

Mikrobiális anyagcsere aktivitás-mintázat és mikorrhiza gomba kolonizáció elemzése három szikes tó melletti talaj rizoszférában

¹SZILI-KOVÁCS Tibor, ²BÁRÁNY Ágnes, ¹FÜZY Anna, ¹TAKÁCS Tünde, ^{1,2}KRETT Gergely,
¹KOVÁCS Ramóna és ²BORSODI Andrea

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

A szikes talajok hazai szakirodalma rendkívül gazdag (TÓTH & SZENDREI 2006), ugyanakkor mikrobiológiai vizsgálatok elsősorban szikes tavakból történtek (SZABÓ et al. 2004, BORSODI et al. 2005, RUSZNYÁK et al. 2008), talajmikrobiológiai vizsgálatokról nagyon kevés tanulmány készült (FÜZY et al. 2008). A szikes talajok sajátosságai közül a nagy sótartalom és alkalikus kémhatás, amelyek elsősorban a dunavölgyi szikes területeken jelentkeznek markánsan, a mikroorganizmusok alkalmazkodását is alaposan próbára teszik. Ráadásul az ingadozó hőmérséklet és vízjárás, a kiszáradástól az időszakos vízborításokig tovább fokozzák a környezeti szélsőségeket. Vizsgálatainkat 2013-ban kezdtük a Kiskunsági Nemzeti Park szikes területein, amelynek első eredményeit már közzöltük (BÁRÁNY et al. 2014; BORSODI et al. 2015).

A talajok illetve a talajban lévő mikrobiális együttes anyagcsere (katabolikus) aktivitás-mintázatán alapuló funkcionális diverzitás elemzések (GARLAND & MILLS, 1991; ZAK et al., 1994) egy új megközelítést jelentenek a genetikai alapon történő diverzitás elemzés mellett. A módszer alapvetően különböző szénforrások mikrobiális hasznosításán alapul, amelyet eredetileg gyors mikrobiális azonosítására dolgoztak ki, azonban itt nem egyetlen izolátum, hanem a teljes mikroba-együttes aktivitását határozzák meg. Az észlelés a dehidrogenáz-enzim aktivitásán alapul, amelyet mikrotiter lemezen mikrotiter olvasó fotométerrel határoznak meg. DEGENS és HARRIS (1997) a talaj mikrobiális közösség funkcionális diverzitásának *in situ* jellemzésére lényegében a szubsztrát indukált respirációs módszer WEST és SPARLING (1986) által kidolgozott változatának többszubsztrátos változatát alkalmazta. A többszubsztrátos respirációs módszer mikrotiter-lemez alapú technikájával CAMPBELL et al. (2003) rendkívül hatékonyra tette az eljárást, melynek során a talajból szubsztrát hozzáadása után képződött CO₂ a detektor lemezek agaros közegében elnyelődik, majd a krezolvörös pH indikátor színváltozása mikrotiter fotométerrel egyszerűen leolvasható. LALOR et al. (2007) összehasonlítva DEGENS és HARRIS (1997) módszerét a mikrorespirációs módszerrel (CAMPBELL et al. 2003), megállapították, hogy különböző kezelésű erdőtalajok jobban elkülönültek az utóbbi módszer alkalmazásával.

Az arbuszkuláris mikorrhiza (AM) gombák a legősibb és legelterjedtebb mikorrhiza típus képviselői (BRUNDRETT et al. 2009). A növényekkel kölcsönösen előnyös (mutualista) együttélésük kulcsfontosságú a gazdanövények tápanyagellátásában,

Postai cím: SZILI-KOVÁCS TIBOR, MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet, 1022 Budapest, Herman Ottó út 15.

E-mail: szili-kovacs.tibor@agrar.mta.hu

abiotikus és biotikus stresszel szemben tanúsított ellenállóképességük és a növényközösségek összetétele szempontjából (SMITH & SMITH 2011, VAN DER HEIJDEN 1998). A szimbioták jelenléte, fertőzőképességük mértéke jó indikátora lehet a vegetáció, illetve az ökoszisztéma stabilitásának, egészségi állapotának. A szikes területeket jellemző extrém környezeti feltételek (szélsőséges vízháztartás, magas pH és ozmotikus stressz) mellett a növény-mikróba partnerek egymásra utaltsága nagy jelentőséggel bír. Szikes élőhelyeken az AM gombák abundanciája helyenként átlagon felüli (HILDEBRANDT et al. 2001; LANDWEHR et al. 2002). A hazai szikes talajok AM gombaközösségeinek összetételéről és működéséről elenyésző ismerettel rendelkezünk. A gazdanövények kolonizáltsági állapotát elsősorban azok genetikailag determinált mikorrhizafüggése határozza meg, melyet számos környezeti tényező mellett a talajok felvehető foszfortartalma jelentősen befolyásol (AZCON & OCAMPO 1981). A szikes talajok lúgos kémhatása a foszfor felvehetőségét gátolja, ami a növény igényeinek kielégítését támogató mikorrhizáció számára lehet kedvező. FÜZY és munkatársai (2008) hazai alkalikus szikeseken kimutatták, hogy az állandó vízborítottság az endomikorrhiza kolonizációt jelentősen visszaszorítja. A talaj sótartalmát leíró mennyiségek (EC, kation tartalom, Na^+ koncentráció, T-érték) szoros összefüggést mutattak a gyökerek arbuszkulum gazdagságának alakulásával. Az arbuszkulumok gombanövény szimbiotikus kapcsolat működésére utaló kolonizációs paraméterek, a partnerek közti anyagcsere színhelyei („szimbiotikus interface”).

Vizsgálatunk célkitűzése három jellegzetes alföldi szikes tó melletti eltérő toposzekvencia mentén a rizoszféra talaj mikroba-együttes katabolikus aktivitás mintázatának összehasonlító elemzése, továbbá a kiválasztott domináns növényfajok arbuszkuláris mikorrhiza gombák általi gyökér kolonizációjának elemzése volt.

