perle	1,4	1,9*	2,2*	1,7*	1,2	0,25
d) Gombák (10 ⁴)	Diana	15,1	18,7*	23,1*	17,1	9,5*	3,12
	Albamax	12,3	19,1*	26,3*	15,6	7,1*	4,52
	Perle	11,9	16,3*	24,2*	20,1*	15,7*	2,93

Megjegyzés: A *-gal jelölt érték szignifikáns eltérést mutat a kontrollnövényeknél mért értékekhez viszonyítva (P ≤ 0,05)

mellett – a barna- és a gyöngybab esetében szignifikánsan is – csökkent. Az aerob spóráképző baktériumok száma viszont a sótartalom növekedésével egyre gyarapodott, minden fajtánál szignifikáns mértékben. Az aktinomiceták száma az össz-baktériumszámtól eltérően még a 0,4 m/m%-os koncentrációtartományban is igazolhatóan nagyobb volt a kontrollnál, de a legnagyobb dózis esetén sem csökkent szignifikáns mértékben. A gombák viselkedése az aerob spóráképző baktériumokéhoz volt hasonló. Ez arra utal, hogy erősebb sóstressz esetében csak a megfelelő védekezési mechanizmussal rendelkező mikroorganizmusok maradnak meg, illetve ekkor már csupán a tokot, vagy spórákat képzők inaktív formák (pl. *Bacillus* sp., gombák) tenyésztethetők ki – az aktív metabolizmus a talajban nagyon lecsökken, illetve meg is szűnhet.

Az egyes mikrobacsoportok sóstressz hatása alatt regisztrált előfordulása a barna- és a fehérbab rizoszférájában hasonló mértékű volt, míg a gyöngybab gyökerein rendre kisebb mikrobaszámokat találtunk. Ennek oka valószínűleg arra vezethető vissza, hogy a gyöngybab sóstressz esetén eltérő összetételű gyökér-exszudátumokat választ ki, azaz a növény fiziológiai állapota a másik két fajtához képest na-

2. táblázat

Különböző babfajták (*Phaesolus vulgaris* L.) rizoszférájának baktérium-populációja gödöllői Ramann-féle barna erdőtalajon, 50 nap üvegházi termesztés után

(1) Domináns baktériumok populációjának összetétele a rizoszférában	(2) Részarány (%)		
	Diana	Albamax	Perle
a) Gram negatív	65,5	71,2	61,3
b) Pálcika alakú	86,7	85,9	83,1
c) Fluoreszkáló <i>Pseudomonas</i> ok	41,2	43,7	32,5
<i>P. fluorescens</i>	37,2	46,3	31,2
<i>P. putida</i>	29,2	21,2	22,9
<i>P. fulva</i>	24,1	27,1	19,5
<i>Pseudomonas</i> sp	9,5	5,4	26,4
d) Gram pozitív	34,6	28,8	38,7
b) Pálcika alakú	71,9	78,7	72,5
<i>Bacillus</i> sp.	41,1	42,3	39,2

gyobb mértékben változik meg. Az egyes fajták ökofiziológiai vizsgálata ezért további – termőhely-specifikus – különbségekre is választ adhat.

A továbbiakban a baktériumok előfordulását vizsgálva azt az eredményt kaptuk, hogy a Gram negatív szervezetek domináltak a bab rizoszférájában (80%), s közöttük is két *Pseudomonas* faj uralkodott (2. táblázat). A teljes fluoreszkáló *Pseudomonas* populáció 40,1%-át a *P. fluorescens*, míg 23,8%-át a *P. putida* tette ki.

A talaj NaCl-oldattal történő kezelése jelentős változásokat eredményezett a fluoreszkáló *Pseudomonas* populációban (3. táblázat). A NaCl-koncentráció növelésével számuk jelentősen megnövekedett a gyökérfelületen egészen a 0,4%-os NaCl-koncentrációig. A legmagasabb értéket 0,4%-os koncentráció mellett mértük

3. táblázat

Különböző babfajták (*Phaesolus vulgaris* L.) rizoszférájának fluoreszkáló *Pseudomonas* populációja, növekvő sókoncentráció hatására

(1) NaCl-kezelés (m/m%)	(2) Fluoreszkáló <i>Pseudomonas</i> -ok mennyisége (CFU × 10 ⁴)		
	Diana	Albamax	Perle
0	1,2	1,6	1,1
0,1	1,5	2,3*	1,3
0,2	1,9*	2,7*	1,6
0,4	2,1*	3,1*	2,3*
0,8	1,7*	2,6*	1,8*
a) SzD (P ≤ 0,05)	0,35	0,56	0,47

Megjegyzés: A *-gal jelölt érték szignifikáns eltérést mutat a kontrollnövényeknél mért értékekhez viszonyítva (P ≤ 0,05)

($3,1 \times 10^4$ CFU g⁻¹ talaj), de a vizsgált koncentrációk közül a 0,8%-os sem gátolta a baktériumok szaporodását.

