

A csillagfürt magoltására alkalmas szimbionta és asszociatív baktériumok pH-, só- és hőtürése laboratóriumi körülmények között

¹BALÁZSY SÁNDOR, ²BORBÉLY FERENC és
¹H. A. E. F. BAYOUMI HAMUDA

¹Bessenyei György Tanárképző Főiskola, Nyíregyháza és
²DATE Kutató Központja, Nyíregyháza

Napjaink átalakuló mezőgazdaságában a pillangós virágú növények természetének jelentősége mind agronómiai, mind környezetvédelmi szempontból egyre nő. E növények talajjavító, termésfokozó hatása már az ókorból ismert. Értékes tulajdonságuk elsődlegesen - mint azt Hellriegel és Wilfahrt 1886-ban kimutatta - a növény gyökerein képződő gümőkben élő, a légköri nitrogént megkötő baktériumok tevékenységének köszönhető. Évszázados tapasztalati tény, ha a gümőképződés elmarad, a hüvelyes növények termésmennyisége lényegesen kevesebb a lehetségesnél, ezért a szimbiózis létrejöttének elősegítésére a 'mikrobiológiailag inaktív talajokat', 'jól beérett' talajokkal terítették (FEHÉR, 1954).

A szimbiózis, a Rhizobiumok tevékenysége számos biotikus és abiotikus tényező függvénye. A baktériumok teljesítőképessége mellett (ROMÁN, 1951; KERPELY et al., 1954/55), a talajok kémhatása (WHITE & ROBSON, 1989), vízgazdálkodása és hőingadozásai (WILSON & TRANG, 1980; BURTON, 1981), különböző elemek és káros vegyületek feldúsulása (JESCHKE et al., 1986; BÍRÓ et al., 1993) tápanyag-ellátottsága (SZEKI, 1967) stb. lényegesen befolyásolják a gümőszámot és a nitrogénkötést.

A fentiek egyértelműen szükségessé teszik, hogy megvizsgáljuk az oltóanyagként talajba kerülő Rhizobiumok/Bradyrhizobiumok reagálását a különböző környezeti feltételekkel szemben, hogy a maggal bevitt törzs szimbiózist tudjon kialakítani a gazdanövényen.

LYNCH (1976) összefoglaló munkájában a növények növekedését befolyásoló mikroorganizmusok pozitív, illetve negatív hatásáról számol be. BURR és munkatársai (1978) burgonyánál a *Pseudomonas fluorescens* és *P. putida* törzsek termésfokozó hatását ismertetik. A vizsgálatok rámutattak, hogy a *Pseudomonas* csoportjába tartozó asszociatív baktériumok képesek a növénypatogén mikroorganizmusok háttérbe szorítására (SUSLOW, 1982; SCHIP-

PERS et al., 1987; VAN PEER & SCHIPPERS, 1989). Ezen baktériumpopulációk gátolják az *Erwinia carotovora* (XU & GROSS, 1986; LIAO, 1989), a *Pythium* ssp. (HOWELL & STIPANOVIC, 1980; LOPER, 1988), a *Fusarium oxysporum* (PARK et al., 1988; SCHER & BAKER, 1982) a *Rhizoctonia solani* (DAHIYA et al., 1988; HOWELL & STIPANOVIC, 1979), a *Thielaviopsis basicola* (AHL et al., 1986; STUTZ et al., 1986) szaporodását.

Saját vizsgálataink szerint az A1 és E6 *P. fluorescens* törzsek gátolják az *Erwinia carotovora*, az La98 jelű *P. putida* törzs a *Pleiochaeta setosa* szaporodását, ugyanakkor az általunk csillagfürtből izolált Bradyrhizobium törzsek szaporodását nem (BALÁZSY, 1991).

A szója Rhizobium és Pseudomonas törzsekkel végzett kombinált inokulációja növelte a nodulációt (NISHIJAMA et al., 1988; FUHRMANN & WOLLUM, 1989). Csillagfürtnél fitotronban és szabadföldi kísérletekben a Bradyrhizobiumok és Pseudomonasok együttes magoltása kedvezően befolyásolta a szimbiózist (BORBÉLY et al., 1985).

Talajaink ökológiai paramétereinek egyre fokozottabb mértékben történő ingadozásai indokolják a mezőgazdasági hasznosításra perspektivikus Bradyrhizobium és Pseudomonas törzseink ökofiziológiai tanulmányozását.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkban a *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) BL8, BL14, BL31 jelű törzseinket tanulmányoztuk. A Bradyrhizobiumokat szántóföldről, nyírségi savanyú (pH 5,0) barna erdőtalajon termett fehérvirágú csillagfürt (*Lupinus albus* L. cv. Nyírségi édes) gyökérgümőiből VINCENT (1970) módszerével izoláltuk, fitotronban és szabadföldi kisparcellás kísérletekben KERPELY et al. (1957) módszerével teszteltük. A törzseket élesztő-mannit-agaron (YEM, VINCENT, 1970) 26-28 °C-on tartjuk fenn.

A Pseudomonasok közül a csillagfürt (*Lupinus albus* L.) rizoszférájából izolált *P. putida* La98, a burgonya (*Solanum tuberosum* L.) peridermájából KLOPPER et al. (1980) által izolált *P. fluorescens* A1, valamint a zeller (*Apium graveolens* L.), gyökeréről BURR et al. (1978) által izolált *P. fluorescens* E6 jelű törzseket vizsgáltuk. A baktériumok fenntartását KING B táptalajon (KING et al., 1954) 26-28 °C-on végezzük.

