

A mikrorespirációs (MicroRespTM) módszer alkalmazása apajpusztai szikes talajok mikrobaközösségeinek katabolikus aktivitás mintázatának vizsgálatára

¹MUCSI Márton, ¹CSONTOS Péter, ²BORSODI Andrea, ¹KRETT Gergely, ¹GAZDAG Orsolya
és ¹SZILI-KOVÁCS Tibor

¹MTA Agrártudományi Kutatóközpont, Talajtani és Agrokémiai Intézet, Budapest
²ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszék, Budapest

Bevezetés

A talajlakó mikroorganizmusok vizsgálata a talajtan egyik legfontosabb területe, melyről azonban a mai napig hiányos tudással rendelkezünk. A talajmikrobióta vizsgálata ugyanis részben annak nagymértékű biológiai diverzitása, részben pedig a talaj, mint élőhely rendkívül kisléptékű térbeli heterogenitása miatt számos nehézségbe ütközik (VAN DER HEIJDEN et al., 2008). A legújabb DNS-alapú, metagenomikai módszerek elterjedésével lehetővé vált a mikrobiális közösségek szerkezetének korábbinál jóval nagyobb felbontásban történő vizsgálata (TIEDJE et al, 1999; NELSON, 2013). E módszerek mellett azonban továbbra is fontos a talajmikrobióta tényleges fiziológiai aktivitásának vizsgálata is.

A mikrobák lebontó aktivitásának kutatásában egyre népszerűbb az ún. közösségi szintű fiziológiai mintázatok (CLPP = community level catabolic profiles) vizsgálata, melynek során azt vizsgáljuk, hogy a mikroba közösség egésze különböző szerves tápanyagforrások közül melyeket és milyen mértékben képes hasznosítani. Az elmúlt bő két évtizedben e célra kifejlesztett három fő módszer a mikrotiter lemez alapú Biolog (GARLAND & MILLS, 1991), a szubsztrát indukált respiráción alapuló Multi-SIR módszer (DEGENS & HARRIS, 1997), valamint a kettőt ötvöző MicroRespTM (CAMPBELL et. al., 2003). Bár a Biolog lemezek a közösségek gyors jellemzését teszik lehetővé, két fontos probléma is felmerül az alkalmazásuk során. Egyrészt, mivel a módszer a talajból készített kivonaton alapul, nem a teljes mikrobiótát, csak annak az extrakció során kinyerhető részét vizsgálja. Másrészt a hozzáadott szénforrás szelekciós tényezőként hat a közösségre, így a hosszú (általában 48 órás) inkubációs idő során a közösség szerkezete megváltozhat. A Multi-SIR módszer a teljes talaj használatával és a rövidebb (4-6 órás) inkubációval ugyan kiküszöböli a fenti két problémát, azonban, mivel gázkromatográfiás mérésen alapul, sokkal időigényesebb.

A MicroResp a két korábbi módszer előnyeit egyesíti, mivel lehetővé teszi a teljes talaj mikrotiter-lemezen történő vizsgálatát (CHAPMAN et al., 2007). Ez az eljárás az utóbbi évtizedben egyre elterjedtebb lett, mára világszerte használják különböző kezelések hatásának vizsgálatára, például nehézfém szennyezés (BÉRARD et al, 2014), erdősítés (JIANG et al 2012), mezőgazdasági művelés (GE et

Postai cím: MUCSI MÁRTON, MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet, 1022 Budapest, Herman Ottó út 15.

E-mail: mucsi.marton@agrar.mta.hu

al, 2013) esetében, illetve újabban talajmonitoring vizsgálatokban (CREAMER et al, 2016) is. A módszert hazai kutatásokban egyelőre ritkán használják, eddig egyetlen ilyen témájú publikációról van tudomásunk (BÁRÁNY et al., 2014).

A szikes talajok kutatása hazánkban jelentős hagyománnyal rendelkezik, azonban a legtöbb hazai eredmény (összhangban a nemzetközi trendekkel) a szikesedés talajtani, hidrológiai, botanikai illetve mezőgazdasági aspektusaival kapcsolatban született (TÓTH & SZENDREI, 2006). A hazai szikesek kialakulása során a mikrodomborzati viszonyoknak (elsősorban a talajvíz felszíntől való távolsága révén) jelentős szerepük van, akár néhány centiméteres különbség is jelentős sókoncentrációbeli különbségeket okozhat, amely meghatározó a területen kialakuló növényzeti típus szempontjából (BORHIDI, 2007).

A szikesedés mikrobiológiai vonatkozásaival (részben a talajmikrobióta vizsgálatának fent említett nehézségei miatt) eddig relatíve kevés hazai kutatás foglalkozott, és ezek elsősorban a szikes tavakra fókuszáltak (pl. BORSODI et al. 2005, 2007; FELFÖLDI et al., 2009; SOMOGYI et al, 2009; SZABÓ et al., 2004; VÖRÖS et al., 2005). Hazai szikes talajokon FÜZY et al. (2003) vizsgálták a rhizoszféra mikrobiótájának növényi sztrepszűrésre gyakorolt hatásait, illetve a környezeti tényezők hatását az arbuszkuláris mikorrhiza gombák kolonizációjára és szimbiózis hatékonyságára (FÜZY et al. 2008).

Kutatócsoportunk 2013 óta OTKA pályázat keretében végez mikrobiológiai kutatásokat a Kiskunsági Nemzeti Park Felső-Kiskunsági szikes tavak és szikes puszta területein. A Zab-szék, Kelemen-szék és Böddi-szék körüli növényzet rhizoszférájából származó baktériumtörzsek só- és pH-toleranciájával foglalkozó eredményeket korábban BORSODI et al. (2015) közölték. BÁRÁNY et al. (2014) ugyanezen három területről származó néhány növényfaj rhizoszférájából származó minták mikrobaközösségeinek genetikai és katabolikus ujjlenyomatát hasonlították össze, utóbbit a fent említett MicroResp módszerrel.