A különböző NaCl-oldatok koncentrációjának a vizsgált babfajták gümőképzésére gyakorolt hatását értékelve azt találtuk, hogy a 0,1 és 0,2 m/m%-os töménységű sóoldatok alkalmazásakor a gümőszám a kontrollhoz képest számottevően emelkedett, mindazonáltal ez a különbség statisztikailag nem volt igazolható. A 0,4 m/m%-os dózis jól észrevehető csökkenést okozott a gümők számában a kontrollhoz képest, a barna- és a gyöngybab esetében ez szignifikánsnak bizonyult, míg a 0,8 m/m% sóoldatos kezelés során nem találtunk gümőket a tesztnövények gyökereén.

Az egyes babfajtákat összehasonlítva kiténik, hogy a fehérbab gümőképzése volt a legintenzívebb (4. táblázat), ill. ez a fajta hozta a legnagyobb zöldtömeget is (5. táblázat). Ennek alapján a fajták közötti egyedi fiziológiai különbségek tekintetbe vételével a fehérbab a leginkább toleráns a sóstresszel szemben.

A rizoszférában mért enzimaktivitásokra vonatkozó adatokat a 6. táblázat foglalja össze. A dehidrogenáz a rizoszférában található mikroorganizmusok metabolikus

4. táblázat

A gyökérgümők számában bekövetkező változás a különböző babfajták (*Phaseolus vulgaris* L.) rizoszférájában, növekvő sókoncentráció hatására

(1) NaCl-kezelés (m/m%)	(2) Gyökérgümők mennyisége (db)		
	Diana	Albamax	Perle
0	37	45	39
0,1	46	67	51
0,2	39	62	43
0,4	12	23	9
0,8	0	0	0
a) SzD (P ≤ 0,05)	19,1	24,8	21,4

5. táblázat

A növények relatív száraztömegének változása a különböző babfajták (*Phaseolus vulgaris* L.) esetében, növekvő sókoncentráció hatására

(1) NaCl-kezelés (m/m%)	(2) Relatív száraztömeg (kontroll %-a)		
	Diana	Albamax	Perle
0,1	101	148*	158*
0,2	146*	153*	206*
0,4	63*	99	98
0,8	26*	46*	53*
a) SzD (P ≤ 0,05)	27,13	26,43	38,04

Megjegyzés: A *-gal jelölt érték szignifikáns eltérést mutat a kontrollnövényeknél mért értékekhez viszonyítva (P ≤ 0,05)

tevékenységét jelzi, a kataláz pedig a talajban élő aerob mikroorganizmusok számára utal. A kezelt talajban a megemelkedett sótartalom nem befolyásolta hátrányosan a mikroorganizmusok metabolikus tevékenységét. Így magasabb NaCl-koncentráció értékeknél (0,2–0,4%) fokozott enzimaktivitásokat figyeltünk meg, a legnagyobb

6. táblázat

A talaj NaCl-oldattal történő kezelésének a különböző enzimek aktivitására kifejtett hatása a különböző babfajták (*Phaseolus vulgaris*) rizoszférájában