Az eltérő pH, valamint a különböző (1-3 %) koncentrációjú KNO_3 és NaCl szaporodásra gyakorolt hatásának vizsgálatához 24 órás tenyészetekből származó, 10^9 sejt/cm³ tartalmú szuszpenzióból, 0,1 cm³ inokulumot vittünk 5 cm³ tápfolyadékba. A szaporodást optikai denzitás alapján SPEKTRONOM 195 spektrofotométerrel (a Bradyrhizobiumoknál 430 nm-en, a Pseudomonasoknál 530 nm-en) határoztuk meg.

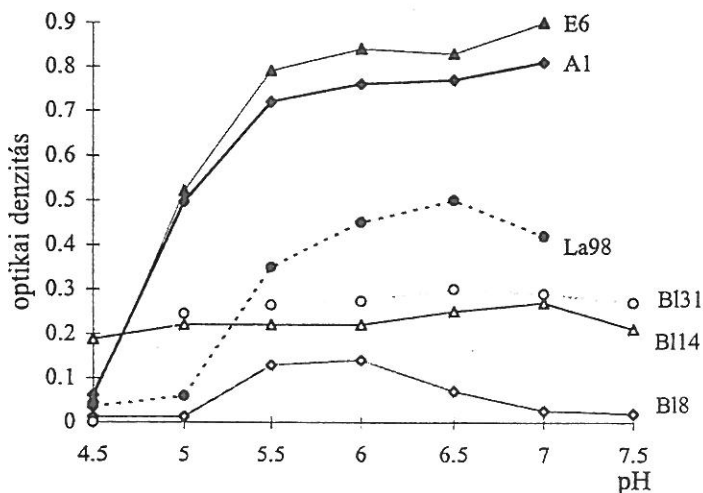
A hőmérséklet hatását a baktériumok túlélésére $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, valamint 50 , 60 és $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tanulmányoztuk. A vizsgálatokhoz a *Pseudomonas* és *Bradyrhizobium* törzsek 24 órás folyékony KING B és YMA táptalajon nevelt tenyészeiből $5\text{-}5\text{ cm}^3$ -t kémcsövekben a megadott hőmérsékleti hatásnak tettük ki. A hősokk-kezelés 3 , 6 , 9 , 10 , 13 és 17 napig tartott. Az egyes kezelések befejezését követően a baktériumok szélesztésével a túlélő sejtek számát $26\text{-}28\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tenyésztéssel határoztuk meg.

A kísérleteket három ismétlésben végeztük, az adatok statisztikai értékelése a biometria szokásos módszerével történt (SVÁB, 1981).

Eredmények

A pH hatása a baktériumok szaporodására

A vizsgált baktériumok eltérő szaporodási ütemét, valamint pH-érzékenységet (toleranciáját) a tanulmányozott tartományon belül az 1. ábra szembe-tűnően mutatja. A foszfát pufferrel stabilizált folyékony táptalajon a *P. fluorescens* A1-es és az E6-os törzs szaporodása a leggyorsabb és csaknem megegyező. Az erősen savanyú ($4,5$ pH) táptalajban a szaporodás mindkét törzsnél gátolt, ami már a pH kismértékű növekedésével megszűnik. A törzsek szaporodása szempontjából a semleges kémhatás tekinthető optimálisnak.



1. ábra

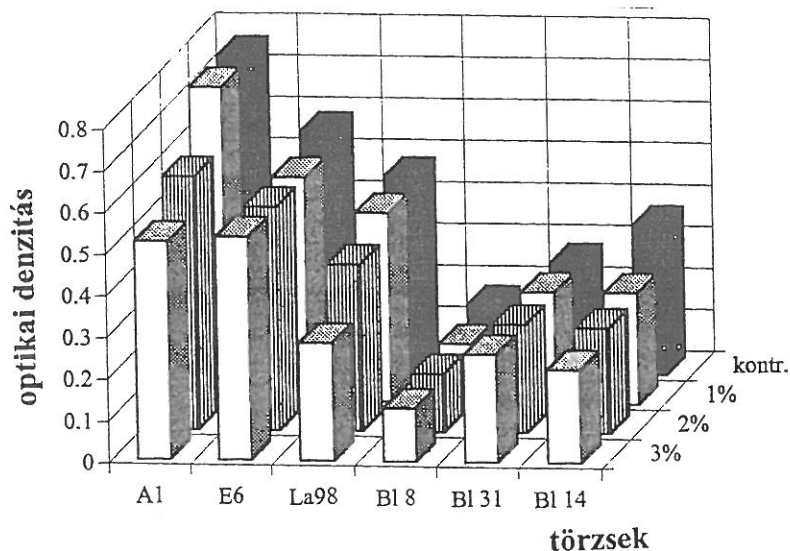
A *Pseudomonas fluorescens-putida* (A1, E6, La98) és a *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) (BL8, BL14, BL31) törzsek szaporodása a tápközeg kémhatásának függvényében

A csillagfürt rizoszférájából származó *P. putida* La98 törzs szaporodása a két *P. fluorescens* törzshöz viszonyítva lassúbb. A kémhatás függvényében optimum görbét ad, melynek maximum pontja 6,5 pH. Különböznek a baktériumok abban is, hogy míg az A1 és E6-os törzs szaporodása 7-es pH-értéknél még növekvő, addig az La98 törzsé már csökkenő tendenciájú.

