



SZENT ISTVÁN EGYETEM

**KÜLÖNBÖZŐ GAZDÁLKODÁSI MÓDOK HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA
A TALAJMIKROBA-KÖZÖSSÉGEK FUNKCIONÁLIS DIVERZITÁSÁRA**

DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

GAZDAG ORSOLYA

GÖDÖLLŐ

2019

A doktori iskola

megnevezése: Szent István Egyetem Környezettudományi Doktori Iskola

tudományága: Környezettudomány

vezetője: Csákiné Dr. Michéli Erika

egyetemi tanár

SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar

Környezettudományi Intézet

Talajtani és Agrokémiai Tanszék

Témavezetői: Imréné dr. Takács Tünde

tudományos főmunkatárs, PhD

Agrártudományi Kutatóközpont, Talajtani és Agrokémiai Intézet

Talajbiológiai Osztály

Dr. Szili-Kovács Tibor

tudományos főmunkatárs, osztályvezető, PhD

Agrártudományi Kutatóközpont, Talajtani és Agrokémiai Intézet

Talajbiológiai Osztály

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	8
1.1. A téma aktualitása, jelentősége	8
1.2. Célkitűzés.....	9
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	10
2.1. A termőtalaj jelentősége és funkciói	10
2.2. A termőtalaj és a talajtermékenység védelme.....	10
2.2.1. A talajromlás okai és megelőzése	11
2.3. Az organikus és a konvencionális gazdálkodási mód előnyei és hátrányai.....	12
2.3.1. Az organikus gazdálkodás elterjedtsége	15
2.3.2. Az organikus gazdálkodásra vonatkozó jogszabályok	16
2.4. A talajbaktériumok szerepe és jelentősége a mezőgazdaságban	17
2.4.1. A talajegészség kimutatása talajmikroba-indikátorok segítségével	18
2.5. Az alkalmazott agrotechnikai eljárások hatása a talajtulajdonságokra (fizikai, kémiai és mikrobiológiai)	21
2.6. A nitrogén, foszfor és kálium elemkörforgalmakban szerepet játszó mikroorganizmusok mezőgazdasági jelentősége – szerepük a felvehető tápelemtartalom kialakításában	22
2.6.1. A szimbiotikus nitrogénkötés ökológiai és gazdasági jelentősége	23
2.6.2. Az α -proteobaktériumok taxonómiai jellemzése	25
2.7. A talajok fontosabb fizikai- és kémiai tulajdonságainak hatása a talaj mikrobiológiai folyamataira.....	26
2.8. A talaj mikrobaközösség vizsgálatára felhasznált klasszikus módszerek	27
2.8.1. A talajmikrobák enzimaktivitás vizsgálata	28
2.8.2. A talajmikroba-közösségek vizsgálata respirációs módszerekkel.....	28
2.8.3. A talajmikrobák vizsgálata kitenyésztéses eljárásokkal	29
2.9. A talajmikrobák vizsgálata molekuláris technikákkal	29
2.9.1. Mikrobiális 16S rRNS.....	29
2.9.2. Talajmikroba DNS-kivonás.....	30
2.9.3. PCR, Nested-PCR-módszer	31
2.9.4. Agaróz gélelektroforézis vizsgálat	32
2.9.5. DGGE módszer	33
2.9.6. Sanger-féle szekvenálás	33
2.9.7. Mikrobiális filogenetikai elemzések	35
3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	36

3.1. Mintavételi helyek bemutatása, mintavétel	36
3.1.1. Karcagi kísérleti terület	36
3.1.2. Martonvásári kísérleti terület.....	37
3.1.3. Nyíregyházi kísérleti terület	37
3.1.4. A mintavételi évek időjárása	38
3.2. Státuszvizsgálatok.....	38
3.2.1. A talajok főbb fizikai és kémiai vizsgálata	38
3.3 Funkcionális vizsgálatok	38
3.3.1. Tenyésztésen alapuló talaj-mikrobiológiai vizsgálatok, csíraszámbecslés.....	38
3.3.2. Talaj enzimaktivitás vizsgálat (FDA)	39
3.3.3. Talajrespirációs vizsgálatok	39
3.4. Tenyésztéstől független, mikrobiális közösség molekuláris vizsgálatok.....	42
3.4.1. Talajbaktérium nukleinsav-izolálás	42
3.4.2. Talajbaktérium nukleinsav mennyiségi- és minőségi ellenőrzése.....	42
3.4.3. Talajbaktérium nukleinsav-izolálás módszertani fejlesztése	42
3.4.4. A talajmikroba DNS felszaporítása fészek (nested) - polimeráz láncreakcióval (PCR).....	43
3.4.5. Nested-PCR-termék elválasztás agaróz gélelektroforézissel	44
3.4.6. A talajmikroba <i>nifH</i> gén felszaporítása polimeráz láncreakcióval (PCR)	44
3.4.7. Denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE)	45
3.4.8. Szekvenálás kapilláris elektroforézissel.....	46
3.5. Az adatok statisztikai értékelése	47
4. EREDMÉNYEK.....	48
4.2. Funkcionális vizsgálatok eredményei.....	55
4.2.1. Tenyésztésen alapuló talajmikrobiológiai csíraszámok.....	55
4.2.2. Talaj enzimaktivitás vizsgálat (FDA).....	57
4.2.3. Talajrespirációs vizsgálatok.....	58
4.3. A főbb talajfizikai, -kémiai és -mikrobiológiai paraméterek közti összefüggések	61
4.4. Tenyésztéstől független talajmikrobiális-közösség diverzitása	62
4.4.1. Talajbaktérium nukleinsav-izolálás mennyiségi és minőségi paraméterei	62
4.4.2. Két évszakos DNS-izolálás mennyiségi és minőségi paramétereinek több szempontot egyszerre figyelembe vevő komplex kiértékelése.....	64
4.4.3. Talajbaktérium nukleinsav-izolálás módszertani fejlesztése	66
4.4.4. A talaj DNS-izolálási módszertan nukleinsav mennyiségi és minőségi mutatóinak több szempontot egyszerre figyelembe vevő komplex kiértékelése	67
4.4.5. Talajmikrobiális-közösség kimutatása PCR- és nested-PCR reakcióval.....	69
4.4.6. Denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE)	69

4.4.7. Szekvenálási eredmények	71
4.5. Diskusszió	71
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	80
6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	81
7. ÖSSZEFOGLALÁS	83
8. SUMMARY	85
9. MELLÉKLETEK.....	87
M1. Irodalomjegyzék.....	87
M2A. Talajszelvény – Karcag.....	105
M2B. Talajszelvény – Martonvásár.....	106
M2C. Talajszelvény – Nyíregyháza	107
M3A. Karcagi kísérleti terület.....	108
M3B. Martonvásári kísérleti terület.....	108
M3C. Nyíregyházi kísérleti terület.....	108
M5. A felhasznált táptalajok összetétele.....	110
M6A. A MikroRespirációs TM méréshez alkalmazott szubsztrátok elhelyezkedése a deepwell pléten.....	111
M6B. A MikroRespirációs TM méréshez alkalmazott szubsztrátok elhelyezkedése a detektor pléten.....	112
M7A. Az eltérő talajtípussal és gazdálkodási móddal rendelkező főbb talaj fizikai-, kémiai- és mikrobiológiai paraméterek jellemző értékeinek a páronkénti kapcsolata (Pearson-féle korrelációs együtthatók) ősszel	113
M7B. Az eltérő talajtípussal és gazdálkodási móddal rendelkező főbb talaj fizikai-, kémiai- és mikrobiológiai paraméterek jellemző értékeinek a páronkénti kapcsolata (Pearson-féle korrelációs együtthatók) tavasszal	114
M8. Az SRD-elemzéshez a bemenő adatok (az egyes rázató berendezések, a rázatósi időtartamok és a talajtípus található, a sorokban az izolált nukleinsavak mennyiségi és minőségi mutatói) mátrixa négyzetgyökös transzformációt, normalizációt követően	115
M9. A talajbaktériumok univerzális és α -proteobaktériumokra specifikus nested-PCR-termékeinek gélképe	116
M10. A talajbaktériumok nifH génes PCR-termékeinek gélképe	117