(1) Enzimek és mér- tékegységeik (g ⁻¹ talaj)	(2) Babfajták	(3) Enzimaktivitás különböző NaCl- (m/m%) koncentrációknál (három érték átlaga)					
		0	0,1	0,2	0,4	0,8	SzD
a) Dehidrogenáz μg INTF	Diana	102	156*	212*	131*	83	28,56
	Albamax	96	183*	194*	117	90	30,75
	Perle	88	123*	104*	93	71*	12,09
b) Kataláz μmol O ₂ .min ⁻¹	Diana	2,1	2,9*	3,4*	2,7*	1,8	0,39
	Albamax	1,9	2,5*	2,7*	2,1	1,4*	0,32
	Perle	1,7	2,2*	2,4*	1,9	1,3*	0,27
c) Proteáz μmol NH ₃ .h ⁻¹	Diana	1,8	2,7*	2,9*	2,1	1,4*	0,39
	Albamax	1,5	1,9*	2,1*	1,7	1,1*	0,24
	Perle	1,4	1,5	2,1*	1,9*	1,1*	0,25
d) Ureáz μmol NH ₃ .h ⁻¹	Diana	0,5	1,9*	2,7*	2,3*	1,3	0,36
	Albamax	1,3	1,6	2,5*	2,1*	1,1	0,36
	Perle	1,2	1,7*	2,7*	1,7*	0,9	0,34
e) Foszfátáz μmol PNP.h ⁻¹	Diana	124	112	110*	83*	71*	13,83
	Albamax	120	108	100*	74*	63*	14,89
	Perle	107	95*	90*	81*	69*	8,98
f) β-glükozidáz μmol PNP.h ⁻¹	Diana	214	198	173*	151*	133*	20,73
	Albamax	201	182*	163*	141*	121*	18,91
	Perle	187	150*	141*	123*	103*	19,71

Megjegyzés: A *-gal jelölt érték szignifikáns eltérést mutat a kontrollnövényeknél mért értékekhez viszonyítva (P ≤ 0,05)

aktivitást pedig a 0,2%-os NaCl-értéknél mértük. A dehidrogenáz- és a kataláz-aktivitás még 0,4%-os NaCl-koncentráció mellett sem csökkent szignifikáns mértékben. Mindkét enzim aktivitása igazolhatóan csökkent azonban a kontrollhoz viszonyítva 0,8%-os NaCl-koncentráció mellett.

Az eredmények szerint az oxidoreduktázokra a talaj növekvő sótartalma különösen hat, jelezve, hogy a mikroorganizmusok sókoncentráció növekedésére adott fiziológiai válaszreakciói különböznek.

A N-körforgásban szerepet játszó hidrolitikus enzimek, a proteáz és az ureáz aktivitásának maximális értékét egyaránt 0,2%-os koncentráció mellett mértük. Ezen enzimek aktivitása még 0,4%-os érték mellett is magasabb volt, mint a kontrollnö-

vények rizoszférájában, a 0,8%-os értéknél azonban a proteázaktivitás szignifikánsan csökkent, míg az ureáz aktivitása igazolhatóan nem változott.

A foszfatáz és a β -glükózidáz rizoszférában mért aktivitásának változása a sókezelés hatására eltért az előző négy enzimétől: a sókoncentráció növekedésével ez utóbbiak fokozatosan csökkentek. A foszfatáz aktivitása a talajhoz adott NaCl-adagok emelésével nagyobb mértékben csökkent, mint a β -glükózidázé. Ez az aktivitáscsökkenés 0,2 m/m%-os sókoncentrációnál és afölött szignifikáns volt ($P \leq 0,05$).

Az enzimaktivitásokat a vizsgált babfajták szerint értékelve megállapítható, hogy mindegyik enzim esetében rendre a barna-, fehér- és gyöngybab csökkenő sorrend állítható fel, ami arra utal, hogy a különböző fajták fiziológiai állapota a sóstressz következtében eltérő, fajtára jellemző mértékben változik meg.

Az eredmények megvitatása

A világ termőterületeinek mintegy 7%-a sós, helyenként szikes talaj (SZABOLCS, 1994), ezért az egyes köztermesztésben lévő növényfajok és -fajták sótoleranciájának, valamint a só hatására gyökérrendszerükben végbemenő biológiai változások tisztázása a hatékony mezőgazdasági termelés nem elhanyagolható kérdése. A bab a talajok sótartalmára leginkább érzékeny növényfajok egyike. ABBAS és munkatársai (1991) szerint a talaj növekvő sókoncentrációja gátolja a babnövény növekedését, melyet vizsgálataink is alátámasztanak, hiszen a só 0,4 m/m% koncentrációban, illetve a fölött szignifikánsan csökkentette a növények relatív száraztömegét a kontrollhoz képest.

Már a hatvanas években (BERNSTEIN & OGATA, 1966) leírták, hogy a só által előidézett környezeti stressz a pillangós növények N-kötésének, illetve gümőképzésének mértékét is hátrányosan befolyásolja. Ezt jelen vizsgálatainkkal is igazoltunk, amennyiben a gümőképzés már 0,2 m/m% koncentráció fölött észrevehetően csökkent, majd – egyre nagyobb koncentrációkat alkalmazva – teljesen meg is szűnt. ZAITER és MAHFOUZ (1993) is ezzel megegyező eredményekre jutott.