A Bradyrhizobiumok szaporodási üteme lassúbb, mint a Pseudomonasoké. A törzsek közül a BL8-as a leglassúbb és ugyanakkor szűk pH-optimummal (5,5-6,0) rendelkezik. A vizsgált *Bradyrhizobium* sp (*Lupinus*) törzsek közül ez a törzs képes a legkevesbé tolerálni a tápközeg eltérő kémhatását. A BL14-es törzs szaporodási üteme a vizsgált pH-tartományon belül alig ingadozik, a kémhatás változásaira nem érzékeny. Hasonlóan tág tűrésűnek tekinthető a BL31-es törzs azzal a különbséggel, hogy az erősen savanyú közeg (pH 4,5) e törzs szaporodását kissé gátolja.

A kálium-nitrát és a nátrium-klorid hatása a baktériumok szaporodására

A kálium-nitrát növekvő dózisait a törzsek viszonylag jól tűrik (2. ábra). A törzsek szaporodása szignifikánsan eltér egymástól. A Pseudomonasok közül az A1-es a legérzékenyebb, melynél a koncentráció növekedésével párhuzamosan nő a gátlás. Az 1 %-os töménység csak kisebb mértékű sejtszám-csökkenést idéz elő, a 2 illetve 3 %-os töménység nemcsak a kontrollhoz, hanem egymáshoz viszonyítva is szignifikánsan gátló. Az E6-os törzs a növekvő kálium-nitrát

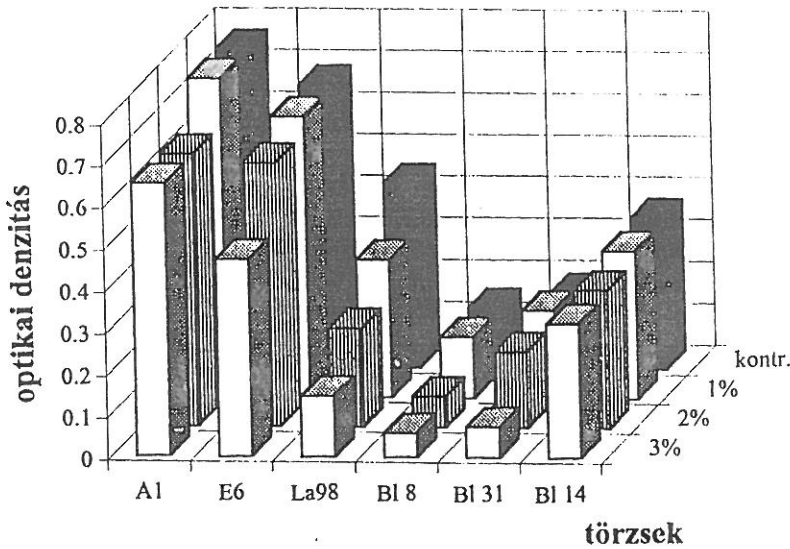


2. ábra

A kálium-nitrát hatása a *Pseudomonas fluorescens-putida* (A1, E6, La98) ($SzD_{1\%} = 0,1$) és a *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) (BL8, BL14, BL31) ($SzD_{1\%} = 0,05$) törzsek szaporodására

koncentrációt tolerálja. Az La98-as *P. putida* törzsnél az 1 és 2 %-os töménység nem, de a 3 %-os koncentráció a kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan - közel 40 %-kal - csökkenti a szaporodást.

A Bradyrhizobiumok közül a BL8-as és BL31-es törzseknél a kálium-nitrát növekvő koncentrációi a baktériumok szaporodásában nem okoznak számottevő különbséget. A BL14-es törzs szaporodását a kálium-nitrát a kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan gátolja mind a három töménységben. A koncentrációk között viszont nincs szignifikáns különbség.



3. ábra

A nátrium-klorid hatása a *Pseudomonas fluorescens-putida* (A1, E6, La98) ($SzD_{1\%} = 0,09$) és a *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) (BL8, BL14, BL31) ($SzD_{1\%} = 0,04$) törzsek szaporodására

A nátrium-klorid hatását a baktériumok szaporodására a 3. ábra mutatja. A *Pseudomonas*ok közül legérzékenyebb az La98-jelű *P. putida* törzs, amelynél már 1 %-os töménység is szignifikánsan gátolja a szaporodást. A *P. fluorescens* A1-es az 1 %-os NaCl-koncentrációt jól tolerálja, a 2 és 3 %-os töménység azonban már némi gátlást idéz elő. A 3 %-os koncentráció a 2 %-oshoz viszonyítva már nem okoz további szaporodás-csökkenést. Az E6-os a másik két törzshöz viszonyítva kevésbé érzékeny. Az 1 és 2 %-os koncentráció e törzs szaporodását nem befolyásolja, csupán a 3 %-os töménység okoz kismértékű gátlást.

A Bradyrhizobiumok közül a BL8-as mutatkozik a legérzékenyebbnek, az 1 %-os töménységet még jól tolerálja, a 2 és 3 %-os NaCl közel 50-60 %-kal

csökkenti szaporodását. A BL14-es és BL31-es érzékenysége közel azonos, azzal a különbséggel, hogy a BL14-es törzs jól tűri még a 3 %-os töménységet is, amit viszont a BL31-es törzs már nem képes tolerálni.

Hő hatása a baktériumok túlélésére

A különböző időtartamú hőhatásokat a *Bradyrhizobium* és a *Pseudomonas* törzsek túlélésére a 4. ábrán mutatjuk be. Az eredményeket a kiindulási sejtszámhoz viszonyítottuk, ami a *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) törzseknél 10^8 sejt/cm³, a *Pseudomonas* törzseknél 10^9 sejt/cm³ volt.