AZ ÉRTEKEZÉSBEN HASZNÁLT JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

- AMF (arbuscular mycorrhizal fungi) – arbuskuláris mikorrhiza gomba
- ANOVA (analysis of variance) – egytényezős varianciaanalízis
- AO – agyag talaj, organikus gazdálkodás mód
- ATP – adenzin-trifoszfát
- AVK – agyagos vályog talaj, konvencionális gazdálkodás mód
- BRESP (basal respiration) - alaprespiráció
- bp - bázispár
- C - citozin
- C:N arány - szén-nitrogén arány; mutató, amivel a szervesanyag bomlási képességét jellemzik
- CFU (colony forming unit) - telepképző egység
- CLPP (community level physiological profiles) – közösségi szintű fiziológiai mintázat
- DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) - denaturáló grádiens gélelektroforézis
- DNS – deoxiribonukleinsav
- E - evenness index
- EC (electrical conductivity) – vezetőképesség
- EtBr - etídium bromid
- FDA (fluorescein diacetate hydrolysis) - fluoreszcens diacetát hidrolízis
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) – Egyesült Nemzetek Szervezetének Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Szervezete
- G - guanin
- GC (Gas Chromatography) - gázkromatográfia
- H' Shannon-Wiener diversity index - diverzitás index
- HK - homoktalaj konvencionális gazdálkodás mód
- IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) – Ökológiai Gazdálkodási Mozgalmak Nemzetközi Szövetsége
- kb - 1000 bázispár
- MDS (minimum data set) – ún. csökkentett változókészlet
- Med – medián
- MicroRespTM - Mikrorespirációs módszer

nifH gén - szimbiotikus nitrogénkötésben szerepet játszó gén

OTU (operational taxonomic unit) - operatív taxonómiai egység

PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) - növényi növekedést serkentő rhizobaktériumok

PCR (polymerase chain reaction) polimeráz láncreakció

R-richness index

rRNS - riboszomális ribonukleinsav

sp - faj

spp - fajok

SIR (substrate induced respiration) - szubsztrát indukált respiráció

SRD (sum of ranking difference) - rangszám-különbségek összege

UV - ultraibolya

VHO – vályogos homoktalaj, organikus gazdálkodás mód

VK – vályog talaj, konvencioális gazdálkodás mód

VO – vályog talaj, organikus gazdálkodás mód

1. BEVEZETÉS

1.1. A téma aktualitása, jelentősége

A talajmikroba-közösség kulcsfontosságú szerepet játszik az agrárökoszisztémák szolgálatában, melyek működőképessége meghatározza az egészséges élelmiszertermelés minőségi- és mennyiségi paramétereit (WILLIAMSON et al. 2011, van LEEUWEN et al. 2017). Az agrárökoszisztémák kialakításánál nagyon fontos tényező a megfelelő, területspecifikus gazdálkodási mód kiválasztása, mely hozzájárul a talajok egészségének és a talajtermékenységnek a fenntartásához (PETRIC et al. 2011).

A konvencionális gazdálkodás a produktivitásra és a mennyiségre, míg az organikus művelésmód a megtermelt élelmiszerek minőségének biztosítására törekszik.

Az irodalmi adatok bizonyítják, hogy az organikus gazdálkodási módok pozitív hatással vannak a talaj minőségére és termékenységére (pl.: talajtápanyagok feltáródása, endemikus-szimbiotikus talajmikroba-populációk diverzitása, enzimaktivitás), ezért napjainkban egyre nagyobb figyelmet kapnak, mint fenntartható mezőgazdasági rendszerek.

Hazánkban az utóbbi években egyre dinamikusabban nő az ökológiai művelés alá vont területek száma – azonban mind termőterület, mind pedig termelői arány tekintetében eltörpül a konvencionális művelés mellett –, ezért indokolt az ehhez kapcsolódó tudományos kutatási háttér biztosítása, kutatási eredményekre alapozott gyakorlat kialakítása (REEVE et al. 2016, GAZDAG et al. 2018).

A talajminőség és talajegészség meghatározására nincsenek standard módszerek. A talajmikroorganizmusok biomaszája, genetikai diverzitása, aktivitása és ezek talajtermékenységre gyakorolt hatása, valamint a stresszfaktorokra adott válaszok fontos tulajdonságok a talajminőség értékelése során.

Hazánkban alapvetően hiányoznak az eltérő talajtípusok és művelésmódok bevonásával végzett összehasonlító komplex mikrobiológiai vizsgálatok. A rendelkezésre álló szakirodalom többsége csak egy-egy talajra vonatkozóan mutatja be a különböző kezelések hatását, vagy több talajtípust hasonlít össze, de csak egy-egy mikrobiológiai jellemző figyelembevételével. A talajmikrobiológiai és talajfizikai, -kémiai paraméterek monitoring rendszerben való alkalmazásában az eredmények értelmezéséhez egy jól kalibrált referenciabázisra lenne szükség (SZILI-KOVÁCS et al. 2009).

A talajbiológiai indikátorváltozók kiválasztása kulcsfontosságú, ugyanakkor kritikus pontja a talajminőség értékelésének, mert a vizsgált talaj tulajdonságai, illetve a vizsgálni kívánt mikrobiológiai és molekuláris célok nagyban befolyásolják azt (NORTCLIFF 2002). Elterjedt az ún. csökkentett változókészlet (minimum data set (MDS)) (SZILI-KOVÁCS et al. 2011) alkalmazása a talajminőség kiértékelésében (SHUKLA et al. 2006, CHUN-JUAN et al. 2013).

Kutatásomban komplex módon, organikus és konvencionális gazdálkodási módból származó három talajtípuson egy kibővített MDS (extended minimum data set) megközelítéssel átfogó elemzést végeztem el a talajmikroba-közösségeken a klasszikus státusz- (főbb talajfizikai- és kémiai paraméterek) és funkcionális vizsgálatok alapján (genetikai- és funkcionális diverzitás, enzimaktivitás, respiráció).

A Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont Talajtani és Agrokémiai Intézet (MTA ATK TAKI) Talajbiológiai Osztály munkatársai megalapozó kutatásokat végeztek (KÖDÖBÖCZ et al. 2007, SZILI-KOVÁCS et al. 2011, KÖDÖBÖCZ et al. 2012) a talaj-növény-mikroba komplex interakciójának vizsgálatában státusz- és klasszikus mikrobiológiai módszerekkel. Doktori témám ehhez szorosan kapcsolódik, hiszen molekuláris

technikákkal kiegészülve komplexebb képet kapunk a biotikus- és az antropogén tényezőknek a talaj mikroorganizmus-közösségeinek összetételére és funkcionalitására gyakorolt hatásairól.

A talajbaktérium-populációk az egészséges élelmiszertermelésben is hosszútávú hatásokkal bírnak, ezért kulcsfontosságú az eltérő gazdálkodási módokkal összefüggő (SCHLOTER 2003, GARBISU et al. 2011, GAZDAG et al. 2019b) szakterületnek a kutatása.

1.2. Célkitűzés

A jelen doktori értekezés célja a talajbaktérium-közösségek multikritériumos komplex vizsgálata egy kibővített, ún. extended minimum data set megközelítéssel a klasszikus státusz (talajfizikai és -kémiai) és funkcionális vizsgálatok (mikrobiológiai- és molekuláris vizsgálatok) segítségével.

A kutatás során az eltérő textúrával rendelkező talajtípusokat és gazdálkodási módokat (Karcag: agyagtalaj (organikus), agyagos-vályogtalaj (konvencionális), Martonvásár: vályogtalaj (organikus), vályogtalaj (konvencionális), Nyíregyháza: homokos-vályogtalaj (organikus), homoktalaj (konvencionális) vizsgáltam, hogy milyen változást idéznek elő a talajbaktérium-közösségek diverzitásában, azok egymáshoz viszonyított arányában és a talajbaktérium-közösség összetételében.