A bab három vizsgált fajtájának gyökérkörnyezetében a sókezelés hatására szignifikánsan megváltozott a fluoreszkáló *Pseudomonas* baktériumok csíraszám. Az adatok a sókoncentrációval párhuzamosan egy átmeneti emelkedést mutattak, majd a legnagyobb NaCl-dózis hatására a kontrollnak megfelelő szintre csökkentek. Ez a tendencia a szikes talajok eltérő sótartalmánál tapasztalt mikrobaszám-értékekkel megfelelő egyezést mutat természetes körülmények között is (FÜZY et al., 2003).

Ez a változás többféleképpen magyarázható. A talaj megnövekedett sótartalma a negatív kemotaxis révén a *Pseudomonas*okat a kiegyenlítettebb környezetet jelentő rizoszférába irányítja, így azok ott nagyobb számban jelenhetnek meg. Ehhez kapcsolódóan ellentmondó adatokat közöl MATSUGUCHI és SAKAI (1995), akik tenyészedény-kísérletben a gyökérmentes talaj Gram-negatív baktériumok csíraszámában a sókezelés hatására nem találtak eltérést, a fluoreszkáló *Pseudomonas*ok populációja ugyanakkor gyökérhatás nélkül is nőtt. Korábbi adatok alapján is (BIRÓ

et al., 2002; FÜZY et al., 2003) feltételezzük tehát, hogy a só hatása a különféle baktériumcsoportok számának alakulásánál nem azonos mértékben jelentkezik. Az egyes, sóra érzékeny baktériumcsoportok háttérbe szorulása által a sótoleráns fajok a szabadon maradt ökológiai tér benépesítése révén is felszaporodhatnak. Ehhez hasonló mechanizmus útján is növekedhetett a fluoreszkáló *Pseudomonas*ok csíraszama az általunk vizsgált babfajták rizoszférájában a sókezelés hatására. MATSUGUCHI és SAKAI (1995) spenőtnövények rizoszférájában a Gram-negatív populáció gyarodását tapasztalták, de a *fluorescens-putida* típusú *Pseudomonas*ok számában nem találtak változást. Ezt a tényt a különböző növényfajok eltérő rizoszférája (ISMAIL, 2003), illetve annak mikrobiális összetétele magyarázhatja, ami a kezdeti különbségek után térben és időben, illetve az egyéb kezelési vagy klimatikus viszonyoktól erősen függve (SZABÓ, 1992) dinamikus változik.

A talaj sótartalmának megváltozása miatt módosuló mikroorganizmus-közösség összetételének változása azért is érdemel figyelmet, mert más, a sóra kevésbé érzékeny mikrobák számának és aktivitásának változását is okozhatja (GARCIA & HERNANDEZ, 1996). A Gram-negatív baktériumok – köztük főként a *Pseudomonas* nemzetség tagjai – pl. jelentősen gátolhatják a *Trichoderma* gombák talajban való megtelepedését (NAÁR et al., 1997, 1999). E gombák közismert antagonistaként képesek meggátolni a talajlakó kórokozó gombák elszaporodását (NAÁR & KECSKÉS, 1998), így a sótartalom növekedése akár a *Pseudomonas*okkal szemben toleráns fitopatogén gombák elszaporodását is eredményezheti.

A talaj sóval történt kezelésének hatására szignifikánsan megváltozott mind a hat vizsgált enzim aktivitása, ennek mértéke ugyanakkor nem azonos módon nyilvánult meg. A dehidrogenáz, a kataláz, a proteáz és az ureáz enzimek aktivitása a fluoreszkáló *Pseudomonas*ok csíraszámának változásához hasonló tendenciát mutatott, míg a foszfatáz- és a β -glükozidáz-aktivitás már a legkisebb NaCl-dózis hatására is statisztikailag jelentős mértékben csökkent. Ez arra utal, hogy az első négy enzim aktivitásának növekedésében fontos szerepet játszhatott a *Pseudomonas*ok számának növekedése, míg a foszfatáz- és a β -glükozidáz-aktivitás csökkenését a sóra érzékeny baktériumok visszaszorulása okozhatta.