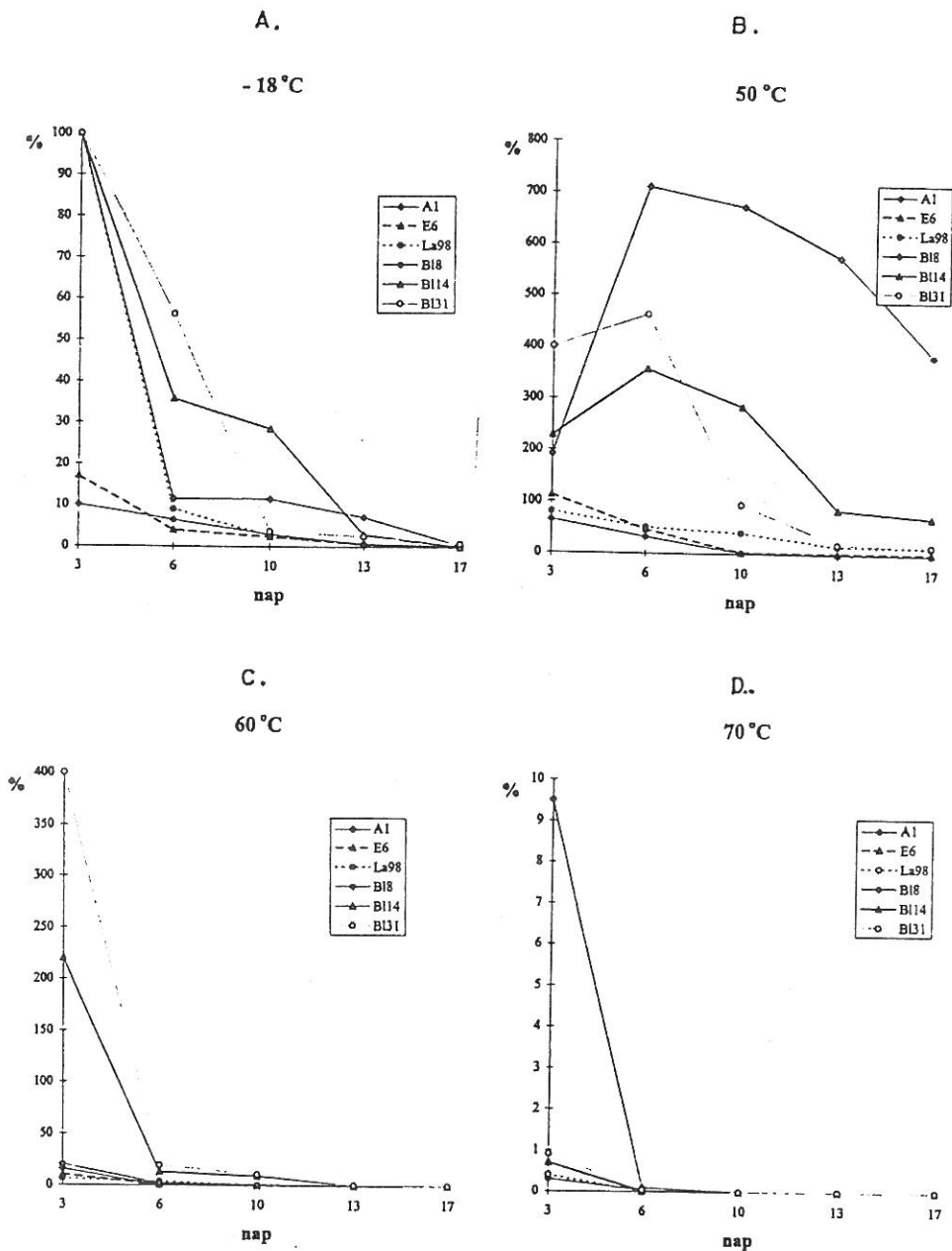
A -18 °C hőmérséklet már három nap elteltével (4.A. ábra) a *Pseudomonas fluorescens* A1 és E6 törzseknél jelentős sejtszám-csökkenést okoz. A sejtpusztulás 80-90 %-os. A hideghatás időtartamának növelésével a sejtek pusztulása fokozódik, de üteme lényegesen lelassul. A kezelés 17. napjára körülbelül csak minden tízezredik sejt marad életben (10^3 sejt/cm³).

A *Lupinus albus* rizoszférájából származó *Pseudomonas putida* La98 törzs kezdeti hidegtűrő képessége a *Pseudomonas fluorescens* törzsektől kedvezőbb. A háromnapos sokk sejtpusztulást egyáltalán nem okoz, a pusztulás a 6. napot követően jelentős és nagyságrendileg a *Pseudomonas fluorescens* törzsekhez válik hasonlóvá.

A tanulmányozott *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) törzsek hidegtűrése lényegesen jobb, mint a *Pseudomonas fluorescens-putida* törzseké. A három törzs közül legérzékenyebb a BL8-as törzs, amelynél a 6. naptól kezdődik a nagyobb mértékű sejtpusztulás, melynek üteme a továbbiakban lelassul. A 10. napon a túlélő sejtek száma még több mint 10 %. A méréssorozat 17. napon történő befejezésekor a kiindulási sejtszám (10^8 sejt/cm³) 0,5 %-a életképes. A BL14 törzs pusztulása a leglassúbb, a 10. napon közel 30 %-a a sejteknek még szaporodásra képes. A 13. naptól a baktériumok pusztulása felgyorsul. A BL31 kezdeti lassú pusztulása a 10. napon hirtelen felgyorsul. A vizsgálati periódus végén a *Bradyrhizobium*ok élő sejtszáma közel azonos nagyságrendű.