Jelen tanulmányunkban Apajpusztán vizsgáltuk négy egymás mellett fekvő, de a szikesedés különböző fázisait tükröző növényzettel jellemezhető terület talajmikrobiótáját. Célunk az volt, hogy megállapítsuk megfigyelhető-e a vizsgált területeken a talaj mikrobiológiai szempontból legaktívabb, 0-10 cm közötti rétegében valamilyen különbség a mikrobaközösségek lebontó aktivitásának mintázatában, és hogy alkalmas-e a MicroResp módszer e különbségek alapján a talajminták elkülönítésére.

Anyag és módszer

Az általunk vizsgált terület Apajtól 3 km-re délre fekszik, a Kiskunsági Nemzeti Park része. A terület jellemző talajtípusa a szolonyec, de mozaikosan más szikes talajok is előfordulhatnak (szoloncsák-szolonyec és szoloncsák talajok). A vizsgálathoz az alábbi négy, a szikesedés különböző fázisaira jellemző vegetációjú területet választottunk ki, melyeket 2016 júliusában mintáztunk meg: szoloncsák vakszikknövényzet (*Lepidio crassifolii-Camphorosmetum annuae*, jelölés: L), kiskunsági szikfoknövényzet (*Lepidio crassifolii-Puccinellietum limosae*, jelölés: P), ürmös szikespuszta (*Artemisio santonici-Festucetum pseudovinae*, jelölés: A) és

füves szikespuszta (*Achilleo setaceae-Festucetum pseudovinae*, jelölés: F). Mind a négy vegetáció típusból 3-3 párhuzamos talajmintát vettünk 0-10 cm-es mélységből, a párhuzamos minták egy-egy talajmintavételi kvadrát átlagmintáiként adódtak. A minták egy részét 4°C-on tároltuk a respirációs vizsgálathoz, a többiből meghatároztuk a talajok néhány, mikrobiológiai szempontból fontos környezeti paraméterét.

A minták nedvességtartalmát szárítószekrényes módszerrel vizsgáltuk (105 °C, súlyállandóságig). A talajkémiai és -fizikai vizsgálatokat légszáraz, 2 mm-es szitán átszitált mintákon végeztük. A szemcseösszetételt három frakcióra, ülepitéses módszerrel, a szerves széntartalmat kálium-dikromátos oxidációval határoztuk meg. A talajminták pH-ját vizes és 1 mólos kálium-kloridos szuszpenzióban mértük. A telített talajpaszta elektromos vezetőképessége alapján meghatároztuk a minták sótartalmát. A mésztartalom méréséhez kalcimétert használtunk. A minták néhány elemtartalmát (AL-oldható K₂O, Na és P₂O₅) atomemissziós spektroszkópiával (ICP-AES) határoztuk meg (ld. az Eredményeknél, 2. táblázat).

A vizsgált négyféle területet a vizsgált talajtani változók alapján főkomponens elemzéssel (PCA) hasonlítottuk össze a PAST 3.14 program segítségével (HAMMER ET AL 2001). E mellett Pearson-féle lineáris korrelációelemzést is végeztünk a talajtani változók korreláltságának megállapítására.

A mikrorespirációs (CAMPBELL ET AL. 2003) vizsgálathoz a mintákat 2 mm-es szitán átszitáltuk, majd a víztartalmukat csíramentes desztillált vízzel egységesen a víztartó kapacitásuk 50%-ára állítottuk. Mintánként körülbelül 40 g talajt 96 lyukú mélyített lemezbe mértünk, majd parafilmlel letakarva 5 napig exsikkátorban előinkubáltuk. Ezt követően a mikrobiális közösség 23 különböző szerves szénforrásra adott szubsztráthasznosítási választ vizsgáltuk az egyes egységekbe 25 µl-nyi szubsztrátot adva. Az alkalmazott szubsztrátok és koncentrációjuk: D-galaktóz (GAL, 80 g/l), trehalóz (TRE, 80 g/l), L-(+)-arabinóz (ARA, 80 g/l), D-glükóz (GLC 80 g/l), D-(-)-fruktóz (FRU, 80 g/l), citromsav monohidrát (CIT, 40 g/l), DL-almasav (MAL, 40 g/l), borostyánkősav (SUC, 40 g/l), L-alanin (ALA, 40 g/l), L-lizin-monohidroklorid (LYS, 40 g/l), L-glutamin (GLN, 20 g/l), L-arginin (ARG, 12 g/l), 3,4-dihidroxibenzoészav (DHB, 12 g/l), L-glutaminsav (GLU, 12 g/l), myo-inozitol (INO, 80 g/l), D-(+)-xilóz (XYL 80 g/l), D-mannitol (MAT, 80 g/l), D-(+)-mannóz (MAN, 80 g/l), D-szorbitol (SOR, 80 g/l), L-(-)-ramnóz (RHA, 80 g/l), L-aszparagin-monohidrát (ASP, 20 g/l), glükonsav kálium sója (GLA, 40 g/l), L-(+)-aszkorbinsav (ASC, 40 g/l). Mivel a szubsztrátoldatok pH-ja széles skálán mozgott, az abiotikus reakciók csökkentése érdekében az oldatok pH-ját egységesen semlegesre állítottuk. Minden szubsztrátot 3 ismétlésben vizsgáltunk mintánként, kontrollként desztillált vizet használtunk. A szubsztrátok hozzáadása után mintákat tartalmazó lemezeket krezolvörös indikátort tartalmazó detektor lemezekkel lezártuk, majd 5 órás inkubáció után lemértük a detektor lemezek 570 nm-en mutatott fényelnyelésének változását. Az inkubáció előtti fényelnyelés értékeket normalizáltuk, majd az egyes abszorbancia értékekből az előzetes kalibráció során kapott $\%CO_2 = 1/(a+bx^c)$ görbe alapján kiszámítottuk az 5 óra alatt képződött CO₂ mennyiségét, ahol x jelöli az 570 nm-en mért abszorbanciát, a, b, és c pedig konstans értékek. A kapott adatokból kiszámoltuk az egyes minták katabolikus

diverzitására vonatkozó Shannon-féle diverzitást, egyenletességet és gazdagságot (ZAK et al.,1994). A respirációs mintázat további értékelése előtt az egyes minták biomasszájának mennyiségi különbségeiből eredő esetleges torzítás elkerülése végett az egyes respirációs értékeket kifejeztük az adott minta átlagos respirációjának arányában. Az így kapott adatokon főkomponens-elemzést (PCA) végeztünk, majd a respirációs mintázatoknak a vizsgált talajtani változókkal való lehetséges kapcsolatát kanonikus korrespondencia elemzéssel vizsgáltuk meg.