FRANKENBERGER és BINGHAM (1982) kimutatta a sótartalom növekedésének különböző enzimek tevékenységére kifejtett gátló hatását, a jelenleg alkalmazott koncentráció azonban ennél kisebb volt, így feltételezhető, hogy a talaj NaCl-kezelése nem közvetlenül az enzimfehérjék aktivitását, hanem az azokat termelő mikrobaközösség összetételét befolyásolta, ennél fogva közvetett hatása volt kimutatható. Ily módon e munkával is igazoltuk, hogy a növényi rizoszféra kitenyészthető mikrobiális, valamint enzimaktivitása a környezet megváltozásának érzékeny jelzője lehet.

Összefoglalás

Üvegházi körülmények között, a Gödöllői-dombságból származó Ramann-féle barna erdőtalajon (Dystri-Chromic Cambisol; WRB, 1998) nevelt étkezési szárazbab (*Phaseolus vulgaris* L.) növény három, Magyarország eltérő ökológiai adottsá-

gú területein is biztonsággal termesztethető, azonos tenyészedejű fajtája (Diana, Albamax és Perle) rizoszférájának NaCl-kezelés hatására bekövetkező változását követtük nyomon. Megvizsgáltuk a különböző sókoncentrációknak (0, 0,2, 0,4, 0,6 és 0,8 tömegszázalék) a baktériumnépesség összetételére és a különböző talajenzimek aktivitására gyakorolt hatását.

Megállapítottuk, hogy a talaj sótartalma közvetlenül befolyásolta a rizoszférában található fluoreszkáló *Pseudomonas*ok csiraszámát. A legsűrűbb populáció a 0,2% NaCl-ot tartalmazó talajban jött létre, ahol a fluoreszkáló *Pseudomonas*ok között a *Pseudomonas putida* és a *P. fluorescens* fordultak elő a legnagyobb számban. A *Pseudomonas*ok ily módon jól tolerálják a nagy NaCl-koncentrációt a talajban, tehát gyökérkolonizáló tevékenységet képesek kifejteni erősen sós talajban is.

A talaj sóval történt kezelésének hatására szignifikánsan megváltozott mind a hat vizsgált enzim aktivitása, ennek mértéke ugyanakkor nem azonos módon nyilvánult meg. A sókoncentráció növelésével kezdetben (a 0,2–0,4%-os tartományban) jelentősen növekedett a dehidrogenáz, kataláz, és ureáz enzimek aktivitása a barnabab rizoszférájában, míg a többi fajtában nem. A proteáz enzimek aktivitásának maximuma a 0,1–0,2% NaCl-koncentráció tartományba esett mindhárom vizsgált fajta esetében. A 0,4%-nál magasabb koncentrációkban a kontrollhoz hasonló mértékűre csökkent mind a dehidrogenáz és a kataláz aktivitása (a többi enzimé szignifikánsan még kisebb volt), és a baktériumok száma is. A foszfatáz- és a β -glükózidáz-aktivitás viszont már a legkisebb NaCl-adag következtében jelentősen csökkent a kontrollhoz viszonyítva, illetve, annál mindvégig szignifikánsan kisebb volt.

Feltételezésünk szerint az enzimaktivitások változását is a mikrobióta összetételének a sókezelés hatására bekövetkező változása okozta.

Kulcsszavak: babfajták, fluoreszkáló *Pseudomonas* populáció, NaCl-oldat, rizoszféra, talajenzimek aktivitása

Irodalom

- ABBAS, M. A., YOUNIS, M. E. & SHUKRY, W. M., 1991. Plant growth, metabolism and adaptation in relation to stress conditions. XIV. Effect of salinity on the internal solute concentrations in *Phaseolus vulgaris*. J. Plant Physiol. **138**. 722–727.
- ANTAL, M. & ANTON, A., 1986. Comparative studies on saccharase activity of different Hungarian soils. Zbl. Mikrobiol. **141**. 495–501.
- ANTON, A. et al., 1994. Effect of environmental factors and Mn, Zn, Cu trace elements on the soil phospho-monoesterase and amidase activities. Application of DISITOBÍ model. Acta Biol. Hung. **45**. 39–50.
- BERNSTEIN, L. & OGATA, G., 1966. Effect of salinity on nodulation, nitrogen fixation and growth of soybean and alfalfa. Agron. J. **58**. 201–203.
- BIRÓ, B., VILLÁNYI, I. & KÖVES-PÉCHY, K., 2002. Abundance and adaptation level of some soil microbes in salt-affected soils. Agrokémia és Talajtan. **50**. 99–106.