A doktori kutatás fő célkitűzéseire alkalmazott multikritériumos elemzés a következő összetevőkből épül fel:

1. A kísérleti területek talajainak jellemzése főbb talajfizikai és -kémiai tulajdonságok alapján
 - fizikai talajféleség
 - EC, pH_{H₂O}, nitrogénformák, humusz- és széntartalom
 - AL-oldható tápelemtartalmak, főbb mezo- és mikroelem tartalmak
2. A kísérleti területek talajainak funkcionális vizsgálatai
 - Fluoreszcein-diacetát hidrolitikus-aktivitás (FDA)
 - Alaprespiráció (BRESP)
 - Mikrobiális biomassza (SIR)
 - Közösségi szintű fiziológiai mintázatelemzés (CLPP: MicroResp™)
 - Kitenyészthető mikrobaszámok (CFU)
3. A kísérleti területek talajainak molekuláris genetikai vizsgálatai
 - talajból történő baktérium DNS-izolálás módszertani fejlesztése
 - PCR, nested-PCR optimalizációja
 - DGGE optimalizációja
 - szekvenálás
4. Az elemzésbe vont fenti teljesítmény jellemzők több szempontot egyszerre figyelembe vevő, multikritériumos komplex értékelése
 - egytényezős varianciaanalízis (ANOVA)
 - Pearson-korreláció
 - rangsor-korreláció (SRD)

A jelen doktori értekezés gyakorlati célja, hogy a fenti multikritériumos elemzéssel a mennyiségi és minőségi információn túl egy átfogó elemzést kívánok nyújtani a talajmikroba-közösségek rizoszférában betöltött funkcióiról, teljesítménymutatóiról, az adott gazdálkodási mód fenntarthatóságáról. Ezen eredmények további vizsgálatok alapjait képezhetik. Segítséget nyújthatnak monitoring rendszerek számára indikátorok kiválasztásának tekintetében, melyek – műveléshatás alapján – talajok elkülönítésére alkalmasak.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A termőtalaj jelentősége és funkciói

A talaj a földkéreg felső szilárd burkán képződött többfázisú polidiszperz rendszer, ami kőzetek fizikai-kémiai bomlása és a mikrobák tevékenységének eredményeként a növények részére vizet, levegőt, tápanyagokat és mechanikai támasztást nyújtó feltételeken megújuló/megújítható természeti erőforrás, jelentős funkciója még a termékenység is (STEFANOVITS et al. 1999, RADICS 2018). A Talajok Nemzetközi Évtizedének (2015-2024) kiemelt célja felhívni a figyelmet a talajok jelentőségére (VOGEL et al. 2018).

A talaj a biológiai produkció alapvető közege, a saját fizikai-kémiai és biológiai paraméterein keresztül változó mértékben felelős a minőségi élelmiszer előállítás mennyiségi követelményeiért (BIRÓ et al. 2010). Hazánk területének ~79 %-a termőterület (~7,4 millió hektár), ennek jelentős része, ~5,3 millió hektár van mezőgazdasági művelés alatt (TEMESVÁRI 2019). Magyarország talajaink és termékenységüknek a megőrzése fontos gazdasági kérdés (DEMETER et al. 2018). Ezt szabályozza az 1995. évi LIII. törvény a környezet védelmének általános szabályairól és a 2007. évi CXXIX. törvény a termőföld védelméről. Ez a törvény a termőföld hasznosításával, a talajvédelemmel, a földvédelemmel és a földminősítéssel foglalkozik. Hazánk talajkészlete a nemzeti vagyon része, ezért nagy hangsúlyt kell fektetni a degradációs folyamatok (szél- és vízerózió, a talaj szervesanyagának megőrzése, a talajtömörödés megszüntetése, a talajsavanyodás és a szikesedés elleni védelem, környezetkímélő tápanyag-gazdálkodás) megelőzésére, javítására, megszüntetésére. A talajvédelmi hatóság és a földhasználó feladata a fentiek ellátása. A talajvédelmi tervek alapvető hiányossága, hogy a megalapozó vizsgálatok nem tartalmazznak kellő információt a termőföld biológiai állapotáról, azok elsősorban a talajok fizikai és kémiai tulajdonságaira összpontosítanak (KOC SIS 2018).

A Föld lakosságának létszáma folyamatosan nő, a jelenlegi 7,65 milliárd főről várhatóan 9 milliárd főre emelkedik 2050-re. Az emberiség élelmiszer ellátásának az alapfeltétele a termékeny és jó minőségű talaj biztosítása, ahol a változó környezeti tényezők mellett is viszonylag nagy termésbiztonsággal, jó beltartalmi értékű élelmiszer állítható elő (VÁRALLYAY 2004).

2.2. A termőtalaj és a talajtermékenység védelme

A talaj egy soktényezős (multifaktoriális) rendszer, ahol a termőtalaj pufferképességgel (káros anyagok kivédése), reziliens tulajdonsággal (környezeti zavaró tényezők, szennyezőanyagok káros hatásának a helyreállítási ideje) és vitalitással (talajegészség – a biológiai sokféleség, továbbá a tápanyag-szolgáltató képesség) rendelkezik. A talajminőség és a talajegészség nagyban hozzájárul a mezőgazdasági termelékenység megfelelő működéséhez (WILLIAMSON et al. 2011).

A talaj sokoldalú funkciókkal rendelkezik: biológiai erőforrások reaktora, életteret szolgáltat a talajmikrobáknak, közeget nyújt a primér biomasszatermelésnek, primer tápanyagforrása és gén rezervoárja a bioszférának, ezért is a biodiverzitás nélkülözhetetlen eleme. A talaj mikroorganizmusok nagymértékben befolyásolják a talajtermékenységet, a produktivitást, az ökológiai stabilitást és a haszonnövények optimális fejlődését. Ezért fontos talajkészleteink védelme, észszerű hasznosítása, állagának megőrzése, valamint a sokrétű funkcióképességének a fenntartása (LYNCH et al. 2004).

A talajvédelem törvényi szabályozása (*lsd.: 2.1. A termőtalaj jelentősége és funkciói c. alfejezet*) szerint a talajvédelem célja a termőföld termékenységének, minőségének megóvása,

fizikai, kémiai és biológiai romlásának megelőzése, elhárítása. A talaj védelme az állam a földhasználó és a beruházó és üzemeltető közös feladata.

Akkor megbízható egy ökológiai rendszer, hogyha adott határok közt működik és fenntartja az állapotát, működését és szolgáltatásait még a fellépő egyéb külső zavaró környezeti tényezők ellenére is (DORAN és SAFLEY, 1997, KARLEN et al. 2003, GAZDAG et al. 2019b, GARBISU et al. 2011). A fenntartható mezőgazdasági művelés szorosan összefügg a talajra kijuttatott különféle kémiai anyagok minimálisra csökkentésével. A fenntarthatóság feltételeinek megteremtéséhez szorosan kapcsolódnak az olyan talajmikroba tulajdonságok, mint a diverzitás, a funkcionalitás és a tolerancia (ALLISON et al. 2008, GARBISU et al. 2011).

A közelmúltban nagy figyelem jut a mezőgazdasági gyakorlatok és a talajbiológiai folyamatok közötti dinamikus kapcsolat megértésére, a funkcionális biológiai és ökológiai ciklusok támogatására az önfenntartható gazdálkodási rendszerek kialakítása érdekében. Intenzitásától függően a talajkezelés növelheti vagy elnyomhatja a talaj mikroorganizmusok sokféleségét és aktivitását (ATKINSON et al. 2002, SANTOYO et al. 2017).