Anyag és módszer

Mintavétel és mintaelőkészítés

A kutatás során a Kiskunsági Nemzeti Park Felső-Kiskunsági szikes tavak területéről vettünk rizoszféra talaj és tavi üledék mintát (*1. táblázat*) a Böddi-szék, a Kelemen-szék és a Zab-szék mellől 2013. szeptemberében. A mintavételi helyeket BÖLÖNI és munkatársai. (2011) szerint tipizáltuk: ennek során a szikes tavak szegélyétől kiindulva az emelkedő térszínnek felé zsiókás, sziki mézpzásitos és sziki legelő – ez utóbbi csak Zab-széknel – fordult elő. A „sziki legelő” eredetileg talán cickóros pusztá lehetett, de a bivalyok legeltetése miatt erősen degradálódott.

1. táblázat
A talajminták mintavételi helyei

(1) Minta	(2) Minta jel	(3) Koordináta (WGS84)	(4) Minta-típus, növény
Böddi-szék (B)	B15	N46,76717905; E19,15571754	(a) Mederüledék
	B16	N46,76766522; E19,15531265	(b) Zsióka
	B17	N46,76837581; E19,15540571	(c) Mézpázsit
Kelemen-szék(K)	K18	N46,79449751; E19,17534153	(a) Mederüledék
	K19	N46,79340185; E19,17367544	(b) Zsióka
	K20	N46,79335700; E19,17355745	(b) Zsióka
	K21	N46,79361867; E19,17283764	(c/d) Mézpázsit/Sziki őszirózsa
Zab-szék (Z)	Z22	N46,83652901; E19,17296328	(a) Mederüledék
	Z23	N46,83626816; E19,17293646	(b) Zsióka
	Z24	N46,83658043; E19,17528369	(c) Mézpázsit
	Z25	N46,83649713; E19,17736782	(e) Sziki legelő

A minták egy részét kiszárítottuk, dörzsmozárban homogenizálás után leszitáltuk (< 2 mm) a fizikai és kémiai vizsgálatok céljaira, másik részét hűtőszekrénybe helyeztük (4 °C) a talajrespirációs vizsgálatokhoz. A kiszárított szitált mintákból a humusztartalom, pH_{H2O} (1:2,5 szuszpenzió), mésztartalom és az összes só-tartalom értékeit – a vízzel telített paszta elektromos vezetőképessége alapján – az ATK TAKI Agrokémiai laboratóriumában, a szemcseösszetételt pedig Talajfizikai laboratóriumában határozták meg, BUZÁS (1988, 1993) alapján (2. táblázat).

2. táblázat
A vizsgált talajok fontosabb fizikai és kémiai tulajdonságai

(1) Minta jel	(2) Homok 2-0,05 mm (%)	(3) Iszap 0,05-0,002 mm (%)	(4) Agyag <0,002 mm (%)	(5) H %	pH (H ₂ O)	CaCO ₃ %	EC μS/cm	pF=0 m/m %
B15	29,13	52,30	18,57	0,842	10,1	29,7	3570	32,2
B16	20,92	58,29	20,79	0,947	10,0	31,1	2730	27,0
B17	19,44	63,67	16,89	0,683	10,2	27,4	4280	31,0
K18	14,03	61,64	24,33	0,747	10,3	29,5	5780	37,6
K19	14,35	58,74	26,91	2,89	8,98	30,3	2880	35,4
K20	25,92	48,29	25,80	1,48	9,49	27,9	2720	24,6
K21	18,36	63,38	18,26	2,21	9,77	13,9	2860	38,4
Z22	67,57	18,87	13,56	0,325	10,3	14,6	2560	22,3
Z23	61,14	18,66	20,21	0,394	10,0	16,2	947	27,8
Z24	51,10	44,65	4,25	1,12	9,13	20,8	355	28,7
Z25	34,95	50,24	14,82	3,48	7,82	21,3	271	43,9

A talajminták nedvességét a szabadföldi vízkapacitás közeli értékre állítottuk, ehhez levegőn történő szárításra volt szükség, mivel a minták nedvességtartalma meghaladta ezt az értéket. Ezt követően 2 mm-es szitán átengedtük, és egyhetes előinkubációt alkalmaztunk a mérések előtt, exszikkátorban víz és szódamész jelenlétében. A talajmintavétel mellett növénymintát is vettünk mind a 3 területen, a bennszülött arbuskuláris mikorrhiza gombák (AM gombák) jelenlétének, illetve gyökér-kolonizációjának kimutatására. A növénymintavétel a talajmintavételek közelében történt. Mindhárom élőhelyen előforduló, mikorrhizát képező erősen mikorrhizafüggő sziki őszirózsa (*Tripolium pannonicum* = *Aster*) és a kevésbé mikorrhizafüggő sziki mézpázsit (*Puccinellia limosa*) kolonizációs állapotát vizsgáltuk.

Alap- és szubsztrát-indukált respiráció

Az alaprespiráció méréshez 2,0 g talajt mértünk be 25 cm³ üvegedényekbe, melyeket butilgumi-szeptummal zártunk le. Az edényben képződött CO₂-t 4 és 24 óra elteltével mértük, a két mérés különbségéből számítottuk ki a CO₂ képződés sebességét. A szubsztrát-indukált respiráció mérése ugyancsak 25 cm³ edényekbe mért 2,0 g talajmintákkal történt (SZILI-KOVÁCS & TÖRÖK 2005). A mintákhoz 200 µl szubsztrát oldatot adtunk, az oldat hozzáadása után 20 perccel zártuk le az edényeket, a képződött CO₂-t 3 és 5 óra inkubáció után mértük. Az inkubáció az alap- és szubsztrát-indukált respiráció mérésénél is rázó-vízfürdőben volt (25°C ± 0.1°C, 60 fordulat/perc), minden mintát 4 ismétlésben mértünk. A laborlevegő CO₂ koncentrációját is megmértük, ezt vettük figyelembe a kiindulási CO₂ koncentrációnak a szubsztrát-indukált respiráció meghatározása során. A következő szubsztrátokat alkalmaztuk: D-glükóz, D-fruktóz, L-arabinóz, trehalóz 80 g l⁻¹, dinátrium-szukcinát 40 g l⁻¹. A CO₂ mérését gázkromatográffal (FISONS GC8000, Milano, Italy) végeztük, 250 µl gázmintából.