50 °C hőmérsékleten (4.B. ábra) 3 nap után a *Pseudomonas*ok sejtszáma a kiindulási sejtszámhoz viszonyítva lényegesen nem változik. A 6. naptól kezdve a túlélő sejtek száma viszont fokozatosan csökken. A tartós 50 °C-os hőmérséklet a *Pseudomonas putida* La98-as törzsre kevésbé hat, mint a *Pseudomonas fluorescens* A1 és E6 törzsekre. 17 nap elteltével a túlélő sejtek száma 14 %.

A *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) törzsek szaporodását 50 °C-on a 6 napos időtartam még nem gátolja, a baktériumok szaporodásra képesek. A törzsek szaporodási intenzitása eltérő, amit a 4.B. ábra szemléletesen mutat. A sejtszám-csökkenés a 10. naptól mérhető. Meglepően nagy az élő sejtek száma a BL8 törzsnél a kezelés teljes időtartama alatt. A kísérlet végén a BL14 (71 %) és BL31 (16 %) törzsek élő sejtszáma kevesebb a vizsgálat kezdetén mért sejtszámnál.



4. ábra

A hőhatás a *Pseudomonas fluorescens-putida* (A1, E6, La98) és a *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) (BL8, BL14, BL31) törzsek túlélésére.

A. -18 °C, B. 50 °C, C. 60 °C, D. 70 °C

A 60 °C (4.C. ábra) a *Pseudomonas* törzsek túlélését, azaz az élő sejtek számát már három nap elteltével is nagymértékben csökkenti. A *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) törzsek közül a BL14 és a BL31 törzsek a háromnapos hőhatást tolerálják, a BL8 törzs viszont nem. A 10. nap után azonban már csak minden tízezredik sejt életképes.

A háromnapos 70 °C-os kezelés a sejtek életben maradását (4.D. ábra) mind a *Pseudomonas*, mind a *Bradyrhizobium* törzseknél nagymértékben gátolja. A *Bradyrhizobium*ok nagyobb hőtoleranciája ezen a hőmérsékleten is megmutatkozik, de a 6. nap elteltével a vizsgált törzsek életképes sejtjeinek száma a mérhető érték alá csökken.

Az eredmények megvitatása

A talaj kémhatása az a környezeti tényező, amelyik a leginkább befolyásolja a nodulációt, a nitrogén-fixációt, valamint a *Rhizobium*ok/*Bradyrhizobium*ok perzisztenciáját (GRAHAM, 1992; GRAHAM et al., 1994). BROCKWELL és munkatársai (1991) összefüggést találtak a talaj hidrogénion-koncentrációja és a *Rhizobium*ok száma között. Adataik szerint a *Rhizobium meliloti* sejttszáma lényegesen kevesebb a savanyú, mint a semleges, vagy enyhén lúgos (pH 7-7,5) talajokban. Laboratóriumi kísérletekben az alacsony pH gátolja a *Rhizobium leguminosarum* (EVANS et al., 1980) és *R. phaseoli* (FRANCO & MUNNS, 1982) nodulációját. Ugyanakkor az alacsony talaj-pH-ra rezisztens *Rhizobium*ok sokkal erőteljesebb nodulációra képesek, mint a pH-val szemben érzékeny törzsek. DATE & HALLYDAY (1979) azt tapasztalta, hogy néhány *Rhizobium* törzs szaporodására kedvezőbb a savanyú kémhatás, mint a semleges.

Talajaink savanyodása, illetve a csillagfürt savanyú talajokon való termesztése szempontjából az alacsony pH-rezisztens törzsek felhasználása inokulációra célszerűbb, mivel e tulajdonságuk bizonyos esetekben kompatitív előnyt jelenthet.

Vizsgálati eredményeink részben megegyeznek, részben eltérnek a *Rhizobium*okra és *Bradyrhizobium*okra vonatkozó irodalmi adatoktól. A tanulmányozott három *Bradyrhizobium* törzs pH-érzékenysége különböző. A BL8 szűk pH-optimummal rendelkezik, szaporodására legkedvezőbb a gyengén savanyú (pH 5,5-6,0) tápközeg. A BL14-es törzs szaporodását a hidrogénion-koncentráció változásai nem befolyásolják. Szaporodási üteme 4,5-7,5 pH tartományon belül lényegében azonos. A BL31-jelű törzsünk szaporodása 5-7,5 pH között hasonló a BL14-es törzséhez, de az erősen savanyú (pH 4,5) közegben gátolt. Úgy tűnik, hogy a *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) törzsek szaporodására az 5,5-7,0 pH-tartomány az optimális, ami megegyezik FEHÉR (1954) megállapításával.

A *Pseudomonas fluorescens* A1 és E6 törzsek pH-érzékenysége közel azonos. Intenzív szaporodást 5,5-7 pH között mértünk. A csillagfürtől izolált *P. putida* La98 szaporodási üteme lassúbb, számára a savanyúbb tápközeg (pH 6,0-6,5) tekinthető optimálisabbnak.

A tanulmányozott baktériumok szaporodását összehasonlítva megállapítható, hogy az optimális pH-tartományon belül az A1 és E6 *P. fluorescens* törzseknek a szaporodása a leggyorsabb, kissé lassúbb a *P. putida* La98 törzse és a leglassabban a *Bradyrhizobium* törzsek szaporodnak.