- BIRÓ, B. et al., 1998. Specific replant disease reduced by PGPR rhizobacterium on apple seedlings. *Acta Horticult.* **477**. 75–81.
- DASH, M. & PANDA, S. K., 2001. Salt stress induced changes in growth and enzyme activities in germinating *Phaseolus mungo* seeds. *Biol. Plantar.* **44**. 587–589.
- FRANKENBERGER, W. T. & BINGHAM, F. T., 1982. Influence of salinity on soil enzyme activities. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **46**. 1173–1177.
- FÜZY A., BIRÓ B. & TÓTH T., 2003. Növény–mikroba kölcsönhatások és néhány talajtulajdonság közötti összefüggés hazai szikeseken. *Természetvédelmi Közlemények.* **10**. 64–69.
- GARCÍA, C. & HERNÁNDEZ, T., 1996. Influence of salinity on the biological and biochemical activity of a Calciorthid soil. *Plant and Soil.* **178**. 255–263.
- GARCÍA, C. et al., 1993. The dehydrogenase activity of soil as an ecological marker in processes of perturbed system regeneration. In: *Proc. XI. International Symposium of Environmental Biogeochemistry, Salamanca, Spain.* (Ed.: GALLARDO, G. F.) 89–100.
- ISMAIL, A. M., 2003. Effect of salinity on the physiological responses of selected lines/variety of wheat. *Acta Agron. Hung.* **51**. 1–9.
- KHALIF, A. A. et al., 2004. Enzimaktivitások és a fluoreszkáló pszeudomonasz csíraszámok változása a fehér lóhere (*Trifolium repens* L.) rizoszférájában sókezelés (NaCl) hatására. *Agrokémia és Talajtan.* **53**. 367–376.
- KING, E. O., WARD, M. K. & RANEY, P. E., 1954. Two simple media for the demonstration of fycocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* **44**. 301–306.
- MASCIANDARO, G., CECCANTI, B. & GARACIA, C., 1994. Anaerobic digestion of straw and piggery waste waters. II. Optimalization of the process. *Agrochimica.* **38**. 195–203.
- MATSUGUCHI, T. & SAKAI, M., 1995. Influence of soil salinity on the populations and composition of fluorescent pseudomonads in plant rhizosphere. *Soil Sci. Plant Nutr.* **41**. 497–504.
- MIKANOVÁ, O. et al., 2001. Influence of heavy metal pollution on some biological parameters in the alluvium of the Litavka river. *Rostlinná Výroba.* **47**. 117–122.
- NAÁR, Z. & KECSKÉS, M., 1998. Factors influencing the competitive saprophytic ability of *Trichoderma* spp. *Microbiological Research.* **153**. 1–11.
- NAÁR, Z., NEMES, M. & KECSKÉS, M., 1999. The role of soil microbiota during colonization of different soil types by *Trichoderma* fungi. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* **46**. 212–213.
- NAÁR, Z. et al., 1997. Colonization of *Trichoderma* strains in different soil types affected by microbicides. In: *Proc. International Regional Seminar Transcarp. Reg.. Envir. Prot., May 13–16, 1997, Uzhgorod, Ukraine.* 22–27.
- NANNIPIERI, P. et al., 1980. Extraction of phosphatase, urease, protease, organic carbon and nitrogen from soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **44**. 1011–1016.
- NAUTIYAL, C. S. & DION, P., 1990. Characterization of opine-utilizing microflora associated with samples of soil and plants. *Appl. Environ. Microbiol.* **6**. 2576–2579.
- SZABÓ I. M., 1992. *Az általános talajtan biológiai alapjai.* Mezőgazdasági Kiadó. Budapest.
- SZABOLCS, I., 1994. Soils and salinization. In: *Handbook of Plant and Crop Stress.* (Ed.: PESSARAKALI, M.) 3–11. Marcel Dekker. New York.
- SZEGI J., 1979. *Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek.* Mezőgazdasági Kiadó. Budapest.