Katabolikus aktivitás-mintázat mérése mikrorespirációval

A MicrorespTM módszert alkalmaztuk a talaj mikrobiális közösség katabolikus aktivitás-mintázatának vizsgálatára (CAMPBELL et al. 2003). A mikrorespirációs rendszer a szubsztrát talajmintához történő hozzáadása után képződött széndioxid kolorimetrikus detektálásán alapul. A mérés során két 96-kamrás mikrotiter lemez van egymással szembe helyezve, az ún. "deepwell-plate" (DWP) 1,2 ml térfogatú kamráiban található a talaj a hozzáadott szubsztrátokkal, a másik vele szemben elhelyezett mikrotiter lemez tartalmazza a krezolvörös indikátort agargélben (Oxoid agar). A két szembe helyezett lemezt teflonbevonatú szilikonlapka (MicroRespTM Seal) tömítés köti össze, az egymással szemben elhelyezkedő kamrák a tömítésben lévő lyukak révén szabadon átjárhatók.

A talajmintákat szobahőmérsékleten inkubáltuk, amíg a víztartó képességük 50%-körüli értékét elérték, majd parafilmmel lezártuk és exszikkátorba helyeztük, amiben egy-egy főzőpohárban víz illetve szódamész volt. Öt nap inkubáció után a

talajmintákat betöltöttük a DWP-kbe a betöltő eszközzel (MicroResp™ Filling Device) közel azonos talajtérfogatra (300 µl) mind a 96 kamrába.

A DWP egy kamrájába betöltött átlagos talaj száraztömeget a talajjal töltött 96-kamrás DWP tömegéből az üres DWP tömegének kivonása után számítottuk ki, figyelembe véve a talaj nedvességtartalmát. A DWP-eket ezután parafilmrel lezártuk.

A következő nap 25 µl szubsztrát-oldatot adagolunk a talajokat tartalmazó DWP-hez 8-csatornás pipettorral. 15 különböző szénforrás-oldatot és desztillált vizet adagoltunk 6 ismétlésben: D-galaktóz, trehalóz, L-arabinóz, D-glükóz és D-fruktóz 80 mg ml⁻¹, citromsav, DL-almasav, Na-szukcinát, L-alanin, és L-lizin 40 mg ml⁻¹, L-glutamin 20 mg ml⁻¹, L-leucin, L-arginin, 3,4-dihidroxibenzoészav és L-glutaminsav 12 mg ml⁻¹. A szubsztrát oldatok pH-ját 5,5-6,0 közé állítottuk be 1M NaOH vagy HCl oldat hozzáadásával. A szubsztrát hozzáadás után 30 perccel zártuk le a lemezeket, azért, hogy az abiotikus CO₂ eltávozhasson. A lezárás eredeti lezáróval (MicroResp™ Clamp) és saját készítésű fémlézáróval történt. A lezárt lemezeket 25 °C-os termosztátba helyeztük és 5 órán keresztül inkubáltuk. A detektor lemezeket közvetlenül a szubsztrát adagolása előtt, valamint a lemezek 5 órás inkubációja után mértük fotométerrel (Anthos 2010, Biochrom, Cambridge, UK), 570 nm szűrővel. A fotométer számítógéphez kapcsolva az ADAP programmal működött. Az egy lemezről leolvasott abszorbancia értékeket átmásoltuk MS Excel programba további adatfeldolgozáshoz. Az 5 óra inkubáció után kapott abszorbancia értékeket a t=0 időpontban mért abszorbancia értékekkel normalizáltuk, majd átszámítottuk CO₂ térfogatszázaléokra, majd CO₂ koncentrációra a következő kalibrációs görbe alapján: %CO₂ = A+B/(1+DxA_i); A_i az átlagos abszorbancia érték egy meghatározott CO₂ koncentrációnál, és A, B és D a modellparaméterek. A respiráció sebességét a normalizált térfogatszázalékos CO₂ adatokból számítottuk. Minden lemezt egyedileg kalibráltunk, úgy hogy exsikkátorba helyeztük őket és eltérő CO₂ koncentráció mellett mértük az exsikkátorban lévő CO₂ koncentrációt majd a lemezek abszorbancia értékeit a fotométerrel.

Gyökérekolonizációs vizsgálatok

Az AM gombák gyökérekolonizációs vizsgálata a gyökerek anilinkékkel történő festését követően (PHILLIPS & HAYMAN 1970) Olympus BX51 (Olympus Corp., Tokyo, Japan) típusú fénymikroszkóppal történt (40–200X). TROUVELOT és munkatársai (1986) módszere alapján meghatároztuk az AM gombák gyökérekolonizációs mutatóit, az infekció intenzitását (M %) és az arbuszkulumgazdagságot (A%) (FÜZY et al. 2015).

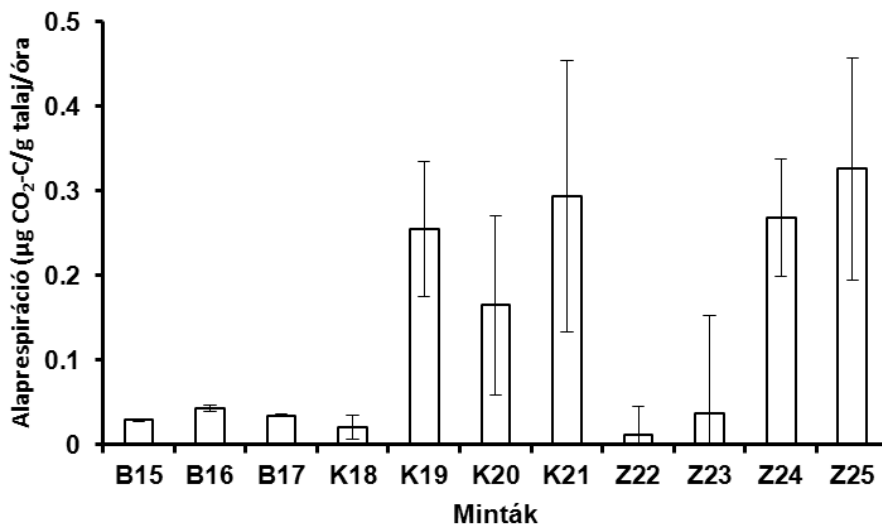
Statisztikai értékelések

Egytényezős variancia-analízist használtunk az adatok értékelése során. A katabolikus aktivitás (szubsztrát-indukált respiráció) adatokat a szubsztrát átlagokra normalizáltuk és a többváltozós statisztikai eljárások közül a főkoordináta elemzést

(PCoA) választottuk "Bray-Curtis" távolság függvénnyel az R-Vegan programcsomag segítségével, kiegészítve a környezeti változókkal való kapcsolat feltárását az *envfit* funkcióval (OKSANEN et al. 2014).