A sófelhalmozódás egyre növekvő problémát okoz termőtalajainkban. Irodalmi adatok szerint a Rhizobiumok/Bradyrhizobiumok a sótűrés tekintetében széles variabilitást mutatnak. Számos esetben 100 mM só (ZHANG et al., 1991) esetenként csak 300 mM (YELTON et al., 1983), gátolja a szaporodást, de előfordul, hogy 500 mM (ZHANG et al., 1991) sókoncentrációt is képesek a baktériumok tolerálni. HODGSON & STACEY (1986) vizsgálatai szerint néhány Rhizobium törzs rezisztensnek mutatkozott azzal a sókoncentrációval szemben, amely már a hüvelyes növény növekedését gátolta. ELSHEIKH & WOOD (1989) vizsgálatai szerint a klorid toxikusabb, mint más anionok (szulfát, nitrát, foszfát).

A tanulmányozott mikroorganizmusok meglepően jól tolerálják a növekvő sókoncentrációkat. Az 1-2 %-os kálium-nitrát, illetve nátrium-klorid szignifikáns szaporodás-csökkenést nem okoz. A 3 %-os töménységű (közel 500 mM) só csak a *P. putida* La98-as törzsnél okoz mindkét esetben szignifikáns gátlást. Kísérleteinkben a nátrium-klorid - hasonlóan ELSHEIKH & WOOD (1989) vizsgálataihoz - toxikusabbnak bizonyult, mint a kálium-nitrát.

A hőmérséklet a másik olyan környezeti faktor, amely lényegesen befolyásolja a baktériumok túlélését a talajban, limitálja a nodulációt és a N-fixációt (GRAHAM, 1992; LEGROS & SMITH, 1994), valamint az oltóanyag eltarthatóságát. Megfigyelések szerint 10 °C alatt (CAUDRY-REZNIK et al., 1986) és 45 °C fölött (WILKINS, 1967) a Rhizobiumok szaporodása minimálisra csökken és ineffektívekké válhatnak. Az alacsony, illetve magas hőmérsékletet toleráló baktériumok a túlélés szempontjából mindenképp előnyt jelentenek szélsőséges viszonyok között. FEHÉR (1954) szerint ezen határértékek 0 °C és 50 °C, az optimum 25-30 °C.

Vizsgálataink szerint a tanulmányozott baktériumtörzsek a tartós hidegsokkot nem viselik el. A *P. fluorescens* törzseknek három nap után 80-90 %-a elpusztul, míg a csillagfűrtről származó *P. putida* és *Bradyrhizobium* törzsek ilyen mérvű pusztulása csak a hatodik napon következik be, de a BL31, valamint a BL14 törzseknél a pusztulás csak 40-60 % közötti. A BL14 törzs közel 30 %-a a 10. napon még életképes.

A *Bradyrhizobium* törzsek szaporodását a hat napig tartó 50 °C-os hőmérséklet nem befolyásolja, ezt követően csökken a túlélő sejtek száma. Ezen a hőmérsékleten a *Pseudomonas*ok nem szaporodnak, a sejtpusztulás megindul. 60 °C-on két *Bradyrhizobium* törzs (BL14, BL31) a szaporodó képességét három napig megtartja. Ezt követően a sejtpusztulás rohamos. Három napon túl a 70 °C-os hőmérséklet a baktériumok számára letális.

Összefoglalás

Napjaink agroöklógiai változásai - a talajok elsavanyodása, sótartalmának növekedése, valamint a klimatikus tényezők eltolódása - egyre erősebb stresszként hatnak a talaj ökoszisztémára. Laboratóriumi körülmények között tanulmányoztunk különböző környezeti hatásokat a *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) és *Pseudomonas fluorescens-putida* törzsek túlélésére és szaporodására. A változó ökológiai faktorok a *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) BL8, BL14, BL31, a *Pseudomonas fluorescens* A1, E6, a *Pseudomonas putida* La98-törzsek tiszta tenyészetekre különböző hatást fejtenek ki. A savanyú homoktalajról izolált *Bradyrhizobium*ok közül a BL8 szűk pH optimumú (5,5-6,0), a BL14 a kémhatás változásaival szemben rezisztens, a BL31-törzs szaporodását az erősen savanyú közeg (pH 4,5) blokkolja. A *Pseudomonas putida* La98 pH optimuma 6,5, a *P. fluorescens* A1 és E6 törzseké 5,0-7,0 közötti. A tanulmányozott törzsek sótűrése (NaCl, KNO₃) különböző. A kálium-nitráttal szemben a *Pseudomonas*ok kevésbé érzékenyek, mint a *Bradyrhizobium*ok, de a törzsek között különbség van. A nátrium-kloriddal szemben a *Pseudomonas*ok az érzékenyebbek, de a törzsek között szintén van különbség. A tartós hideget a *Pseudomonas* törzsek - a túlélő sejtek számát tekintve - kevésbé tűrik, mint a *Bradyrhizobium* törzsek. A három és hat nap közötti hősök a baktériumok szaporodását gátolja, a *Pseudomonas*okét erősebben, mint a *Bradyrhizobium*okét. Három napon túl a 70 °C-os hőmérséklet a baktériumok számára letális.