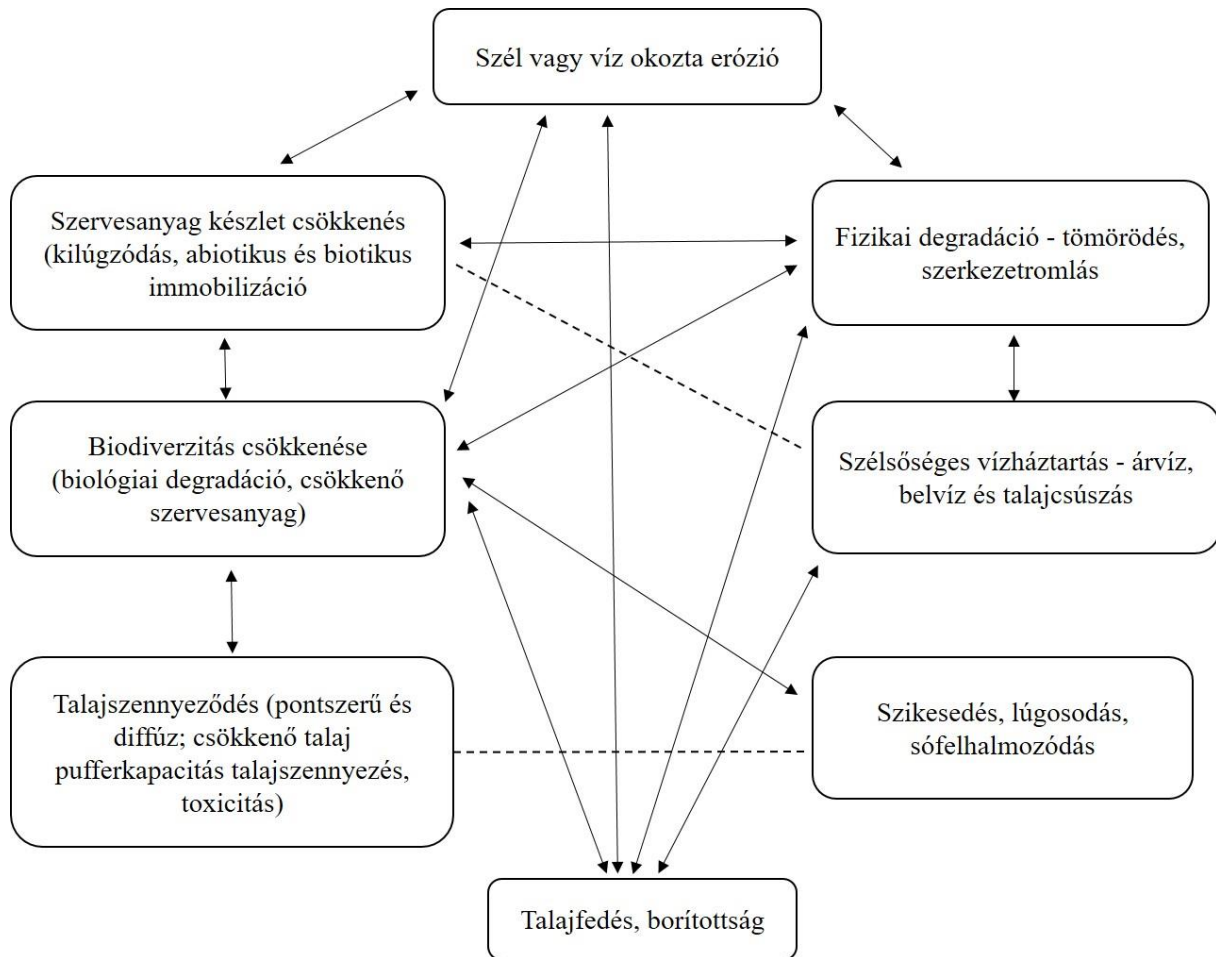
A termékenység jelentős meghatározó tényezője a talaj tápanyag-gazdálkodása: milyen minőségű és mennyi (felvehető vagy kötött állapotú) makro- és mikroelemet szolgáltat, mennyi tartalék – később felvehetővé váló – tápanyagot képes raktározni szervesanyag formájában, illetve milyen a talaj biológiai aktivitása, vízraktározó képessége, stb. A talajok fizikai tulajdonságai, szerkezetük is meghatározó a termékenységük alakulásában. Az elvégzett agrotechnikai munkálatok intenzitástól függően a talajok alaptermékenysége vetésforgóval, istállótrágyázással illetve sekély vagy középmedly szántással érhető el (STEFANOVITS et al. 1999). Az ökológiai gazdálkodási rendszerekben a talaj mikrobioták elősegítik a talaj tápanyag-feltárási folyamatokat, a szervestrágyázás pedig javítja a talaj tápelem-szolgáltatását. A konvencionális gazdálkodási mód mellett intenzív műtrágyázással rövid idő alatt jelentősen javítható a talajok tápelem-ellátottsága (ATKINSON et al. 2002, SANTOYO et al. 2017).

2.2.1. A talajromlás okai és megelőzése

A termőtalaj hazánk egyik legfontosabb természeti erőforrása, megóvására kiemelt figyelmet fordítunk. Hazánknak egyes nyugat-európai országokhoz képest a talajállapota és a talajtermékenysége jó (talaj fizikai, -kémiai és -biológiai tulajdonságok alapján), illetve csekély a kedvezőtlen talajkárosodások mértéke (pl.: talajerózió az ország 40 %-át érinti) (VÁRALLYAI, 2006).

A talajromlás vagy talajdegradáció a talaj anyagforgalmi folyamatainak a kedvezőtlen irányban történő megváltozása (talajtermékenység és a kedvező ökológiai feltételek csökkenése, kedvezőtlen változások a természeti környezetben). A talajromlás főbb tényezőit **1. ábra** mutatja. A talajromlást kiváltó okok a természetben: csapadék, talajcsúszás, olvadákok, gyenge növényzeti borítottság és taposás. Előidéző antropogén okok: helytelen agrotechnika (öntözés, nem megfelelő időben és talajállapotban végzett talajművelés, gépesítés, csökkenő talajbiológiai tevékenység), taposás (nehéz erőgépek, állati), irracionális földhasználat (vetésváltás és szerkezet, művelési ágak). A talajtermékenységet gátló tényezők: nagy homoktartalom, savanyú pH, szikesedés (GANGWAR et al. 2019), erózió. A talajtermékenységet gátló tényezők és a talajtermékenységet korlátozó degradációs folyamatok jelentős része összefügg a talaj vízháztartásával (oka vagy következménye), ezért a zavartalan talajfunkció a megfelelő anyagforgalom és vízháztartás szabályozásával érhető el.

A talajdegradáció megfelelő és észszerű mezőgazdasági műveléssel megelőzhető és mérsékelhető (RADICS 2018).



1. ábra. VÁRALLYAY nyomán, 2014

2.3. Az organikus és a konvencionális gazdálkodási mód előnyei és hátrányai

A konvencionális gazdálkodás elsősorban a produktivitás fokozására, ezzel szemben az organikus művelésmód a megtermelt élelmiszerek minőségi paramétereinek biztosítására, illetve javítására törekszik (LAZCANO et al. 2012).

Az intenzív talajművelési rendszereket a mechanizált, specializált talajhasználat, a jelentős mennyiségű trágya, növényvédőszer és takarmány használat jellemzi. Továbbá a nagyüzemi gazdálkodásra az intenzív vegyszerhasználat, a gépesítés, a hibrid vetőmagok, a monokultúra, és a mesterséges tápanyag visszapótlás jellemző (LAMMERTS et al. 2011). Így a fentiekkel az agrár-ökoszisztémák jelentős mértékben terheltek.

A világ rendelkezésre álló szervesanyag-készlete a termesztett növényeink tápanyag-igényének csak töredékét biztosítja. Élelmiszer-szükségletünk biztosítása érdekében semmiképpen sem mondhatunk le a műtrágyák használatáról. A műtrágyázás alkalmazása előtt általában a talajok gyenge P- és K-ellátottsága volt a jellemző. Számos esetben a növények nitrogén igényét még organikus gazdálkodással sem lehet teljes mértékben biztosítani, főleg az intenzív, nagy termőképességű modern fajtákét, hibridekét. Függetlenül a termelési módtól a műtrágyák iránti igény akkor keletkezik, mikor a talaj nem tudja biztosítani a termesztett növényeink tápelemigényét és elegendő szervesanyag sem áll rendelkezésre. Viszont a kívánt tápelemigény más forrásokból is pótolható – zárt anyagforgalom esetén a talaj kielégítő ellátottságú –, ezért műtrágyákra nincs szükség. A konvencionális gazdálkodási móddal a talajok tápelemkészlete jelentős mértékben növekedhet. Intenzív műtrágyázás alkalmazásával jelentősen csökkent a gyenge P- és K-ellátottságú területek részaránya. Ugyanakkor a túlzott N és P műtrágya

és szervestrágya alkalmazásával jelentős környezeti károkat is lehet okozni (pl.: Benelux államok esetében (CSATHÓ 2002)). A konvencionális gazdálkodásban arra kell törekednünk, hogy csupán a nagy termésmennyiségekhez szükséges minimális műtrágya mennyiségeket juttassuk ki, növény-specifikus tápanyagutánpótlás szükséges (CSATHÓ 2002).

Felmérések szerint, amióta bevezették a nagyüzemi mezőgazdaságot, a termésátlagok 2-3-szorosára növekedtek, ugyanakkor gyakran csökkenek a termesztett zöldségek, gyümölcsök beltartalmi mutatói (pl.: vitamin-tartalma). A magyarországi helyzet alapján a megtermelt zöldség- és gyümölcskészlet jelentősen kevesebb vitamint és esetenként kevesebb ásványi anyagot tartalmaz a korábbi állapothoz képest. Ugyanakkor, ezzel ellentétes tendenciák is megfigyelhetők (BARDÓCZ és VARGA, 2016). A nagyüzemi mezőgazdasági gyakorlat szemléletét tekintve az ökológiai fenntarthatóságot nem tartja szem előtt, míg előtérbe helyezi a gazdasági szempontokat (**1. táblázat**) (KOLUMBÁN et al. 2017). A nagyüzemi gazdálkodás egyértelmű, talajt érintő hátrányai: az erózió, a tömörödés, a humusz mennyiségi/minőségi romlása, a talajuntság és szerkezetromlás, a kedvezőtlen víz- és levegő arányok és a biodiverzitás csökkenése.