Eredmények és megvitatásuk

A gázkromatográfias méréssel meghatározott alap- és szubsztrát-indukált respiráció



1. ábra

A vizsgált tavi üledékek (B15, K18 és Z22) és talajminták (B16-17, K19-21 és Z23-25) gázkromatográfjal mért alaprespirációjának átlagai a szórások feltüntetésével

Az alaprespiráció a mederüledék mintákban volt a legkisebb (B15, K18 és Z22), ezt követték a zsiókás minták (B16, Z23) és a mézpázsitos minta a Böddi-székről (B17) (1. ábra). A Kelemen-székről gyűjtött (K19, K20 és K21) és a zab-széki (Z24 és Z25) minták alaprespirációja jóval nagyobb volt, a nagy szórás miatt azonban szignifikáns különbségeket ezek között nem tudunk kimutatni. Az alaprespiráció a vizsgált talajparaméterek közül korrelációban volt a humusztartalommal ($r = 0,88$; $P = 0,0003$), a pH-val ($r = -0,84$; $P = 0,0012$) és kisebb mértékben, marginálisan a vezetőképességgel ($r = 0,55$; $P = 0,08$). Az alaprespiráció és a humusztartalom közötti pozitív összefüggés jól ismert, továbbá az is nyilvánvaló, hogy a pH befolyásolja a mikrobiális aktivitást. Azonban pontosan nem tudhatjuk, hogy a pH és az alaprespiráció közötti szoros korreláció közvetlenül a kémhatásból származik, vagy a nagyobb pH érték melletti alacsonyabb humusztartalomnak tulajdonítható.

3. táblázat

A tavi üledékek (B15, K18 és Z22) és rizoszféra talajminták (B16-17, K19-21 és Z23-25) gázkromatográffal mért szubsztrát-indukált respirációjának átlagai ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) a szórások feltüntetésével; a szignifikáns különbségek ($P < 0,05$) eltérő betűkkel jelölve a szórások után

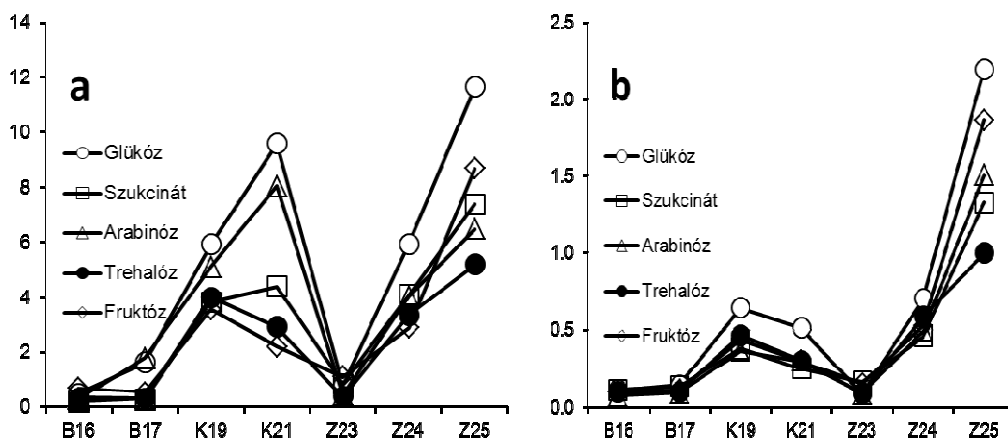
(1) Minta jel	(2) Glükóz	(3) Szukcinát	(4) Arabinóz	(5) Trehalóz	(6) Fruktóz
<i>Böddi-szék</i>					
B15	0,144±0,05a	0,159±0,12a	0,104±0,03a	0,074±0,02a	0,311±0,05a
B16	0,498±0,15b	0,193±0,07a	0,308±0,20a	0,311±0,07b	0,683±0,05b
B17	1,622±0,49c	0,290±0,17a	1,774±0,80b	0,293±0,08b	0,520±0,00c
<i>Kelemen-szék</i>					
K18	0,248±0,06a	0,207±0,11a	0,191±0,13a	0,066±0,04a	0,434±0,03a
K19	5,907±0,93b	3,815±0,98b	5,094±0,69b	3,976±0,24b	3,537±0,27b
K20	4,489±0,09c	1,895±0,47c	1,600±1,05a	1,767±0,39c	2,538±1,15b
K21	9,566±0,49d	4,377±0,78d	8,028±2,08c	2,888±0,44d	2,192±0,35b
<i>Zab-szék</i>					
Z22	0,118±0,10a	0,122±0,01a	0,122±0,05a	0,080±0,02a	0,287±0,07a
Z23	0,787±0,41b	0,838±0,20b	0,425±0,10b	0,371±0,14a	1,094±0,17b
Z24	5,916±0,66c	4,065±0,29c	4,021±0,32c	3,327±0,28b	2,853±0,18c
Z25	11,65±1,32d	7,373±0,71d	6,453±0,81d	5,170±0,29c	8,668±0,76d