Irodalom

- AHL, P., VOISARD, C. & DEFGO, G., 1986. Iron bound siderophores, cyanic acid and antibiotics involved in suppression of *Thielaviopsis basicola* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *J. Phytopath.* 116. 121-134.
- BALÁZSY, S., 1991. A *Lupinus albus* L. a diazotróf *Bradyrhizobium* és az amenzalista *Pseudomonas* törzsek közötti interakciók. Ph. D. thesis.
- BÍRÓ B. et al., 1993. A Cu²⁺ és Zn²⁺ ionok hatása néhány szimbiotikus és asszociatív N₂-kötő baktérium szaporodására laboratóriumi körülmények között. *Agrokémia és Talajtan.* 42. 343-349.
- BORBÉLY F. et al., 1985. *Rhizobium lupini* és *Pseudomonas* törzsekkel végzett magoltás hatása a *Lupinus albus*ra. 165-167. *Agroinform.* Budapest.
- BROCKWELL, J., PILKA, A. & HALLYDAY, R. A., 1991. Soil pH is a major determinant of the number of naturally-occurring *Rhizobium meliloti* in some cultivated soils of New South Wales. *Aust. J. Exp. Agric.* 31. 211-219.
- BURR, T. J., SCHROTH, M. N. & SUSLOW, T., 1978. Increased potato yields by treatment of seed pieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. *Phytopathology.* 68. 977-1383.
- BURTON, J. C., 1981. *Rhizobium* inoculants for developing countries. *Tropical Agriculture (Trinidad).* 58. 291-295.

- CAUDRY-REZNIK, S., PREVOST, D. & SCHULMAN, H. M., 1986. Some properties of arctic rhizobia. *Arch. Microbiol.* **146**. 12-18.
- DAHIYA, J. S., WOODS, D. L. & TEWARI, J. P., 1988. Control of *Rhizoctonia solani*, causal agent of brown girdling root rot of rapeseed, by *Pseudomonas fluorescens*. *Bot. Bull. Acad. Sinica.* **29**. 135-142.
- DATE, R. A. & HALLYDAY, J., 1979. Selecting *Rhizobium* for acid infertile soils of the tropics. *Nature (London).* **277**. 62-64.
- ELSHEIKH, E. A. E. & WOOD, M., 1989. Response of chickpea and soybean rhizobia to salt osmotic and specific ion effects of salt. *Soil Biol. Biochem.* **21**. 889-895.
- EVANS, L. S., LEWIN, K. F. & WELLA, F. A., 1980. Effect of nutrient medium pH on symbiotic nitrogen fixation by *Rhizobium leguminosarum* and *Pisum sativum*. *Plant and Soil.* **56**. 71.
- FEHÉR D., 1954. *Talajbiológia*. Akadémiai Kiadó. Budapest.
- FRANCO, A. A. & MUNNS, D. N., 1982. Acidity and aluminium restrains on nodulation, nitrogen fixation and growth of *Phaseolus vulgaris* in solution culture. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **46**. 296.
- FUHRMANN, J. & WOLLUM, A. G., 1989. Nodulation competition among *Bradyrhizobium japonicum* strains as influenced by rhizosphere bacteria and iron availability. *Biol. Fertil. Soils.* **7**. 108-112.
- GRAHAM, P. H., 1992. Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. *Rhizobium Research Laboratory, Department of Soil Science, University of Minnesota, St. Paul.* **6**. 475-484.
- GRAHAM, P. H. et al., 1994. Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR 1899. Reprinted from *Canadian Journal of Microbiology.* 198-207.
- HODGSON, A. M. & STACEY, G., 1986. Potential for *Rhizobium* improvement. *CRC Critical Reviews in Biotechnology.* **4**. 1-72.
- HOWELL, C. R. & STIPANOVIC, R. D., 1979. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology.* **69**. 480-482.
- HOWELL, C. R. & STIPANOVIC, R. D., 1980. Suppression of *Pythium ultimum* - induced damping-off of cotton seeding by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology.* **70**. 712-715.
- JESCHKE, W. D., PATE, J. S. & ATKINS, C. A., 1986. Effect of NaCl salinity on growth, development, ion transport and ion storage in white lupine (*Lupinus albus* L. cv. Ultra). *J. Plant Physiol.* **124**. 257-274.
- KERPELY A., MANNINGER E. & ZÁMORY É., 1954/55. Különböző *Rhizobium*-törzsek, valamint szójabab por alakú oltóanyagának minősítése. *OMMI Évkönyv, 1954-1955.* 141-175. Budapest.
- KERPELY A., MANNINGER E. & ZÁMORY É., 1957. Adatok hazai *Rhizobium* törzsek teljesítőképességének elbírálásához. *OMMI Évkönyv, 1956-1957.* 163-175. Bp.
- KING, E. O., WARD, M. K. & RANEY, D. E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J. Lab. Clin. Med.* **44**. 301-307.
- KLOEPPER, J. W., SCHROOTH, M. N. & MILLER, T. D., 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology.* **70**. 1078-1082.