1. táblázat: Az ökológiai és a konvencionális gazdálkodási módok összehasonlítása

<i>Termelési módok értékelése</i>	<i>Termelési mód</i>	
	<i>Konvencionális</i>	<i>Ökológiai</i>
Tápanyagáramlás	nyílt	zárt
Tápanyagok formája	műtrágya	szervesanyag, ásványi anyag (természetes eredetű)
N-ellátás	szintetikus, könnyen oldódó	pillangósok, szerves anyagok, max.: 170 kg N/ha/év
Humuszgyarapítás	egyensúly vagy csökkenő	egyensúly vagy növekvő
Talajélet	csökkenő vagy növekvő	egyensúly vagy növekvő
Talajszerkezet	nem elsődleges cél a javítása	szervestrágyával, vetésforgóval javított
Vetésforgó	szűk, monokultúra, kevés növényfaj	monokultúra kizárt, több növényfaj, egymásra épülő
Fajtamegválasztás	intenzív	helyi adottságokhoz rezisztens és toleráns
Gyomok elleni védelem	herbicid, mechanikai	megelőzés, mechanikai, termikus, agrotechnikai intézkedések
Növényvédőszer használat	szintetikus készítmények	növényvédelmi indokoltság alapján
Természetes ellenségek	helyette kémiai szerek	élőhely megőrzése, jelenlétük, alkalmazásuk
Biodiverzitás	fenntartása, növelése nem cél	cél a fenntartás, növelés
Táblaméret	nagy táblák, gépi művelésre optimalizált	kisebb táblák, mozaikosság, táblaszegélyek fontossága
Termelés-szervezés	ökonómiai szempontok, specializáció	komplex rendszer, ökológiai – ökonómiai egyensúly
Termésmennyiség, -minőség	termés maximalizálás, minőség másodlagos	minőség és mennyiség egyensúlya

(KOLUMBÁN et al. 2017 nyomán, módosítva)

A konvencionális termelési gyakorlattal a legtöbb esetben szemben állnak az alternatív gazdálkodási rendszerek. Az "ökológiai gazdálkodás" kifejezés szinonimái: "biogazdálkodás", "vegyszermentes termelés", "ökogazdálkodás", az angol szakirodalomban "organic", "ecological" (RADICS 2001). A konvencionális és az ökológiai gazdálkodási mód közé sorolható az integrált gazdálkodás. Azonban a gyakorlatban a három főbb gazdálkodási mód közti átmenetek és fokozatok is alkalmazás alatt állnak, pl.: az ökológiai gazdálkodás mellett a fenntartható gazdálkodás részét képezi még egyéb művelési rendszer is (regeneratív, alternatív, környezetbarát, szerves, "low input", stb.) (KÁTAI 2011).

A 20. században az iparszerű mezőgazdaság káros környezeti hatásai illetve a természeti erőforrások korlátai miatt megkérdőjeleződött ezen művelésmódoknak a fenntarthatósága, ezért új termelési irányzatok kezdtek el kibontakozni. Az ázsiai és az észak-európai országok által létrehozott eltérő alternatív agrártermelői rendszerek eltérő, egymással kapcsolatban álló fogalmakat hoztak létre: biogazdálkodás, ökológiai gazdálkodás, biodinamikus mezőgazdaság. A biogazdálkodást először Sir Howard az "An agricultural testament" (1940) című könyvében említi meg. Ebben eltérő mezőgazdasági gyakorlatokat taglal (pl.: szervestrágya és a komposztálás használata) és többek közt az intenzív termelés okozta veszélyekre hívta fel a figyelmet (ökoszisztéma egyensúlyának felborítása, mezőgazdasági kártevők és betegségek elterjedése, talajerózió).

A biogazdálkodás megfogalmazására a világban eltérő elnevezéseket használnak: az Egyesült Királyságban a biogazdálkodást, a biológiai, ökológiai kifejezéseket pedig Amerikában és Európában alkalmazzák. Ázsiában az organikus gazdálkodás az elterjedt, Németországban pedig a biodinamikus gazdálkodás a mindennapos kifejezés erre.

A biogazdálkodás már az 1950-es évektől fejlődésnek indult a világban, amikor is a háborút követően a mezőgazdálkodás fő célkitűzése az volt, hogy az európai élelmiszer szükségletet azonnali hatállyal kielégítse. Az 1960-as években ezért a mezőgazdaságban a növényvédőszer és trágyák túlzott használata volt jellemző, melyek a környezeti problémák sorát okozta. Rachel Carson "A néma tavasz" című könyve (1962) figyelmeztetőként szolgált a zöld forradalom potenciális veszélyeire, elsősorban az USA-ban, de világszerte, így Európában is. Részben erre a munkára is épülve, a környezetvédelmet előtérbe helyezve indult útjára a biogazdálkodás mozgalma, melynek keretében szervezetek fogták össze a termelőket és a fogyasztókat, az új környezetkímélő termelési szabályokat követve. Az 1980-as években lendült fel a biogazdálkodás Európa, Ausztrália, Japán, Kanada és az Egyesült Államok országaiban, ezek szabályozását és nemzetközi elismertségét az IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) támogatta, az EU-ban pedig az Ökológiai Gazdálkodási Mozgalmak Nemzetközi Szövetsége.

A fenntartható és a multifunkcionális biogazdálkodás napjainkban az egész világon egy aktuális téma, hiszen, exponenciálisan nő a biotermékek iránti kereslet.

Az EU megfogalmazása alapján (834/2007/EK rendelet, 4. cikkely): „Az ökológiai gazdálkodás a mezőgazdasági termelés sajátos formája, amely a termelés során a helyi erőforrásokat és a természetes folyamatokat előnyben részesíti a külső erőforrásokkal és természetidegen anyagokkal szemben, ezáltal a gazdaságon belül zárt anyag- és energiaáramlás megvalósítására törekszik. Ennek megfelelően az ökológiai gazdálkodásban tilos pl. a szintetikus növényvédő szerek, műtrágyák és géntechnológiával módosított szervezetek felhasználása.”

Az ökológiai gazdálkodásra történő áttérés hazánkban egyre nagyobb ütemű, az alábbi földhasználati kategóriáknál a következő átállási időszak szükséges: gyep és szántó (2 év), ültetvény (3 év) (889/2008 EK Rendelet 36. cikkely (1) bekezdése).

Fontos az ökológiai területek védelme, mert fennállhat a növényvédő szerek, műtrágyák átsodródásának a szennyező veszélye. Különös odafigyelést igényel az egy gazdaságon belüli bio- és konvencionális művelésű területek eltérő módú fenntartása. Bevett módszer a megelőzés az árnyékoló növényzet és sövény alkalmazása, az izolációs távolság betartása.

A biogazdálkodási mód előnyei közé sorolhatóak az alábbiak: (I.) az ökológiai egyensúly könnyebben fenntartható, (II.) a biogazdaságokban nagy az élőmunka igény, ezáltal nő a foglalkoztatottság, (III.) nincsenek szermaradványok (mivel műtrágya helyett főleg szerves-, ill. zöldtrágyázást alkalmaznak (MIKÓ et al. 2014), így nem jelentkeznek a kémiai szerek negatív hatásai az biodiverzitásra és az emberi egészségre (KIM et al. 2017, KIDD et al. 2017). (IV.) a biológiai növényvédelem alkalmazása révén sincsenek szermaradványok.

A fenti gazdálkodási módnak azonban vannak hátrányai is: A biogazdálkodás fő problémája KÁDÁR (1992) és CSATHÓ (2002) szerint a talajkimerülés legfőképpen az alacsony állatsűrűségű közép-kelet európai országokra jellemző. A műtrágyákhoz képest a szerves trágyákból és a komposztból nagyobb arányban juthat a termőföldre és a talajvizekbe só, nitrát, nehézfém, stb. A műtrágya nem helyettesíthető szerves trágyákkal, mert nem áll korlátlanul a gazdálkodók rendelkezésére.

A műtrágyák és a növényvédő szerek hiányában a termések jelentős mértékben lecsökkennének. Az átlagosan 4-6 t/ha-os, ill. nagy területen 10 t/ha feletti gabonatermések helyett csak a műtrágyázás bevezetése előtti 1-1,5 t/ha termésátlagokat tudnánk elérni. A növekvő népesség élelmiszerigényét nem tudnánk biztosítani, így éhínség lépne fel.