A szubsztrát-indukált respirációt (SIR) 5 eltérő szubsztrát hozzáadása után mértük, gyakorlatilag egy nap csak egy szubsztrátot, mivel a 11 mintát 4 ismétlésben mértük, és nagyjából ez az egy nap alatt mérhető adag. A Böddi-szék mintáiban volt a legalacsonyabb az aktivitás. Glükóz hozzáadására mind a három helyen a minták között a SIR szignifikáns volt (3. táblázat). Szukcinát hozzáadása után mért SIR a kelemen-széki és zab-széki minták esetében egyaránt szignifikáns volt, míg a böddi-széki talajoknál nem volt eltérés. Arabinóz hozzáadása után minden zab-széki talaj között a SIR szignifikánsan különbözött, a böddi-széki és kelemen-széki talajoknál viszont nem. Trehalóz hozzáadása után minden kelemen-széki talaj SIR szignifikánsan különbözött, a zab-széki és böddi-széki talajoknál nem. Végül fruktóz hozzáadása után minden böddi-széki és zab-széki talaj SIR szignifikánsan különbözött, a kelemen-székiek viszont nem (3. táblázat). A különböző szubsztrátok tehát helyenként eltérő mértékben különítik el a talajokat, eltérő szubsztrát-hasznosítási mintázatot eredményezve. Egy további megfigyelést kell megemlítenünk a SIR méréssel kapcsolatban. A szubsztrát talajhoz történő hozzáadása után több esetben – elsősorban a mederüledék és a zsiókás mintáknál – a talaj fölötti levegő CO_2 koncentrációja lecsökkent, vagyis a talaj CO_2 -t nyelt el, és a szubsztrát hasznosításból származó CO_2 növekmény csak hosszabb inkubációs idő után jelent meg. Ezt a jelenséget már ANDERSON és DOMSCH (1978) is leírta néhány nagy szervesanyag tartalmú talajnál. Ez az oka annak, amiért a módszertani

részben leírtak szerint nem a 0 és 3 óra közötti, hanem a 3 és 5 óra inkubációs idő közötti CO₂ képződésből számítottuk ki a respiráció sebességét.

Szubsztrát-indukált respiráció mikrorespirációs (MicorRespTM) módszerrel

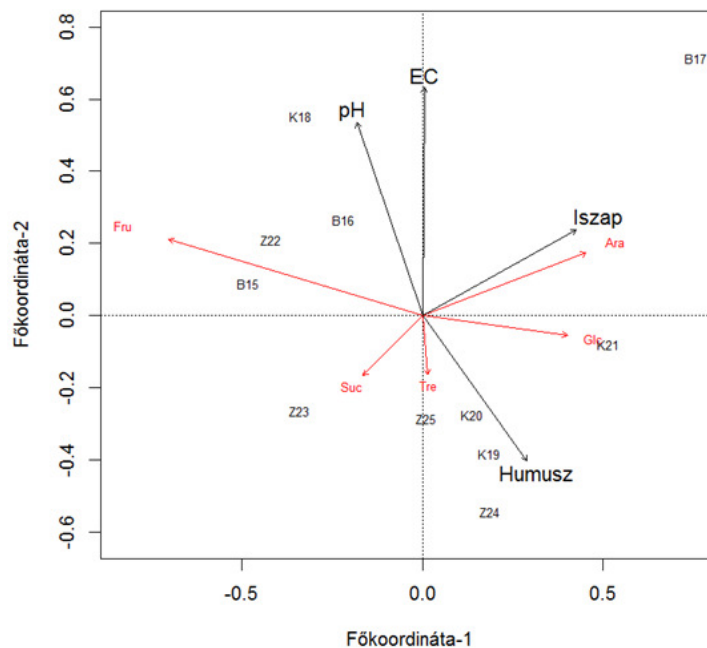
Összehasonlításként a 11 minta közül 7 mintából végeztük el a mikrorespirációs mérést, kihagyva a mederüledék mintákat, melyeknek amúgy is nagyon alacsony a respirációs aktivitása, így nehezen értékelhetők, továbbá a kelemen-széki K20-as mintát, mivel a K19-hez hasonlóan az is zsiókás volt. Mikrorespirációs méréseket a gázkromatográfjal mért SIR értékekkel együtt ábrázoltuk (2. ábra), az összehasonlítás kedvéért. Az rögtön szembetűnik, hogy a gázkromatográfias méréssel kapott értékek jóval nagyobbak a mikrorespirációval kapott adatoknál. A két különböző módszerrel mért szubsztrát indukált respiráció között szignifikáns korreláció ($r=0,82$; $p<0,0001$) a K21-es minta kihagyásával még erősebb ($r=0,93$; $p<0,0001$). Ugyanakkor szubsztrátonként összehasonlítva az arabinóz esetében nem volt szignifikáns korreláció a két mérési módszer között ($r=0,58$; $p=0,17$), a többi szubsztrát esetében viszont igen.



2. ábra

A szubsztrát-indukált respiráció méréseinek összehasonlítása gázkromatográfjal (a) illetve mikrorespirációs módszerrel (b) mérve ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$)

LALOR és munkatársai (2007) átlagosan hatszor nagyobb respirációs értéket kaptak a DEGENS & HARRIS (1997) módszerrel, mint a mikrorespirációs méréssel. Ennek valószínűleg az lehet az oka, hogy a gázkromatográfias mérésnél az edény levegőtér fogata sokkal nagyobb, tehát több oxigén áll rendelkezésre a légzéshez. Ugyanakkor a szubsztrátokra adott válasz a két módszerrel hasonló tendenciát mutatott, talán a K21 minta esetében volt jelentősebb eltérés a két módszer között.

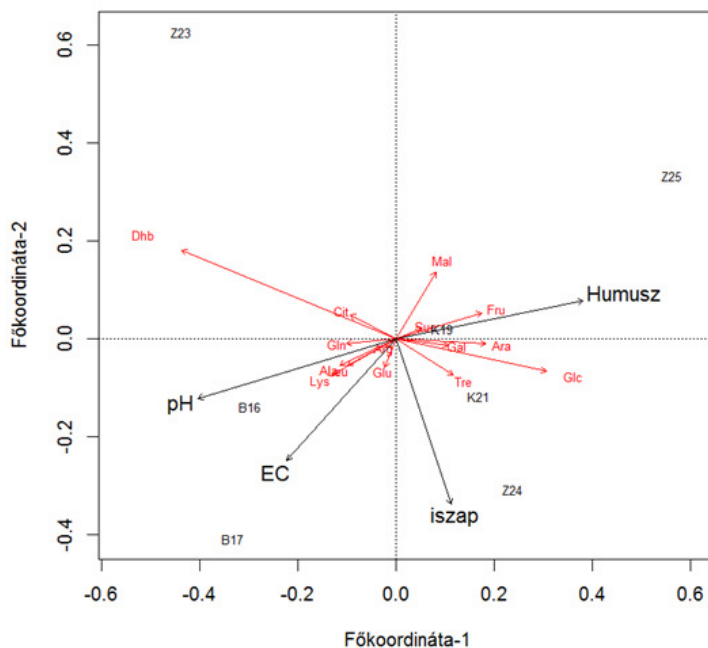
Szubsztrát-hasznosítási mintázat és a környezeti változók