- LEGROS, T. & SMITH, D. L. 1994. Root zone temperature sensitivity of nitrogen fixing and nitrate-supplied soybean (*Glycine max* (L.) Merr. cv Maple Arrow) and lupin (*Lupinus albus* L. cv Ultra) plants. *Environm. Exp. Bot.* **34**. 117-127.
- LIAO, C. H., 1989. Antagonism of *Pseudomonas putida* strain PP22 to phytopathogenic bacteria and its potential use as a biocontrol agent. *Plant Disease.* **73**. 223-226.
- LOPER, J. E., 1988. Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathology.* **78**. 166-172.
- LYNCH, J. M., 1976. Products of soil microorganisms in relation to plant growth. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* **5**. 67-107.
- NISHIJAMA, F., EVANS, W. R., VESPER, S. J., 1988. Enhanced nodulation of soybean by Bradyrhizobium in the presence of *Pseudomonas fluorescens*. *Plant and Soil.* **111**. 149-150.
- PARK, C. S., PAULITZ, T. C. & BAKER, R., 1988. Biocontrol of fusarium wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology.* **87**. 190-194.
- PEER, R. VAN. & SCHIPPERS, B., 1989. Plant growth responses to bacterization with selected *Pseudomonas* ssp. strains and rhizosphere microbial developments in hydroponic cultures. *Can. J. Microbiol.* **35**. 456-463.
- ROMÁN J., 1951. A rhizobium-talajoltóanyagok használata és üzemi termelésének problémái. *Agrártudomány.* **11**. 1-12.
- SCHER, F. M. & BAKER, R., 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. *Phytopathology.* **72**. 1567-1573.
- SCHIPPERS, B., BAKKER, A. W. & BAKKER, P. A. H. M., 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Ann. Rev. Phytopathol.* **25**. 339-358.
- STUTZ, E. W., DEFAGO, G. & KERN, H., 1986. Naturally occurring fluorescent pseudomonas involved in suppression of black root rot of tobacco. *Phytopathology.* **76**. 181-185.
- SUSLOW, T. V., 1982. Role of root colonizing bacteria in plant growth. In: *Phytopathogenic Prokaryotes.* (Eds.: MOUNT, M. S. & LOCY, G. H.), 187-223. Academic. London.
- SVÁB J., 1981. Biometriai módszerek a kutatásban. *Mezőgazdasági Kiadó.* Budapest.
- SZEGI J., 1967. A nitrogénkötő mikroorganizmusok jelentősége a talaj termékenysége szempontjából. *Agrokémia és Talajtan.* **16**. 477-486.
- VINCENT, J. M., 1970. *A Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria.* I.B.P. Handbook 15. 3,75 and 87. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- WHITE, P. F. & ROBSON, A. D., 1989. Effect of soil pH and texture on the growth and nodulation of lupine. *Aust. J. Agric. Res.* **40**. 63-73.
- WILKINS, J., 1967. The effect of high temperatures on certain root nodule bacteria. *Aust. J. Agric. Res.* **18**. 299-304.
- WILSON, D. E. & TRANG, K. M., 1980. Effects of storage temperature and enumeration methods on *Rhizobium* ssp. numbers in peat inoculants. *Tropical Agriculture (Trinidad).* **57**. 233-238.

- YELTON, M. M. et al., 1983. Characterization of an effective salt-tolerant fast-growing strain of *Rhizobium japonicum*. J. Gen. Microbiol. **129**. 1537-1547.
- XU, G. W. & GROSS, D. C., 1986. Selection of fluorescent pseudomonas antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed piece decay. Phytopathology. **76**. 414-426.
- ZHANG, X. et al., 1991. Diversity of Rhizobium bacteria isolated from the root nodules of leguminous trees. Int. Syst. Bacteriol. **41**. 104-113.

Érkezett: 1995. szeptember 1.

Laboratory Studies on the pH, Salt and Heat Tolerance of Symbiotic and Associative Bacteria for Use in the Inoculation of Lupin Seeds

¹ S. BALÁZSY, ² F. BORBÉLY and ¹ H. A. E. F. BAYOUMI HAMUDA

¹ Bessenyei György Teachers Training College and ² Research Centre of Debrecen University of Agriculture, Nyíregyháza (Hungary)

Summary

The agroecological changes currently experienced, such as the acidification and increased salt content of the soil or shifts in climatic factors, are causing ever greater stress to the soil ecosystem.

Studies were made under laboratory conditions on the effects of various environmental changes on the survival and growth of *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) and *Pseudomonas fluorescens-putida* strains. Changes in the ecological factors had differing effects on pure cultures of the *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) strains BL8, BL14 and BL31, the *Pseudomonas fluorescens* strains A1 and E6, and the *Pseudomonas putida* strain La 98. Among the *Bradyrhizobium*s isolated from acidic sandy soil, BL8 had a narrow optimum pH range (5.5-6.0), BL14 was resistant to changes in pH, and the growth of BL31 was blocked by a strongly acidic (pH 4.5) medium. The optimum pH value for *Pseudomonas putida* La98 was 6.5, while that of the *P. fluorescens* strains A1 and E6 was 5.0-7.0. The strains examined had differing salt (NaCl, KNO₃) tolerances. The *Pseudomonas* strains were less sensitive to potassium nitrate than the *Bradyrhizobium*s, but differences were observed between the strains. In the case of sodium chloride the *Pseudomonas* strains were more sensitive, but differences were again observed between the strains. Judging by the number of surviving cells, the *Pseudomonas* strains were less tolerant of long-term low temperature than the *Bradyrhizobium*s. Heat shock for three to six days inhibited the growth of the bacteria, to a greater extent for the *Pseudomonas* strains than for the *Bradyrhizobium*s. A temperature of 70 °C for more than three days was lethal for the bacteria.

Fig. 1. Growth of *Pseudomonas fluorescens-putida* (A1, E6, La98) and *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) (BL8, BL14, BL31) strains as a function of the pH of the nutrient medium.

Fig. 2. Effect of potassium nitrate on the growth of *Pseudomonas fluorescens-putida* (A1, E6, La98) (LSD_{1%} = 0.1) and *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) (BL8, BL14, BL31) (LSD_{1%} = 0.05) strains.

Fig. 3. Effect of sodium chloride on the growth of *Pseudomonas fluorescens-putida* (A1, E6, La98) (LSD_{1%} = 0.09) and *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) (BL8, BL14, BL31) (LSD_{1%} = 0.04) strains.

Fig. 4. Effect of heat on the survival of *Pseudomonas fluorescens-putida* (A1, E6, La98) and *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) (BL8, BL14, BL31) strains. A. -18 °C. B. 50 °C. C. 60 °C. D. 70 °C.