A biogazdálkodásban engedélyezett a komposztok és a szerves trágya általában foszforban szegények. Ezért a biogazdák nyersfoszfátot alkalmaznak (Thomas salak), mely lassan feltáródó természetes ásványi trágya. A nyersfoszfátok tápanyag szolgáltató képessége függ azok fizikai és kémiai tulajdonságaitól, a talajtulajdonságoktól valamint az éghajlattól és a termesztett növényfaj tápanyagfelvételi sajátosságaitól. A savanyú pH kedvez a nyersfoszfátok feltáródásának, ezért a savanyú talajokon eredményesebben jelentkezik azok agronómiai hatékonysága. Hátrányuk, hogy nagy nehézfém szennyezettséggel bírhatnak, ezért a biogazdálkodóknak nehézségekbe ütközik semleges, meszes talajokra megfelelő foszfortrágya biztosítása (CSATHÓ et al. 2002, OSZTOICS et al. 2002). Az ökológiai gazdálkodásban az egyes kártevők és kórokozók elleni rezisztens fajták alkalmazása javallott, mivel erősen korlátozottak a növényvédelmi beavatkozások (RADICS 2001). A biogazdálkodás szántóföldi terjedését korlátozza a rendelkezésre álló szerves trágyának a mennyisége (CSATHÓ 2002).

CSATHÓ (2002) szerint a fenntarthatóság jegyében cél az organikus és a konvencionális művelési mód optimális egyensúlyára való törekvés, mindkét művelési mód előnyeit kihasználva, a hátrányok minimálisra csökkentésével.

2.3.1. Az organikus gazdálkodás elterjedtsége

Az organikus mezőgazdasági termelés növekvő tendenciát mutat az Európai Unió (EU) tagállamainak a többségénél. Az elmúlt években megfigyelhető a fogyasztói kereslet növekedése. Ösztönzően hat az ökológiai termékek piacára az agrárpolitikai reform, ami a piacorientáltságra és a minőségi termékekre teszi a hangsúlyt. Így az organikus gazdálkodásra vonatkozó jogszabályok kulcsszerepet kapnak az agrárpolitikában (RADICS 2001).

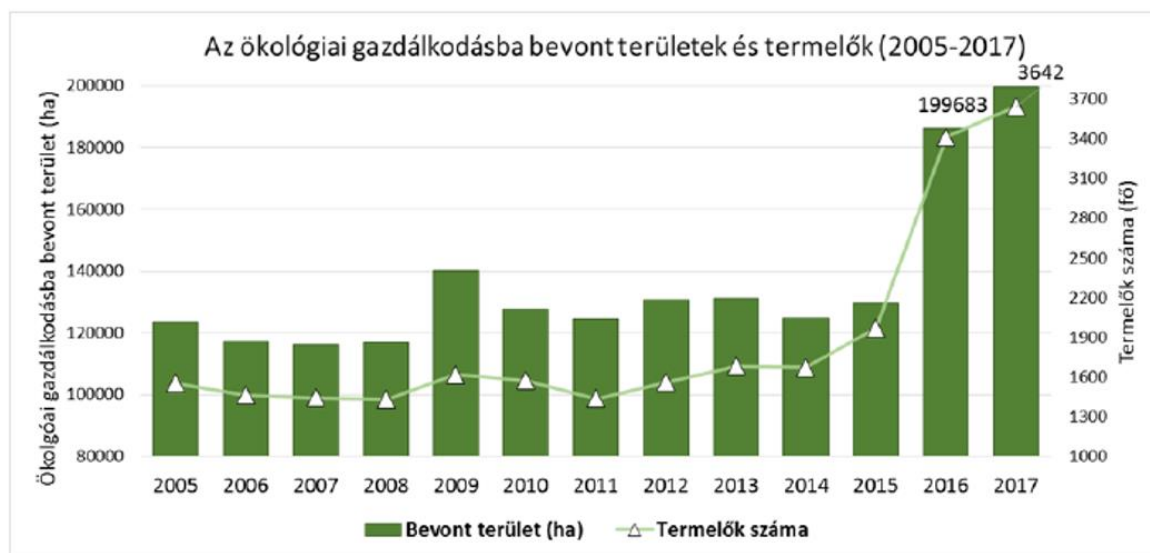
Világszinten Európa a második helyen áll a biogazdálkodásban, mivel a fogyasztók a biztonságos és a minőségi élelmiszerrel szemben egyre nagyobb igényeket támasztanak és kritikusabbak. Világszerte a biogazdálkodási mezőgazdasági területek rohamos mértékben fejlődnek, 1999-től 2013-ig a biogazdálkodásba bevont terület 11-ről 43,1 millió hektárra nőtt.

Az ágazati változásokat, az egyes országok biogazdálkodásának adatait az IFOAM és a svájci Biogazdálkodási Kutató Intézet (FiBL) gyűjtik és hasonlítják össze. 2000-ben 10,5 millió hektáron folyt a biogazdálkodás, 187 ezer termelővel. 2018-ban világszerte 7,8 millió hektáron 2,7 millió biogazda termelt (WILLER és LERNOUNG, 2018). A biotermelés centruma Európából a fejlődő országokba tevődött át (Ázsia, Afrika), viszont a fizetőképes fogyasztói keresletet Európa, USA, Japán és Kína szolgáltatja. A világon Óceánia (Ausztrália) térsége uralja a bioterületek közel felét (2016-ban 47 %, 27,3 millió hektár). A világ bioterületének a kétharmad része legelő hasznosítású, 18 %-án szántóföldi növényeket termesztenek (gabonafélék, hüvelyesek), 9 %-án

pedig ültetvények találhatóak. Európa bioterülete 3,5 millió hektár (a világon 33,3 %), 130 ezer termelővel (WILLER és YUSSEFI, 2000).

Hazánkban az utóbbi években egyre dinamikusabban nő az ökológiai művelés alá vont területek száma (1995-ben 8 000 hektáron, 2009-ben 147 095 hektáron), a Vidékfejlesztési Program ökológiai gazdálkodás támogatásának köszönhetően (AGÓCS et al. 2015). A magyarországi biogazdálkodás statisztikai adatgyűjtése alapján: 1998-2001 közt 3,5-szörösére nőtt a bioterületek aránya.

2004-től az EU-hoz 10 újabb állam is csatlakozott, közöttük Magyarország is. Ennek következtében 2004-től 2013-ra 6,4 millió ha-ról 11,5 millió ha-ra nőtt az EU-ban a biogazdálkodás alá vont területek aránya (RADICS 2018, FiBL-IFOAM 2015). 2004-2009 között pedig stagnált (kormányzati támogatás hiánya, szakmai szervek közti ellentétek miatt). 2007-2013 közt az UMVP forrásaihoz várt „bio boom” elmaradt. 2014-től már több támogató forrás állt a hazai biogazdálkodók rendelkezésére. 2015-2016 között jelentős 44 %-os területnövekedést lehetett tapasztalni (BOLYE és ÁCS 2016, KSH). 2015-től 40 %-kal nőtt a biotermelésbe bevont területek aránya, az áttérést segítő támogatási rendszereknek köszönhetően (Vidékfejlesztési Program Ökológiai gazdálkodás támogatás) az Agrárminisztérium Nemzeti Cselekvési Tervének köszönhetően (2014-2020) (AGÓCS et al. 2015) (**2. ábra**).



2. ábra. A magyarországi ökológiai gazdálkodásba bevont területek és a gazdálkodók aránya (2005-2017) (SZABÓ 2018)

2.3.2. Az organikus gazdálkodásra vonatkozó jogszabályok

Magyarországon 1983-ban indult el az ún. Biokultúra Mozgalom. Pár évvel később, 1987-ben megalakult a Biokultúra Egyesület, mely az 1972-ben alapított IFOAM tagja (Organics International – az ökológiai gazdálkodók mozgalmának nemzetközi szervezete). Az EU-ban 1991-től az ökológiai termesztés valamint a feldolgozás EU-s szabályozás alatt áll, ekkor került kidolgozásra a biogazdálkodásban ajánlott ún. minősítési rendszer, melynek célja a fogyasztói védelem és a termék garanciájának a biztosítása (CSATHÓ et al. 2002, RADICS 2001, RADICS 2018). Kishantosan 1992-ben létesült az Ökológiai Mintagazdaság, mely főként a zöldtrágya tápanyag utánpótlásra hívta fel a figyelmet: a betakarítást követően a zölden beforgatott növény a szervesanyag visszaforgatásával tápanyagot és energiaforrást biztosít a talaj élő szervezetének. Kifejezetten ajánlott zöldtrágya növény a facélia és mustár. Pillangósok termesztése a

vetésforgóban nem csak előveteményként, hanem kevert vetésben is ajánlott (pl.: borsó és gabona) (BOLYE és ACS, 2016).