3. ábra

Főkoordináta elemzés a gázkromatográffal mért SIR értékeiből (5 szubsztrát) és négy környezeti változó (humusztartalom, pH, vezetőképesség (EC), iszap-tartalom (%)) felhasználásával a vizsgált 11 mintánál (az 1. főkoordináta az összvariancia 76%-át a 2. főkoordináta 11%-a magyarázza)

A katabolikus aktivitás-mintázat és a környezeti változók közötti összefüggések feltárására főkoordináta elemzést és a környezeti változókkal való regresszióanalízist végeztünk. A gázkromatográffal meghatározott SIR (3. ábra) és a mikrorespirációval mért SIR (4. ábra) ordinációját négy környezeti változóval ábrázoltunk, mivel az itt nem említett egyéb elemzések során ezeknek kimutatható hatásuk volt. A mederüledék minták szorosan egymás mellett helyezkednek el, mivel ezeknél a környezeti feltételek élesen elkülönülnek a talajokétól. A mikrorespirációs méréssel merőben eltérően helyezkednek el e minták egymáshoz képest, aminek egyrészt az az oka, hogy itt csak 7 minta szerepel a 11-ből, másrészt viszont 15 szubsztrát respirációs mintázata szerepel szemben az 5-szubsztrátos gázkromatográfiás méréssel. Ugyanakkor a 3. ábrán bemutatott összehasonlítás szerint néhány esetben az azonos szubsztrátok is némileg eltérő tendenciájú eredményt adnak. Mind a két elemzés azt mutatja, hogy a humusztartalom és a pH változása egymással ellentétes módon hat, a sótartalom inkább a pH-val mutat szorosabb kapcsolatot, az iszaptartalom pedig látszólag független tőlük, hiszen közel merőlegesen helyezkedik el hozzájuk képest. A környezeti változók illesztése során a gázkromatográfiás mérésnél a pH és a vezetőképesség, míg a

mikrorespirációs mérésnél a pH és a humusztartalom hatása volt szignifikáns (4. táblázat). WAKELIN és munkatársai. (2008) különböző mezőgazdasági művelésű talajokon kimutatták, hogy a talaj pH a legfontosabb szelekciós faktor mind a genetikai, mind a katabolikus aktivitás mintázat tekintetében, továbbá azt is, hogy a mikrorespirációval meghatározott katabolikus aktivitás-mintázat sokkal szorosabb összefüggésben van a bakteriális-, mint a gomba közösség-szerkezettel.



4. ábra

Főkoordináta elemzés a mikrorespirációs adatok szubsztrát-átlagra normalizált értékeiből (15 szubsztrát) és négy környezeti változó (humusztartalom, pH, vezetőképesség (EC) és iszap-tartalom (%)) felhasználásával a vizsgált 7 mintánál (az 1. főkoordináta az összvariancia 77%-át a 2. főkoordináta 14%-a magyarázza)

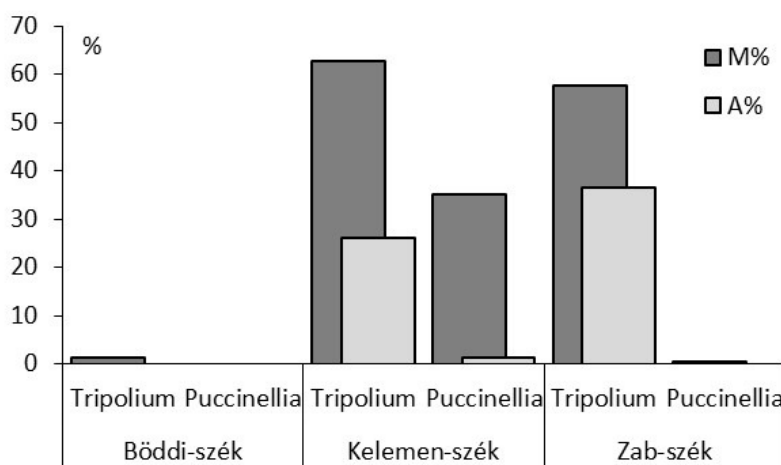
4. táblázat

Környezeti változók vektorként történő illesztése az ordinációs diagramokra (Vegan – envfit funkcióval; 999 permutáció), korreláció és szignifikancia feltüntetésével.

	gázkromatográfias SIR mérés		mikrorespiráció	
	r^2	$P>r$	r^2	$P>r$
pH	0,497	0,06+	0,818	0,032 *
EC(μ S/cm)	0,622	0,013*	0,695	0,106
Humusz(%)	0,381	0,153	0,731	0,096+
Homok(%)	0,273	0,265	0,592	0,209
Iszap(%)	0,368	0,165	0,6826	0,101
Agyag(%)	0,044	0,845	0,1873	0,683

AM gomba gyökérkolonizáció

A két vizsgált növényfaj (sziki őszirózsa – *Tripolium pannonicum* és sziki mézspázsít - *Puccinellia limosa*) és a három mintavételi helyszín között a gyökérkolonizációban jelentős különbségek mutathatók ki (5. ábra). Magasabb kolonizációs értékek tartoznak a mikorrhizafüggő sziki őszirózsa gyökérmintáihoz, mint a kevésbé mikorrhizafüggő sziki mézspázsíthoz. Jelentős a kolonizáció Kelemen-szék mintaterületen, míg Böddi-széken a mikorrhizafüggő őszirózsa gyökereiben is csak nyomokban találtunk kolonizációt.



5. ábra

A vizsgált növények (*Tripolium pannonicum* = Aster és *Puccinellia limosa*) gyökérkolonizációs értékei a három mintavételi helyszínen (M%: a kolonizáció intenzitása; A%: az arbuszkulum gazdagság mértéke)

A vizsgált talaj-paraméterek a három helyszínen nem indokolják a jelentős különbségeket az AM gombák kolonizációban, okait talán az időszakos vízjárásban, vízborításban, kiszáradásban lehet keresni, ami rendszeres monitorozást igényel. A tartós vízborítás és hipoxiás környezet csökkenti az AM gomba kolonizációt (HATTORI et al. 2013). A sziki őszirózsa magas kolonizáltsága magyarázható aerenchima-képző tulajdonságaival, mely lehetővé teszi mind a növény mind pedig szimbionta partnere számára a vízborításos időszakok túlélését (CARVALHO et al. 2003).