Eredmények

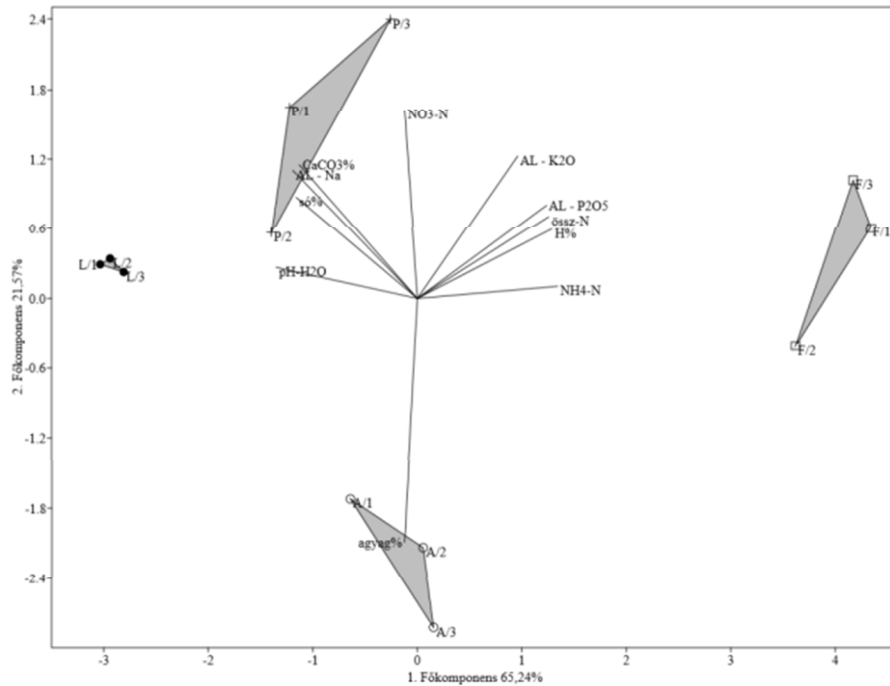
A talajminták fizikai-kémiai tulajdonságai a növényzet alapján vártak szerint jelentősen eltért egymástól a négy területen (1. és 2. táblázat). A pH és elektromos vezetőképesség értékek F<A<P<L sorrendben növekedtek, a humusz- és mésztartalom pedig ezzel éppen ellentétes tendenciát mutatott (a P és L mintavételi helyek mésztartalma között nem volt szignifikáns különbség). A tápanyagtartalmak változatosan alakultak a négy mintavételi hely között.

1. táblázat

A vizsgált talajok mechanikai összetétele

(1) Minta azonosító	(2) Szemcseösszetétel (3 frakció)			(6) textúra
	(3) homok 2-0,05 mm (%)	(4) iszap 0,05-0,002 mm (%)	(5) agyag <0,002 mm (%)	
L/1	24.67	48.30	27.03	(a) agyagos vályog
L/2	23.59	48.12	28.28	
L/3	22.84	48.06	29.10	
P/1	23.79	47.50	28.71	agyagos vályog
P/2	25.81	47.87	26.33	
P/3	23.43	48.84	27.73	
A/1	40.77	42.76	16.47	(b) vályog
A/2	44.70	37.04	18.26	
A/3	48.44	43.58	7.98	
F/1	20.25	57.07	22.67	(c) iszapos vályog
F/2	23.57	56.53	19.90	
F/3	23.23	56.02	20.75	

A talajminták jellemzésére használt környezeti változókon végzett főkomponens elemzés eredményeit az 1. ábrán ábrázoltuk. Az első és a második főkomponens a minták közötti összvariancia 65,24 illetve 21,57%-át magyarázta, a négy mintavételi terület e két tengely alapján egyértelműen elkülöníthető egymástól. Míg az első főkomponens esetében nem lehet egyértelműen kiemelni meghatározó talajtani paramétereket, addig a második főkomponens által magyarázott varianciát egyértelműen a minták agyagtartalma és a nitrát koncentrációja határozta meg



1. ábra

A mintavételi pontok elkülönülése a környezeti változókon végzett főkomponens elemzés eredményei alapján

Érdekes, hogy bár a szikfoknövényzet (P) és az ürmös szikespuszta (A) területről származó minták több fizikai-kémiai paraméterében is jelentős különbség látható, a nagyobb variációt magyarázó első főkomponens mentén ezek nem válnak el élesen egymástól, a második főkomponensre figyelembe véve azonban igen.

A talajtani változókon végzett Pearson-féle korrelációs tesztek eredményeit a 3. táblázatban foglaltuk össze.

A négy mintavételi hely mikrobiológiai aktivitásában jelentős különbségek adódtak. A desztillált víz hozzáadása után mért alaprespiráció értékek az L mintavételi helyen (vakszik) voltak a legalacsonyabbak ($0,088 \pm 0,008 \mu\text{g CO}_2\text{-C g}_{\text{talaj}}^{-1} \text{h}^{-1}$), ezt követte a P ($0,159 \pm 0,029$), majd az A ($0,225 \pm 0,053$) a legmagasabb pedig az F területen volt ($0,414 \pm 0,114$). Az átlagos respirációs aktivitás hasonló tendenciát mutatott: a vakszik minták esetében $0,136 \pm 0,005 \mu\text{g CO}_2\text{-C g}_{\text{talaj}}^{-1} \text{h}^{-1}$ értéket kaptunk, ezt követték a P ($0,336 \pm 0,026$), majd az A ($0,586 \pm 0,133$) és az F ($1,566 \pm 0,355$) területről származó minták. Ez összhangban van a nemzetközi szakirodalom alapján vártakkal, hiszen mind az alap, mind a

szubsztrát indukált respiráció értéke szorosan összefügg a minta aktív mikrobiális biomassájának mennyiségével és a szervesanyag-tartalommal is (ANDERSON & DOMSCH, 1978; WANG et al., 2003). Bár közvetlen biomassza mérést nem végeztünk, az egyes minták pedig a fenti sorrendben egyre kevésbé jelentenek extrém környezetet a mikrobák számára (csökken a sótartalmuk és a lúgosságuk).