- TABATABAI, M. A., 1982. Soil enzymes. In: Methods of Soil Analysis. Part 2. (Eds.: PAGE, A. L., MILLER, R. H. & KEENEY, D. R.) 903–947. American Society of Agronomy–Soil Science Society of America. Madison, WI.
- TABATABAI, M. A. & BREMNER, J. M., 1969. Use of P-nitrophenol phosphate in assay of soil phosphatase activity. *Soil. Biol. Biochem.* **1**. 301–307.
- TABATABAI, M. A. & BREMNER, J. M., 1970. Factors affecting soil anil-sulphate activity. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **34**. 427–429.
- WORLD SOIL RESOURCES REPORTS 84, 1998. World Reference Base for Soil Resources. FAO, ISRIC and ISSS-AISS-IBG. Rome.
- ZAITER, H. & MAHFOUZ, B., 1993. Salinity effect on root and shoot characteristics of common and tepary beans evaluated under hydroponic solution and sand culture. *J. Plant Nutr.* **16**. 1569–1592.

Érkezett: 2005. március 21.

Changes in Microbe Number and Enzyme Activity in the Rhizosphere of Dry Bean Varieties (*Phaseolus vulgaris* L.) in Response to Salt Stress

¹KHALIF A. ABDOUSSALAM, ¹ABDORHIM HAMED, ¹BAYOUMI HAMUDA E. A. F. HOSAM, ²B. OLDAL and ¹M. KECSKÉS

¹Postgraduate School of Environmental Studies, Szent István University, Gödöllő–Budapest and

²Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

Summary

Changes caused by salt treatment in the rhizosphere of three dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties with the same vegetation period (Diana, Albamax and Perle), which can be reliably grown under the diverse ecological conditions in various regions of Hungary, were examined under greenhouse conditions on a Ramann brown forest soil. The effect of various NaCl concentrations (0, 0.2, 0.4, 0.6 and 0.8 m/m%) was studied on the composition of the bacterium population and on the activity of various soil enzymes.

The soil salt content was found to have a direct influence on the germ number of the fluorescing *Pseudomonas* bacteria found in the rhizosphere. The densest population was observed in soil containing 0.2 % NaCl, where *Pseudomonas putida* and *P. fluorescens* occurred in the largest numbers. This indicates that *Pseudomonas* species have good tolerance of high NaCl concentrations in the soil, allowing them to colonise roots even in soil having high salt content. As the salt concentration rose (0.2–0.4%) there was an increase in the activity of the dehydrogenase, catalase and urease enzymes in the rhizosphere of the brown bean variety, but not in that of the other varieties. The maximum protease activity was observed in the 0.1–0.2% NaCl concentration range for all three varieties. At concentrations higher than 0.4% the activity of dehydrogenase and catalase dropped to the control level (that of the other enzymes was significantly even lower), and this was also true of the number of bacteria. The phosphatase and β -glucosidase activity declined substantially compared with the control even at the lowest NaCl rate and remained significantly lower than the control throughout the experiment. The change in enzyme activity is thought to have been induced by the change in the microbe composition in response to salt treatment.

Table 1. Changes in the microbe number in the rhizosphere of bean varieties treated with various concentrations of NaCl solution (m/m%). (1) Microbe groups. a) bacteria; b) aerobic spore-forming bacteria; c) Actinomycetes; d) fungi. (2) Bean varieties. (3) NaCl treatment (m/m%). (4) LSD. Note: *Significantly different from the control value ($P \leq 0.05$).

Table 2. Bacterium populations in the rhizosphere of various bean varieties after 50 days of growth in the greenhouse in Ramann brown forest soil from Gödöllő. (1) Composition of the dominant bacterium population in the rhizosphere. a) Gram negative; b) rod-shaped; c) fluorescing *Pseudomonas*; d) Gram positive. (2) Ratio, %.

Table 3. Population of fluorescing *Pseudomonas* in the rhizosphere of various bean varieties in response to rising salt concentrations. (1) NaCl treatment (m/m%). a) LSD. (2) No. of fluorescing *Pseudomonas*. Note: see Table 1.

Table 4. Changes in the number of root nodules in the rhizosphere of various bean varieties in response to rising salt concentrations. (1): see Table 3. (2) No. of root nodules.

Table 5. Changes in the relative dry mass of the plants of various bean varieties in response to rising salt concentrations. (1): see Table 3.

Table 6. Effect of soil treatment with NaCl on enzyme activity in the rhizosphere of various bean varieties. (1) Enzymes and units. a) Dehydrogenase; b) catalase; c) protease; d) urease; e) phosphatase; f) β -glucosidase. (2) Bean varieties. (3) Enzyme activity at various NaCl concentrations (mean of three measurements). SzD = LSD.