Következtetések

A mikrorespirációs (MicroRespTM) módszerrel jellemzett katabolikus aktivitás mintázat a különböző helyről származó szikes talajminták között eltérést mutatott. A talaj humusztartalma, a pH és az elektromos vezetőképességgel jellemzett

sótartalom összefüggést mutattak a katabolikus aktivitásban tapasztalt eltérésekkel. A sziki őszirózsa magasabb AM kolonizációt mutatott, mint a sziki mézpázsit, ugyanakkor a kolonizáció mértékének mintavételi helyek közötti eltérését nem lehetett a talajparaméterekkel magyarázni.

Összefoglalás

A szikes talajok szélsőséges vízháztartásuk, nagy sótartalmuk és alkalikus kémhatásuk miatt az élőlények alkalmazkodását alaposan próbára teszik. A talaj mikrobiális közösség katabolikus aktivitás mintázatát hasonlítottuk össze három szikes tó, a Böddi-szék, a Kelemen-szék és a Zab-szék (Felső-Kiskunsági szikes tavak) partközeli vegetációjának rizoszférájában az iszaptól a zsiókáson és a mézpázsiton keresztül a homoki legelőig. Feltételeztük, hogy a szikes jellegben és a növényzetben meglévő különbségek a mikrobiális közösségre is hatást gyakorolnak. Kezdeti eredményeink azt mutatták, hogy a szubsztrát hasznosítási mintázat alapján az egyes minták jól elkülönültek egymástól. Az alaprespiráció elsősorban a talaj humusztartalmával mutatott szoros összefüggést. A katabolikus aktivitás mintázatokat 5 szubsztrát alapján a gázkromatográfiás SIR méréssel a pH és EC, míg 15 szubsztrát alapján mikrorespirációval a pH és humusztartalom szignifikánsan befolyásolta, a növényzet közvetlen hatása kevésbé volt igazolható.

A szélsőséges talajtulajdonságokkal jellemezhető élőhelyeken, mint amilyenek a szikesek, a növények túlélésében az arbuszkuláris mikorrhiza (AM) gombák fontos szerepet játszanak. Az AM gombák kolonizációjában jelentős különbség adódott két domináns növényfaj, a sziki őszirózsa és a sziki mézpázsit között, az előbbi jóval erőteljesebb kolonizációt mutatott. Ugyanazon növényfaj AM kolonizációja a három területen eltérő volt, ami nem magyarázható a talaj tulajdonságokkal.

A kutatást az OTKA (K 108572) támogatta.

Kulcsszavak: AM gombák, Microresp, talajlégzés, szubsztrát indukált respiráció

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.
- AZCON, R. & OCAMPO, J.A. 1981. Factors affecting the vesicular arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. *New Phytol* **87**. 677–685.
- BÁRÁNY, Á., SZILI-KOVÁCS, T., KRETT, G., FÜZY, A., MÁRIALIGETI, K. & BORSODI, A.K. (2014). Metabolic activity and genetic diversity of microbial communities inhabiting the rhizosphere of halophyton plants. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* **61**. 347–361.
- BORSODI, A.K., VLADÁR, P., RUSZNYÁK, A., SZABÓ, G., SIPOS, R. & MÁRIALIGETI, K. 2005. Tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független molekuláris biológiai vizsgálatok a Kiskunsági NP szikes tavainak baktériumközösségein. *Hidrol Közl* **85**. 23–25.