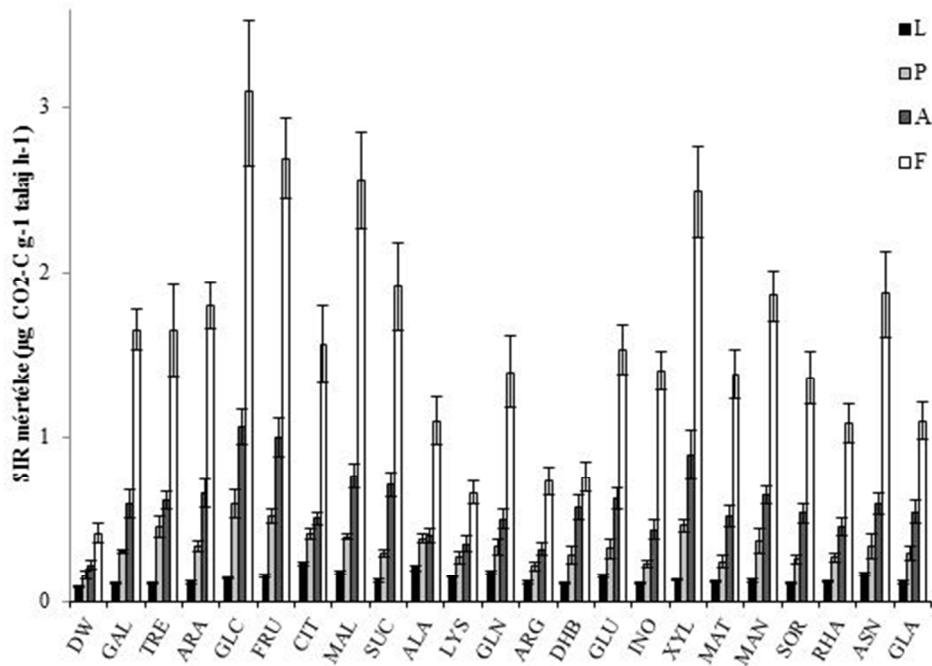
2. táblázat

A vizsgált talajok fizikai-kémiai tulajdonságai. só%: a talaj összessó-tartalma tömegszázalékban, H%: szervesanyag-tartalom tömegszázalékban, össz-N: az összes nitrogéntartalmú anyag mennyisége tömegszázalékban, CaCO₃% mésztartalom tömegszázalékban,. A többi tápelem mg/kg-ban értendő. Az AL-jelölés az adott tápanyag ammónium-laktátos extrakcióját jelöli

(1) min ta	(2) pH- H ₂ O	(3) pH- KCl	(4) só %	(5) H %	(6) össz- N	(7) Ca CO ₃ %	(8) AL - K ₂ O	(9) AL - Na	(10) AL - P ₂ O ₅	(11) NH ₄ - N	(12) NO ₃ - N
L/1	10,47	9,74	0,85	0,51	0,06	20,12	155	4273	21,36	0,99	0,99
L/2	10,38	9,58	0,52	0,58	0,04	22,69	134	4018	18,60	1,08	1,62
L/3	10,41	9,62	0,64	0,54	0,04	20,12	142	3675	23,53	0,96	1,44
P/1	9,86	9,36	0,45	1,83	0,13	22,37	130	3851	72,45	1,52	3,05
P/2	9,93	9,43	0,43	1,47	0,09	20,44	122	3513	70,29	1,48	1,97
P/3	9,79	9,10	0,36	2,59	0,17	21,40	157	4065	87,78	2,16	3,79
A/1	9,39	8,18	0,16	1,34	0,09	17,83	94	1592	40,11	2,21	1,32
A/2	9,37	7,97	0,12	1,70	0,10	13,91	101	1329	46,78	2,65	1,32
A/3	9,14	7,97	0,06	1,51	0,10	12,27	73	723	49,47	2,10	1,26
F/1	7,74	7,35	< 0,02	3,42	0,23	13,09	281	74	109,20	5,92	0,99
F/2	7,93	7,33	< 0,02	3,08	0,19	10,14	179	77	123,41	4,79	0,96
F/3	8,01	7,33	< 0,02	3,27	0,19	11,45	292	67	129,26	5,59	2,33

Az átlagos aktivitásbeli különbségek mellett az egyes szubsztrátok hasznosítására való képességben is igen jelentős eltérések voltak a négy terület között (2. ábra). Az aszkorbinsav a füves szikes pusztá (F) kivételével minden minta esetében egy nagyságrenddel nagyobb respirációs választ indukált a többi szubsztrátnál. Ennek oka feltehetően abiotikus CO₂ képződés volt, így a további elemzésekből ezt a szubsztrátot kihagytuk. A vakszikenövényzet (L) területéről származó minták esetében a legnagyobb respirációt a szerves savak váltották ki, sorrendben a citromsav (az alaprespiráció 2,6-szerese), alanin, almasav, glutamin (az alaprespiráció 1,98-szorosa), ezt követték a szénhidrátok. A másik három