Hazánkban az ökológiai gazdálkodást Európai Unió szabályozások határozzák meg, azokat pedig nemzeti jogszabályok egészítik ki. Magyarországon a jelenleg érvényben lévő biogazdálkodásra vonatkozó európai uniós szabályozások a következők: Az Európa Tanács 2007. június 28-i 834/2007/EK rendelete az ökológiai termelésről és az ökológiai termékek címkézéséről. A bizottság 889/2008/EK rendelete (2008. szeptember 5.) az ökológiai termelés, a címkézés és az ellenőrzés tekintetében az ökológiai termelésről. Az 834/2007/EK rendelet az ökológiai termékek címkézéséről szóló részletes végrehajtási szabályai.

Magyarországon az ökológiai gazdálkodás alapjait nemzeti jogszabály (34/2013. (V. 14.) VM rendelet) rögzíti, ami a mezőgazdasági termékek és élelmiszerek ökológiai gazdálkodási követelmények szerinti tanúsításáról, előállításáról, forgalmazásáról, jelöléséről és az ellenőrzésének az eljárás rendjéről szól. Az ökológiai gazdáknak az EU-s és a hazai jogszabályokat, előírásokat egyaránt be kell tartaniuk.

2018. 05. 30-án jelent meg az Európai Parlament és a Tanács 2018/848 számú rendelete, ami 2021-től fog életbe lépni: az általános célok kibővülnek a talajhoz kapcsolódó alapelvekkel, a faj/fajtavédelem kap hangsúlyt, stb.

2.4. A talajbaktériumok szerepe és jelentősége a mezőgazdaságban

A talaj élőlényeknek bonyolult faji összetételű életközösségét edafonnak nevezzük. A termőtalaj 1 grammjában átlagosan 100 millió baktérium, 16 millió aktinobaktérium és 100 ezer gomba található meg (HELMECZI 2005). Mindezek nélkül nem is beszélhetünk termőtalajról. A fenntartható fejlődést nehéz véghezvinni az intenzív mezőgazdasági művelési módszerek alkalmazása mellett (MADARÁSZ et al. 2018). A baktériumok az életfolyamataikhoz szükséges energiát, és a sejtiük felépítéséhez szükséges alapvető tápelemeket többek között a talaj ásványi részeiből nyerik ki. Így befolyásolják a talaj mállást, a kémhatást, redoxi-viszonyokat. A talaj legaktívabb mikrobiológiai része a rizoszféra (növényi gyökérszóna). Az ún. rizoszféra-effektus hatás során a mikrobák elszaporodnak és nő az aktivitásuk. A talaj mikroorganizmusok mennyiségét és biológiai aktivitását számos módszerrel lehet vizsgálni (RAVENSBERG 2015). A mennyiségi vizsgálatok mellett minőségi állapotfelmérésre is szükség van.

A talajbiotán belül a mikroorganizmusok tömeg alapján a legnagyobb részt teszik ki, 300 g/m² a felső talajrétegben (0-25 cm) és számuk (legnagyobb mennyiségben az aerob mikrobák) jelentősen függ az egyes talajtulajdonságoktól és az ott lejátszódó folyamatoktól (többek között pl.: hőmérséklet, kémhatás, szellőzöttség és tápelem-ellátottság) (HORNOK 2006). A mikroorganizmusok a talaj-aggregátumok környezetében élnek. A természetben fellelhető eltérő jótékony hatású mikrobák képesek fokozni a növény produktivitását és termékenységet és megvédeni a növényeket a különféle kártevőktől, betegségektől (SZABÓ 2008a,b). Ezek a mikrobák lehetővé teszik a gazdák számára, hogy fenntartható módon gazdálkodhassanak, a mikrobák által védve a talajok termékenységet és egyéb funkcióit (BIRÓ 2003, LUGTENBERG 2015).

A mikrobák jótékony hatásait nagymértékben befolyásolják azok a természeti törvényszerűségek, miszerint minden szükséges tápelemnek optimális mértékben – Liebig-féle (1840) minimumtörvény (CSATHÓ et al. 2002) - kell a rendelkezésre állniuk a növények és a mikroorganizmusok számára ahhoz, hogy a talajegészség ne sérüljön. A legkedvezőtlenebb környezeti tényező fogja meghatározni ezek összetételét. Míg a szervesanyag / cellulózbontó mikroszervezetek talaj NPK tápanyag-ellátottsági optimumai megegyeznek a termesztett növényeinkével (GULYÁS et al. 1984), addig a szimbiózis kialakulásában a talaj-növény-mikroba

interakcióban szerepet játszó mikroszervezetek (*Rhizobium*, AMF, stb.) a tápanyagban szegény közegben, a talajok – korábbi műtrágyázás nélküli – természetes termékenysége mellett (pl. természetes ökoszisztémák) fejtik ki maximális hatásukat (KÁDÁR et al. 2003, SZÉCSI et al. 1989).

2.4.1. A talajegészség kimutatása talajmikroba-indikátorok segítségével

A talaj mikrobiális közösségének elemzése során vizsgáljuk azok mennyiségi és minőségi biodiverzitását, valamint biológiai aktivitásukat, ami a talaj termékenységének az indikátoraként szolgál. A fentieket számos tényező befolyásolhatja: a baktériumsejtek mérete, a talaj aggregátumok minősége és szerkezete, a tápanyagok eloszlása/hozzáférhetősége, a populációk közötti kölcsönhatások, genom szintű változások (DAVET 2004). Az említett tényezők miatt egy vizsgálati módszer nem eredményez valós képet a talajban lezajló mikrobiális aktivitásokról. Ezért a komplexebb elemzés céljából ajánlatos többféle eljárást is elvégezni és a kimutatni kívánt paraméterekhez kiválasztani a specifikus paramétereket.

A technikai (infrastrukturális) és a módszertani területek rohamos fejlődésének köszönhetően lehetővé válik, hogy a talaj fizikai, kémiai és biológiai tulajdonságait vizsgáljuk, egy ún. minimum data set (MDS) módszer segítségével, mely egy közismert eljárás a talajok karakterizálására és minőségének kiértékelésére (ARSHAD és MARTIN, 2002, SANTOYO et al. 2017, SZILI-KOVÁCS et al. 2011).

Ehhez kulcsfontosságú a talajminőség és fenntarthatóság szempontjából releváns indikátorok kiválasztása (**2. táblázat**). A mikrobiológiai indikátorok fő feladatai: (I) jellemzik a genetikai és funkcionális biológiai sokféleséget és a közöttük lévő kapcsolatot, (II) a kiválasztott paraméterek alkalmasak a működésbeli változások monitorozására: tegyék lehetővé a különböző ökoszisztémák által az emberi beavatkozásra és globális változásokra adott válaszok előrejelzését, nyomonkövetését térben és időben, (III) az indikátorok által szolgáltatott adatok, adatbázisok lehetőséget adnak modellek felépítésére, scenáriók készítésére és a stratégiai tervezések, valamint a döntéshozatal támogatására nélkülözhetetlenek (NIELSEN és WINDING, 2002). A talajminőség értékeléshez a biológiai indikátorok alábbi csoportjait alkalmazzák: (I) aktivitási ráta és funkcionális diverzitás, (II) biomassa, (III) közösségi összetétel (RICHES et al. 2013, NIELSEN és WINDING, 2002, SCHLOTTER et al. 2003).

A talajvédelmi hatóság részére a 2007. évi CXXIX. törvény írja elő a talajok minőségi változásainak, környezeti állapotának a folyamatos monitorozását. Rögzítik a talajok minőségi állapotának az országos mérését, megfigyelését, azok értékelését, illetve az adatok nyilvántartásba vételét. Ehhez a Magyarországi Talajvédelmi Információs és Monitoring Rendszer (TIM), valamint a Környezetvédelmi Információs és Monitoring Rendszer (TIM Szakértői Bizottság, 1995) jött létre (VÁRALLYAY 1994 a, 1994 b). A TIM rendszert a Magyar Tudományos Akadémia Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, a földművelésügyért felelős minisztérium illetve a talajvédelmi hatóság szakértői bizottsága dolgozta ki. 1992-ben kezdték az első állapotfelveteleket és a talajvizsgálatokat. A talajvédelmi stratégia állami feladat, nemzeti kötelesség, hiszen a hazai talajkészletek állagmegóvása és védelme közös érdekünk. A TIM rendszerben 1236 megfigyelt pont van, ebből 865 mezőgazdasági hasznosítású területen. A TIM által vizsgált talajparamétereket 1, 3 és 6 évente határozzák meg: (I.) talajfizikai-, vízgazdálkodási jellemzők; (II.) talajkémiai jellemzők és tápanyagtartalom; (III.) talajbiológiai vizsgálatok: nedvességtartalom, CO₂-produkció mérés, cellulózbontó aktivitás, dehidrogenáz enzimaktivitás (VÁRALLYAI, 2006).