- 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.
- BÖLÖNI, J., MOLNÁR, ZS. & KUN, A. 2011. Magyarország élőhelyei; Vegetációtípusok leírása és határozója – ÁNÉR 2011, MTA ÖBKI, Vácrátót.
- BRUNDRETT, M. C. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil* **320**. 37–77.
- BUZÁS I. (szerk.) (1988): Talaj- és agrokémiai vizsgálati módszerkönyv 2. Mezőgazdasági kiadó. Budapest
- BUZÁS I. (szerk.) (1993): Talaj- és agrokémiai vizsgálati módszerkönyv 1. INDA 4231. Budapest
- CARVALHO, L. M., CORREIA, P. M., CAADOR, I. & MARTINS-LOUCAO, M. A., 2003. Effects of salinity and flooding on the infectivity of salt marsh arbuscular mycorrhizal fungi in *Aster tripolium* L. *Biol Fertil Soils* **38**. 137–143.
- 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 substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Appl Environ Microbiol* **69**. 3593–3599.
- DEGENS, B. P. & HARRIS, J. A. 1997. Development of physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.* **29**. 1309–1320.
- 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.
- FÜZY, A., BIRÓ, I., KOVÁCS, R. & TAKÁCS, T. 2015: Estimation of AM fungal colonization – comparability and reliability of classical methods. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* **62**. 435–452.
- 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. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**. 2351–2359.
- HATTORI, R., MATSUMURA, A., YAMAWAKI, K., TARUI, A. & DAIMON, H., 2013. Effects of flooding on arbuscular mycorrhizal colonization and root-nodule formation in different roots of soybeans. *Agricultural Sciences* **4**. 673–677
- HILDEBRANDT, U., JANETTA, K., OUZIAD, F., RENNE, B., NAWRATH, K. & BOTHE, H., 2001. Arbuscular mycorrhizal colonization of halophytes in Central European salt marshes. *Mycorrhiza* **10**. 175–183.
- LALOR, B.M., COOKSON W.R. & MURPHY, D.W. 2007. Comparison of two methods that assess soil community level physiological profiles in a forest ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* **39**. 454–462.
- LANDWEHR, M., HILDEBRANDT, U., WILDE, P., NAWRATH, K., TÓTH, T., BIRÓ, B. & HERMANN, B. 2002. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus geosporum* in European saline, sodic and gypsum soils. *Mycorrhiza* **12**. 199–211.
- OKSANEN, J., BLANCHET, F.G., ROELAND, K., LEGENDRE, P., MINCHIN, P.R., O'HARA, R.B., SIMPSON, G.L., SOLYMOS, P., STEVENS, M.H.H. & WAGNER, H. 2014. vegan: Community ecology package. R package version 2.2-0. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **55**. 157–160.
- RUSZNYÁK, A., VLADÁR, P., SZABÓ, G., MÁRIALIGETI, K. & BORSODI, A.K. 2008. Phylogenetic and metabolic bacterial diversity of *Phragmites australis* periphyton communities in two Hungarian soda ponds. *Extremophiles* **12**. 763–773.
- SZABÓ, G., BORSODI, A., VLADÁR, P., CECH, G., TÓTH, E., BOROS, E. & MÁRIALIGETI, K. 2004. A Kiskunsági Nemzeti Park szikes tavainak bakteriológiai vizsgálata. *Hidrol Közl* **84**. 147–150.
- SMITH, S.E. & SMITH, F.A., 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology* **62**. 227–250.
- SZILI-KOVÁCS, T. & TÖRÖK, K., 2005. Szénforráskezelés hatása a talaj mikrobiális aktivitására és biomaszájára felhagyott homoki szántókon. *Agrokémia és Talajtan* **54**. 149–162.
- TÓTH, T. & SZENDREI, G. 2006: A hazai szikes talajok és a szikesedés, valamint a sófelhalmozódási folyamatok rövid jellemzése. *Topographia Mineralogica Hung.* **9**. 7–20.
- TROUVELOT, A., KOUGH, J.L. & GIANINAZZI-PEARSON, V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherches et méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. eds., *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae*. INRA, Paris, 217–221.
- VAN DER HEIJDEN, M.G.A., KLIRONOMOS, J.N., URSIC, M., MOUTOGLIS, P., STREITWOLF-ENGEL, R., BOLLER, T., WIEMKEN, A. & SANDERS, I.R., 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* **396**. 69–72.
- WAKELIN, S. A., MACDONALD, L. M., ROGERS, S. L., GREGG, A. L., BOLGER, T. P. & BALDOCK, J. A. 2008. Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* **40**. 803–813.
- WEST, A. W. & SPARLING, G. P. 1986. Modifications to the substrate-induced respiration method to permit measurement of microbial biomass in soils of different water contents. *J. Microbiol. Meth.* **5**. 177–189.
- ZAK, J. C., WILLIG, M.R., MOORHEAD, D.L. & WILDMAN, H.G. 1994. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biol. Biochem.* **26**. 1101–1108.

Analysis of the microbial metabolic activity patterns and mycorrhizal fungal colonisation in the rhizosphere of three soils neighbouring sodic lakes

¹T. SZILI-KOVÁCS, ²Á. BÁRÁNY, ¹A. FÜZY, ¹T. TAKÁCS, ^{1,2}G. KRETT, ¹R. KOVÁCS and ²A. BORSODI

¹Research Institute for Soil Sciences and Agricultural Chemistry, Centre for Agricultural Research, MTA, Budapest

²Eötvös Loránd University, Department of Microbiology, Budapest

Summary

Adaptation of organisms to the extreme water regime, salt content and alkalinity characterized by saline-sodic soils is a great challenge. We have compared the catabolic activity patterns of soil microbial communities of the rhizosphere at three soda ponds, Böddi-szék, Kelemen-szék and Zab-szék from the sediment of the lake through others vegetation to the sodic pasture. It was assumed that differences in soil sodicity and vegetation characteristics would affect soil microbial community. The preliminary results showed that the samples from different locations could be divided by their substrate utilization patterns. The soil basal respiration was correlated primarily with the soil organic carbon. The soil community level catabolic profiles were significantly affected by soil pH and EC by gas chromatographic SIR with 5 substrates while by pH and humus content by microrespiration using 15 substrates. Arbuscular mycorrhizal (AM) fungal colonization have essential role in the survival of plants in habitats characterized by extreme soil conditions, as in the salt-affected soils. Large difference was found between the two dominant plant species sea aster (*Tripolium pannonicum*) and alkali grass (*Puccinellia limosa*) in the AM fungal colonization characteristics, showing a much stronger colonization by the previous one. The AM fungal colonization of the same plant species was different at the three sites, which could not be explained by the soil properties.

Keywords: AM fungi, Microresp, soil respiration, substrate induced respiration

Table 1. Samling sites of the soil samples. (1) Sample site (2) Code of the sample (3) Geographical location of the samples in WGS84 system (4) Type of sample, vegetation: (a) sediment of the pond; (b) *Bolboschoenus* sp. (c) *Puccinellia* sp.; (c/d) *Puccinellia/Tripolium*; (e) sodic grassland, mainly *Festuca*

Table 2. Soil properties. (1) Code of sample; (2) Sand%; (3) Silt%; (4) Clay%; (5) Humus-content% = soil organic C x 1.725.

Table 3. Means±(standard deviation) with significant differences with different letters among substrate induced respiration values of soil samples measured by gas chromatography

($p < 0.05$). (1) Code of sample; (2) D-Glucose; (3) Succinate; (4) L-Arabinose; (5) Trehalose; (6) D-Fructose.

Table 4. Correlation and significance of the vector fitting of the environmental variables (Humus content, pH, EC, sand-, silt- and clay content) on the ordination diagram.

Figure 1. Mean values of basal respiration (with standard deviations) of pond sediments (B15, K18, and Z22) and soil samples measured by gas chromatography.

Figure 2. Comparison of the substrate induced respiration from the same samples measured by gas chromatography (a) and microrespiration (b) with 5 substrates.

Figure 3. Graphical plot of the principal coordinate analysis (PCoA) of SIR measured by gas chromatography with 5 substrates with fitting on the environmental variables (humus content, pH, and electrical conductivity (EC), and silt content).

Figure 4. Graphical plot of the principal coordinate analysis (PCoA) of SIR measured by MicroResp with 15 substrates with fitting on the environmental variables (humus content, pH, and electrical conductivity (EC), and silt content).

Figure 5. Arbuscular mycorrhizal root colonization characteristics of the *Tripolium pannonicum* and *Puccinellia limosa* at the three sampling sites (M%: intensity of the root colonization; A%: arbuscular richness).