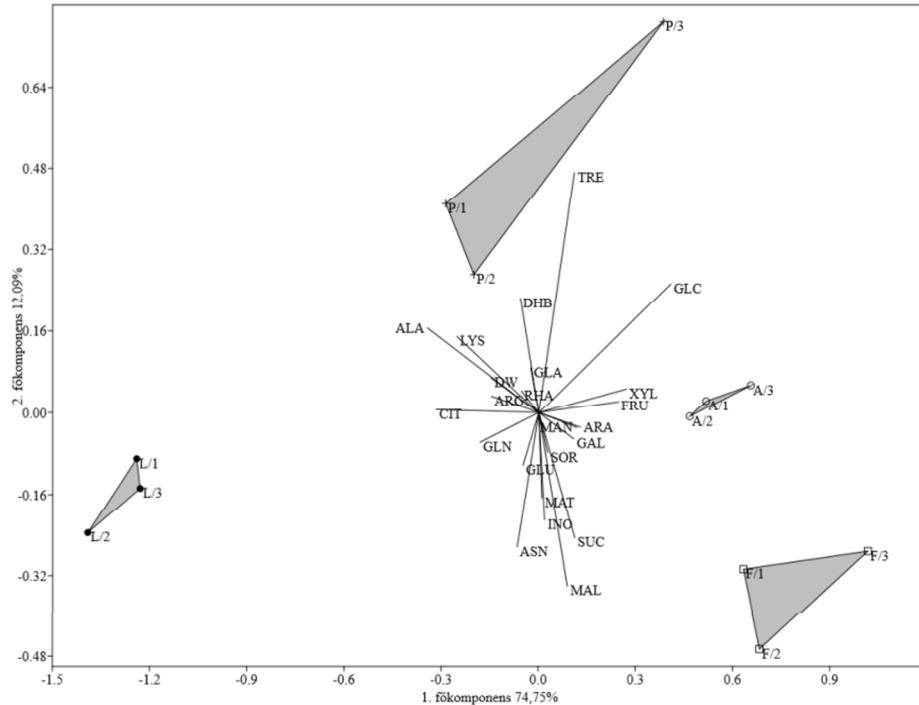
növényzeti típus esetében ezzel szemben a legnagyobb SIR értékeket a szénhidrátok esetében tapasztaltuk, a legmagasabb minden esetben a glükóz volt, a többi sorrendje területenként változott. A szikfoknövényzet (P) esetében a többi területhez képest kiugróan magas volt a trehalóz által indukált respiráció mértéke.



2. ábra

A négy mintaterület talajmikroba-közösségének egyes szubsztrátok által indukált respiráció (SIR) értékei. Az ábrán az aszkorbinsavra adott választ a nagyságrendi különbség miatt nem tüntettük fel.

A diverzitásindexek közül a gazdagság (S) értéke minden minta esetében megegyezett, mivel minden közösség képes volt az összes szubsztrát hasznosítására. A Shannon-diverzitás és az egyenletesség esetében ANOVA és kétmintás t-próba alkalmazásával megállapítható, hogy míg a P és A minták nem különböztek egymástól, az F és L minták között kicsi, de szignifikáns ($\alpha=0,05$) különbséget figyeltünk meg.



3. ábra

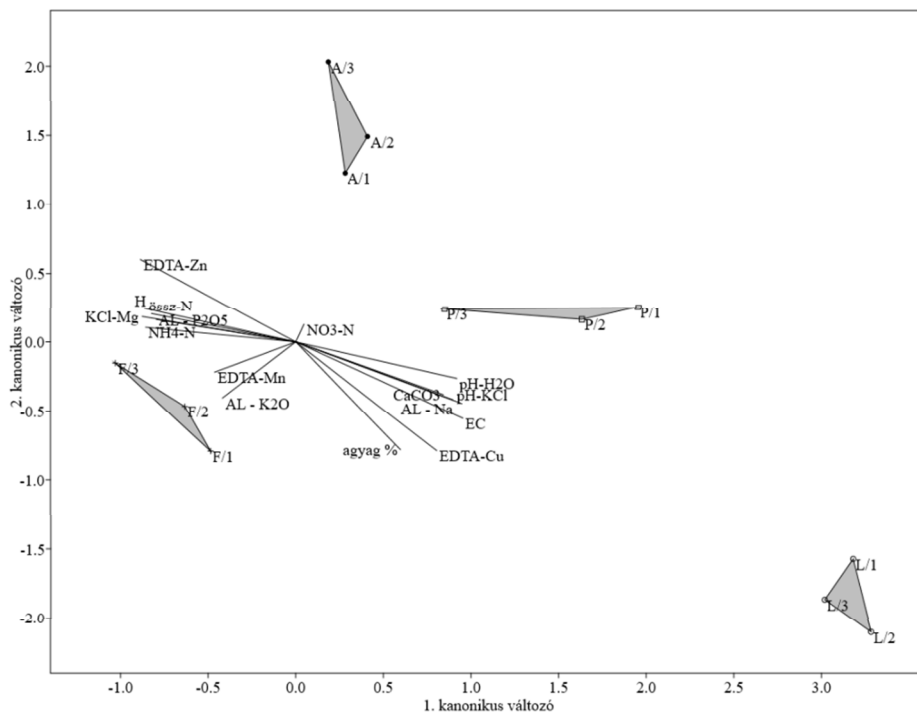
A vizsgált talajok elkülönülése a katabolikus mintázatok főkomponens-elemzésének eredményei alapján

A főkomponens elemzés során az első két főkomponens a mintázatok variációjának 74,75 illetve 12,09%-át magyarázta. E két tengely mentén a négy terület mikrobaközösségei jól elkülönülnek egymástól (3. ábra). Az egyes szubsztrátok közül az első főkomponenshez sorrendben a glükóza, alaninra, citromsavra, xilózra, lizinre és a fruktóza adott válaszok voltak a legnagyobb hatással, míg a második főkomponens mentén történő elkülönülést a trehalóz, almasav, aszparagin, glükóz és a szukcinát hatása dominálta.

Az 1. és a 3. ábrákat összevetve látható, hogy a szubsztrát-hasznosítási mintázat különbségei jól tükrözik a környezeti változók alapján kapott képet. Ezekon a területeken tehát mikrorespirációs módszerrel önmagában, genetikai vizsgálatok nélkül is lehetséges volt a különböző mikrobaközösségek elkülönítése és a katabolikus aktivitásuk karakterizálása. Az, hogy az alkalmazott szubsztrátok hasznosításának mértéke mennyire állandó jellemzője egy adott

mikrobaközösségnek, kérdéses (hiszen maguk a közösségek is változhatnak az évszaknak, időjárásnak megfelelően), és további vizsgálatok tárgya lehet.

Jelen kutatásunkban azt tapasztaltuk, hogy a minták katabolikus aktivitás-mintázata egyértelműen jellemző az adott mintavételi helyre. Érdekes kérdés, hogy a különbségek kialakulásában a talaj fizikai-kémiai tulajdonságainak vagy növényzetnek van-e döntő szerepe. A szakirodalomban rengeteg kutatás foglalkozik a növényzet talajközösségekre gyakorolt hatásával, azon belül is elsősorban a gyökérexudátumok szerepével (BAIS ET AL., 2006; HAICHAR, 2014). Bár néhány exudátum esetében megfigyeltek a gyökértől távolabbi hatást is, rhizoszféra alatt hagyományosan csak a gyökér néhány milliméteres, legfeljebb egy-két centiméteres környezetét szokták érteni. Mivel kísérletünkben nem rhizoszféra mintát vettünk, valószínűbb, hogy a megfigyelt különbségekre a növényzetnek csak közvetett hatása van, és a talaj fizikai-kémiai tulajdonságai voltak döntőek.



4. ábra

A vizsgált talajok respirációs mintázatai és a talajtani változók közötti összefüggés kanonikus korrespondancia elemzés alapján. Az első kanonikus változó az összvariancia 59,43%-át, míg a második 20,44%-át magyarázta.

Ezt támasztják alá az egyes mintavételi helyek közötti, a talajtani változóknak tapasztalt nagy különbségek is, amit a kanonikus korrespondancia elemzés

eredményei is jól tükröznek (4. ábra). Ez alapján a talajtani változók a minták respirációs mintázatait egy fő „tengely” mentén választották szét, amely durván megfeleltethető a szikesedés mértékének: az egyik irányba a magas sótartalmú (vezetőképességű), nagyobb pH-jú és CaCO₃ tartalmú, tehát extrémebbnek tekinthető talajok estek, míg a másikba a magasabb szervesanyag- és tápanyagtartalmú talajok kerültek. Az elemzés jól visszaadja a talajtani változók korrelációelemzésének eredményeit is (3. táblázat).

3. táblázat

A vizsgált talajtani változók korrelációelemzésének eredményei. Az alsó félmátrix a Pearson-féle lineáris korreláció értékeit tartalmazza, a felső félmátrix pedig a korrelálatlanság valószínűségét (p)

	(1) pH- KCl	(2) pH- H ₂ O	(3) só%	(4) H %	(5) Ca CO ₃ %	(6) AL - K ₂ O	(7) AL - Na	(8) AL - P ₂ O ₅	(9) össz- N	(10) NH ₄ - N	(11) NO 3-N	(12) agyag %
pH - KCl		2.48 E-06	5.17E- 06	2.65E -03	9.76E -06	0.14	1.93 E-08	0.01	0.01	9.67E -05	0.35	0.41
pH - H ₂ O	0.95		1.87E- 04	8.02E -05	2.44E -04	0.02	1.82 E-05	4.76E -04	2.42E -04	1.40E -07	0.51	0.94
só %	0.94	0.88		3.73E -03	1.08E -03	0.37	3.62 E-05	0.02	0.01	2.37E -03	0.72	0.25
H %	- 0.78	-0.90	-0.77		0.03	0.01	0.01	4.10E -07	4.52E -09	4.23E -05	0.53	0.48
CaCO ₃ %	0.93	0.87	0.82	-0.64		0.23	9.26 E-07	0.04	0.04	1.86E -03	0.13	0.33
AL - K ₂ O	- 0.45	-0.64	-0.28	0.69	-0.38		0.19	0.01	0.01	2.31E -03	0.90	0.02
AL - Na	0.98	0.92	0.91	-0.69	0.96	-0.41		0.03	0.03	4.37E -04	0.17	0.34
AL - P ₂ O ₅	- 0.70	-0.85	-0.67	0.96	-0.59	0.70	0.62		5.82E -06	3.33E -04	0.45	0.28
össz - N	- 0.74	-0.87	-0.70	0.99	-0.59	0.71	0.64	0.94		1.24E -04	0.54	0.39
NH ₄ -N	- 0.89	-0.97	-0.79	0.91	-0.80	0.79	0.85	0.86	0.89		0.63	0.58
NO ₃ -N	0.30	0.21	0.12	0.20	0.46	0.04	0.42	0.24	0.20	-0.16		0.38
agyag %	- 0.26	0.02	-0.36	-0.23	-0.31	-0.65	0.30	-0.34	-0.27	-0.18	- 0.28	

Mindemellett nem zárható ki a növényzeti hatás sem, de a mintavétel elrendezése ennek vizsgálatát nem tette lehetővé (a növényzeti különbségek a talajok különbségeit tükrözték). A BÁRÁNY et al. (2014) által közölt vizsgálat eredményei ugyanakkor azt mutatták, hogy a MicroResp módszer nem minden esetben alkalmas konkrét növényfajok rhizoszféra mikrobiótájának elkülönítésére, hiszen esetükben az azonos növényfaj mellől, de eltérő mintavételi helyről

származó minták katabolikus mintázata több esetben is jelentősen eltért egymástól, míg más esetekben nem.

A kérdés eldöntéséhez rigorózusabb mintavételre, vagy akár tenyészedény kísérletekre lenne szükség, ahol ugyanazokat a növényfajokat eltérő fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkező talajokon vizsgáljuk.

Következtetések

A vizsgált apajpusztai szikes talajminták, bár a katabolikus diverzitásértékeik csak kis mértékben különböztek, az aktivitás-mintázatukban egyértelmű különbségeket figyeltünk meg, és ezek jól tükrözték a talajminták fizikai-kémiai tulajdonságai általi elkülönülést. A mikrorespirációs módszer önmagában is alkalmazhatónak bizonyult a mikrobaközösségek közötti különbségek kimutatására.

Összefoglalás

A talajok hazai és nemzetközi kutatásában egyre nagyobb szerepet kap a talajok mikrobiótájának vizsgálata. Hazai viszonylatban szikes talajokon eddig kevés ilyen irányú kutatás történt. Kutatásunkban kiskunsági szikes talajok mikrobaközösségeinek katabolikus aktivitás mintázatát vizsgáltuk Apajpusztáról származó mintákon. A mintavételhez négy, a szikesedés különböző fázisaira jellemző növényzettel rendelkező területet választottunk ki (szoloncsák vakszikknövényzet, kiskunsági szikfoknövényzet, ürmös szikespuszta és füves szikespuszta), ezek területéről a talaj mikrobiológiai szempontból legaktívabbnak tekintett 0-10 cm-es rétegét mintáztuk.

A minták néhány fontosabb talajtani paraméterét meghatároztuk (szemcseösszetétel, pH, só-, humusz- és mésztartalom, valamint néhány fontosabb tápelem mennyisége). A négy eltérő növényzetű terület között a talajtani paramétereik alapján is jelentős különbségeket tapasztaltunk.

A minták mikrobiológiai aktivitását az itthon még kevésbé ismert mikrorespirációs (MicroResp™) módszerrel vizsgáltuk. Ennek során a talajmintákhoz 23 különböző szerves szubsztrátot adtunk, és az általuk indukált légzési válaszon keresztül mértük, hogy az egyes talajminták mikrobaközösségei milyen mértékben képesek hasznosítani az egyes szubsztrátokat. Az így kapott, közösségre jellemző katabolikus aktivitás mintázatokat főkomponens elemzéssel és kanonikus korrespondencia elemzéssel értékeltük.

Eredményeink alapján a mikrorespirációs módszer egyértelműen alkalmas az általunk vizsgált talajok mikrobiótájának elkülönítésére. Az egyes minták katabolikus aktivitás mintázatai közötti különbségek egybevágtak a minták közötti, talajfizikai és -kémiai tulajdonságban megfigyelt eltérésekkel.

A kutatást az OTKA (K 108572) támogatta.

Kulcsszavak: MicroResp, szikes, respiráció, katabolikus aktivitás

Irodalom

- ANDERSON, J. P. E., & DOMSCH, K. H. 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* **10**. 215–221.
- BAIS, H. P., WEIR, T. L., PERRY, L. G., GILROY, S., & VIVANCO, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 233–266.
- BÁRÁNY, Á., SZILI-KOVÁCS, T., KRETT, G., FÜZY, A., MÁRIALIGETI, K., & BORSODI, A. 2014. Metabolic activity and genetic diversity of microbial communities inhabiting the rhizosphere of halophyton plants. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica.* **61**. 347–361.
- BÉRARD, A., MAZZIA, C., SAPPIN-DIDIER, V., CAPOWIEZ, L., & CAPOWIEZ, Y. 2014. Use of the MicroResp™ method to assess pollution-induced community tolerance in the context of metal soil contamination. *Ecological Indicators.* **40**. 27–33.
- BORHIDI, A. 2007. Magyarország növénytársulásai. Akadémiai Kiadó, Budapest
- BORSODI, A. K., MICSINAI, A., RUSZNYÁK, A., VLADAR, P., KOVACS, G., TOTH, E. M., & MARIALIGETI, K. 2005. Diversity of alkaliphilic and alkalitolerant bacteria cultivated from decomposing reed rhizomes in a Hungarian soda lake. *Microbial ecology.* **50**. 9–18.
- BORSODI, A. K., RUSZNYÁK, A., MOLNÁR, P., VLADÁR, P., RESKÓNÉ, M. N., TÓTH, E. M., SIPOS R., GEDEON G., MÁRIALIGETI, K. (2007). Metabolic activity and phylogenetic diversity of reed (*Phragmites australis*) periphyton bacterial communities in a Hungarian shallow soda lake. *Microbial ecology*, **53**(4), 612–620.
- BORSODI, A.K., BÁRÁNY, Á., KRETT, G., MÁRIALIGETI, K. & SZILI-KOVÁCS, T. 2015. Diversity and ecological tolerance of bacteria isolated from the rhizosphere of halophyton plants living nearby kiskunság soda ponds, Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* **62**. 183–197.
- CAMPBELL, C.D., CHAPMAN, S.J., CAMERON, C.M., DAVIDSON, M.S., & POTTS, J.M. 2003. A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Applied & Environmental Microbiology.* **69**. 3593–3599.
- CHAPMAN, S. J., CAMPBELL, C. D., & ARTZ, R. R. 2007. Assessing CLPPs using MicroResp™. *Journal of Soils and Sediments.* **7**. 406–410.
- CREAMER, R. E., STONE, D., BERRY, P., & KUIPER, I. 2016. Measuring respiration profiles of soil microbial communities across Europe using MicroResp™ method. *Applied Soil Ecology.* **97**. 36–43.
- DEGENS, B. P., & HARRIS, J. A. 1997. Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.* **29**. 1309–1320.

- FELFÖLDI, T., SOMOGYI, B., MARIALIGETI, K., & VÖRÖS, L. 2009. Characterization of photoautotrophic picoplankton assemblages in turbid, alkaline lakes of the Carpathian Basin (Central Europe). *Journal of Limnology*, **68**. 385–395.
- FÜZY, A., BIRÓ, B., TÓTH, T. 2003. Növény-mikróba kölcsönhatások és néhány talajtulajdonság közötti összefüggés hazai szikeseken. *Természetvédelmi Közlemények*. **10**. 63–69.
- FÜZY, A., BIRÓ, B., TÓTH, T., HILDEBRANDT, U. & BOTHE, H. 2008. Drought, but not salinity, determines the apparent effectiveness of halophytes colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Physiology*. **165**. 1181–1192.
- GARLAND, J. L., & MILLS, A. L. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*. **57**. 2351–2359.
- GE, T., CHEN, X., YUAN, H., LI, B., ZHU, H., PENG, P., & WU, J. 2013. Microbial biomass, activity, and community structure in horticultural soils under conventional and organic management strategies. *European Journal of Soil Biology*. **58**. 122–128.
- HAICHAR, FZ., SANTAELLA, C., HEULIN, T., & ACHOUAK, W. (2014). Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology and Biochemistry*, **77**, 69-80.
- HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., RYAN P. D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*. **4**. 9.
- JIANG, Y., CHEN, C., XU, Z., & LIU, Y. 2012. Effects of single and mixed species forest ecosystems on diversity and function of soil microbial community in subtropical China. *Journal of Soils and Sediments*. **12**. 228–240.
- NELSON, K.E. 2013. Microbiomes. *Microbial Ecology*. **65**. 916–919.
- SOMOGYI, B., FELFÖLDI, T., VANYOVSKI, J., ÁGYI, Á., MÁRIALIGETI, K., & VÖRÖS, L. 2009. Winter bloom of picoeukaryotes in Hungarian shallow turbid soda pans and the role of light and temperature. *Aquatic Ecology*. **43**. 735–744.
- SZABÓ, G., BORSODI, A., VLADÁR, P., CECH, G., TÓTH, E., BOROS, E., MÁRIALIGETI, K. (2004): Kiskunsági Nemzeti Park szikes tavainak bakteriológiai vizsgálata. *Hidrológiai Közöny*. **84**. 147–150.
- TIEDJE, J. M., ASUMING-BREMPONG, S., NÜSSLEIN, K., MARSH, T. L., & FLYNN, S. J. 1999. Opening the black box of soil microbial diversity. *Applied Soil Ecology*. **13**. 109–122.
- TÓTH, T. & SZENDREI, G. 2006. A hazai szikes talajok és a szikesedés, valamint a sófelhalmozódási folyamatok rövid jellemzése. *Topographia Mineralogica Hung*. **9**. 7–20
- VAN DER HEIJDEN, M. G., BARDGETT, R. D., & VAN STRAALLEN, N. M. 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology letters*. **11**. 296–310.
- VÖRÖS, L., V-BALOGH, K., BOROS, E. 2005. Pikoplankton dominancia szikes tavakban. *Hidrológiai Közöny*. **85**. 166–168.

- WANG, W. J., DALAL, R. C., MOODY, P. W., & SMITH, C. J. 2003. Relationships of soil respiration to microbial biomass, substrate availability and clay content. *Soil Biol. Biochem.* **35**. 273–284.7
- ZAK, J. C., WILLIG, M. R., MOORHEAD, D. L., & WILDMAN, H. G. (1994). Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, **26(9)**, 1101-1108.

Use of the microrespiration method to analyse the metabolic activity patterns in the soil of four characteristic sodic plant associations

¹M. MUCSI, ¹P. CSONTOS, ²A. BORSODI, ¹G. KRETT, ¹O. GAZDAG, and ¹T. SZILI-KOVÁCS

¹Research Institute for Soil Sciences and Agricultural Chemistry, Centre for Agricultural Research, MTA, Budapest
²Eötvös Loránd University, Department of Microbiology, Budapest

Summary

The study of the soil microbiota is becoming more and more important both in Hungarian researches and internationally. However, there were only a few microbiological studies in Hungary that focused on saline and sodic soils. In this paper, we report the results of the study of catabolic activity profiles of microbial communities inhabiting saline soils at Apajpuszta, Kiskunság NP, Hungary. Four sampling sites were chosen, that had a specific vegetation types, characteristic to different stages of soil salinization: 1) Saline bare spot (signed by L), or *Lepidio crassifolii-Camphorosmetum annuae*, 2) Puccinellia sward (signed by P), or *Lepidio crassifolii-Puccinellietum limosae*, 3) Artemisia Alkali steppe (signed by A), or *Artemisia santonici-Festucetum pseudovinae*, and 4) Short-grass pasture or Achillea Alkali steppe (signed by F), or *Achilleo setaceae-Festucetum pseudovinae*. From these areas, we took samples from the 0-10 cm layer, which is usually considered as the most microbiologically active part of soils.

Some of the most important physical and chemical parameters of the soil samples were measured (soil texture, pH, salt content, humus content, carbonate content, and the concentration of some nutrients). We found that the four sampling sites had quite distinct soil properties, and could be separated by PCA based on the abiotic parameters examined.

The catabolic activity of the soil samples was measured by the MicroResp method, which is a relatively new method in Hungary. We added 23 organic substrates to the soils in a deep-well microplate and measured rate of respiration induced by each substrate. The catabolic activity profiles (or community level physiological profiles - CLPPs) of the samples were then analyzed by PCA. Based on our results, we conclude that the MicroResp method was able to distinguish

between the microbial communities of the four sites. Results of PCA from the environmental variables and from the CLPPs showed a similar pattern of separation, indicating a strong potential relationship between the two.

Table 1. Soil mechanical properties. (1) Code of sample; (2) Particle size composition of samples (3 fractions) (3) Sand%; (4) Silt%; (5) Clay%; (6) texture of soil samples. (a) clay loam, (b) loam, (c) silt loam

Table 2. Physical and chemical properties of soil samples (1) Code of sample; (2) pH measured in H₂O suspension; (3) pH measured in KCl suspension (4) salt%; (5) total organic matter content; (6) total nitrogen content; (7) CaCO₃%; (8)-(10) ammonium-lactate extractable K₂O, Na, P₂O₅, (11) ammonium-nitrogen content, (12) nitrate-nitrogen content. The parameters (4)-(7) are measured as m/m%, the others are in mg/kg.

Table 3. Results of Pearson's linear correlation tests between the physical and chemical properties of the samples. The lower half-matrix contains the Pearson's correlation coefficients, the upper half-matrix contains the two-tailed probabilities of uncorrelation between variables. (1) pH measured in KCl suspension; (2) pH measured in H₂O suspension; (3) salt%; (4) total organic matter content; (5) CaCO₃%; (6)-(8) ammonium-lactate extractable K₂O, Na, P₂O₅ (9) total nitrogen content; (10) ammonium-nitrogen content; (11) nitrate-nitrogen content; (12) clay%

Figure 1. Results of PCA on the soil physical and chemical parameters. PC 1 and 2 accounted for 65.24 and 21.57% of the total variance, respectively.

Figure 2. Substrate induced respiration values of the samples from the four sites. The columns are representing the mean values of the three parallel samples. The results for ascorbic acid are not included, because it gave one order of magnitude higher values, possibly because of abiotic reactions.

Figure 3. Results of PCA on the catabolic activity profiles of the soil samples. PC1 and 2 accounted for 74.75 and 12.09% of the total variance of the samples, respectively.

Figure 4. Relationship between the respiration patterns and the soil properties of the samples based on the results of canonical correspondence analysis. The first canonical variate was responsible for 59,43% of the total variance, while the second canonical variate was responsible for 20,44%.