A talajok állapotfelmérésére alkalmazható kémiai-, fizikai- és biológiai vizsgálati módszereket érzékenységük, megbízhatóságuk, és ökológiai szempontú relevancia szempontok alapján számba kell venni (FILIP 2002, GIL-SOTRES et al. 2005). Az eddigi hazai kutatásokban általában egy vagy csak nagyon csekély talajmikrobiális paramétereket vizsgáltak egyszerre

(ANTON et al. 1990, SZILI-KOVÁCS és SZEGI 1992, GULYÁS és FÜLEY 1994, MÁTHÉ et al. 1994), azt is leginkább kiszárított és újrantedvesített talajmintákon, amik a korszerű talajmikrobiális ökológia módszertani előírásainak már nem tesznek eleget (SZILI-KOVÁCS et al. 2011).

Magyarországon alapvetően hiányoznak az eltérő talajtípusok és művelésmódok bevonásával végzett komplex összehasonlító vizsgálatok. A rendelkezésre álló adatok többsége csak egy-egy talajra vonatkozó kezeléshatásokat mutatja be. A talajmikrobiológiai, talajfizikai és -kémiai paraméterek monitoring rendszerben való alkalmazásában az eredmények értelmezéséhez egy jól kalibrált referencia bázisra van szükség (SZILI-KOVÁCS et al. 2009).

A talajbiológiai indikátorváltozók kiválasztása kulcsfontosságú, ugyanakkor kritikus pontja a talajminőség értékelésének. A vizsgált talaj tulajdonságai, illetve a vizsgált célok nagyban befolyásolják azt (NORTCLIFF 2002). Elterjedt az ún. csökkentett változókészlet (minimum data set (MDS)) (SZILI-KOVÁCS et al. 2011) alkalmazása a talajminőség kiértékelésében (ARSHAD és COEN 1992, DORAN és PARKIN 1994, LARSON és PIERCE 1994, SHUKLA et al. 2006, GUILIN et al. 2007).

A talajmikrobiológiai tulajdonságok között kiemelt szerepet kapnak a talajtermékenységre jelentős hatással bíró mikroba (taxonómiai) csoportok, az ún. kulcsindikátorok. Ezek közé tartoznak a N₂-fixáló baktériumok, például a pillangósokkal szimbiózisban élő *Rhizobium*ok, *Bradyrhizobium*ok vagy az egyszikűekkel együttélők (*Azospirillum* sp.), a szabadonélő nitrogénkötők (*Azotobacter* sp.) és az arbuskuláris mikorrhiza gombák (*Glomeromycota* törzs képviselői) (GAZDAG et al. 2019b). A kulcsindikátorok jellemzésére mind a molekuláris-, mind a funkcionális-, továbbá az abundancia-vizsgálatok elterjedtek. Céltól függően a kulcsindikátorok lehetnek más, növényi növekedést serkentő mikrobiota fajok (gombák és baktériumok egyaránt), mivel ezek alapvető hatással bírnak a növények tápanyagellátására és növekedésére.

Növénytáplálás szempontjából a legfontosabb makroelemek a nitrogén és a foszfor. Különösen nagy szereppel bírnak a nitrogén- és foszforanyagcserében résztvevő mikrobafajok az elsősorban a talajok természetes erőforrásaira építő ökológiai gazdálkodásban (*ltd.: 2.7. A nitrogén-, foszfor- és kálium elemkörforgalmakban szerepet játszó mikroorganizmusok mezőgazdasági jelentősége – szerepük a felvehető tápelemtartalom kialakításában című alfejezetben*). A szimbiotikus biológiai nitrogénfixáció során molekuláris dinitrogén jut a talajba (amit a nitrogénkötő prokarióták ammóniává alakítanak, mely ebben a formában már hasznosítható a növény számára), mely főleg az organikus gazdaságok számára az egyik fő tápanyagforrást biztosítja (STINNER et al. 2008). A fenntartható mezőgazdasági művelés során különösen nagy szerepük van a növényi növekedés serkentő baktériumoknak, azáltal, hogy hozzájárulnak a növény megfelelő fejlődéséhez, ezáltal az organikus gazdálkodási rendszer stabilitásához (GOSLING et al. 2006). Egyes talajmikrobák nagy gyakorlati jelentőséggel is bírnak, mivel növényvédőszeret, peszticideket, xenobiotikumokat képesek átalakítani, lebontani.

A növényi növekedést serkentő rhizobaktériumok (PGPR-Growth Promoting Rhizobacteria) (KLOPPER és SCHROTH 1981) a rhizoszférában élő rendszertanilag vegyes baktériumcsoport, mely a rizoszférában élő baktériumok 2-5 %-át teszik ki. A rhizobaktériumok a növények növekedését és vitalitását serkentik (YANG et al. 2009) direkt és indirekt módon a gyökérszövet kolonizációjával (HESZKY et al. 2005, OLDAL 2006, KARI et al. 2019). A kapcsolat előnyeit az organikus művelésmódban alkalmazzák, jelenlétük, diverzitásuk, infektivitásuk és funkcionalitásuk kutatott téma (GOSLING et al. 2006). Ebbe a csoportba szabadonélő, vagy gyökérszociált baktériumok tartoznak, amik hozzájárulnak a növény növekedéséhez vagy a stressztűrő-képességéhez. Ezekre alkalmazzák még a növényi egészségvédő (plant health promoting rhizobacteria (PHPR)), vagy gyökérgümő-serkentő (nodule promoting rhizobacteria (NPR)) baktériumok elnevezéseket is.

2. táblázat: A talajminőség mikrobiális indikációjára jelenleg használt és potenciálisan alkalmazható módszerek (SZILI-KOVÁCS et al. 2011 után, módosítva)

<i>Talajökölógiai változók</i>	<i>Mikrobiális indikátorok</i>	<i>Kidolgozott módszerek</i>
Biodiverzitás	Genetikai diverzitás Funkcionális diverzitás Lipid markerek	PCR/DGGE/TGGE/T-RFLP/NGS Biolog/MicroResp/mRNS diverzitás PLFA
Szenciklus	Talajrespiráció Metabolikus kvóciens Szervesanyag-lebontás Talaj enzimaktivitás Metánképzés Metánoxidáció	CO ₂ produkció/O ₂ fogyasztás C _{resp} /C _{biomass} „Litterbag”/ ¹³ C/ ¹⁴ C Celluláz/Szacharáz MPN/EL-PLFA/FISH/PCR CH ₄ -mérés
Nitrogén ciklus	N-mineralizáció Nitrifikáció Denitrifikáció N ₂ -fixáció: <i>Rhizobium</i> N ₂ -fixáció: <i>Cianobaktérium</i>	Aerob- és anaerob teszt NH ₄ -oxidáció/PCR Acetilén-inhibíciós teszt/PCR Tenyészedény kísérlet/PCR Nitrogenáz-aktivitás/PCR
Mikrobiális biomassza	Direkt módszerek Indirekt módszerek Mikrobiális kvóciens Gombák Gomba/baktérium arány Protozoák	Mikroszkóp/PLFA CFI/CFE/SIR/ATP C _{mic} /C _{org} Ergoszterin/PLFA PLFA MPN/MPN-PCR
Mikrobiális aktivitás	Élettani jelek Enzimek RNS-mérések	CO ₂ /O ₂ Enzimaktivitás-mérések/mRNS RT-PCR/FISH
Kulcsfajok	Mikorrhiza gombák Humán patogének Szupresszív mikrobák Nitrogénkötő baktériumok	Mikroszkópos vizsgálat/tenyészedény teszt/ PCR Szelektív táptalaj/PCR Tenyészedény teszt/PCR CFU/PCR/T-RFLP/NGS
Biológiai hozzáférés	Toxicitás vizsgálata Plazmidos baktériumok Antibiotikum rezisztens baktérium Katabolikus gének kifejeződése	Ökotoxikológiai tesztek (MICROTOX) Gélelektroforézis Szelektív növekedés teszt/PCR Szelektív növekedés teszt/mRNS

Megj.: ATP=adenozin-trifoszfát, CFU (colony forming unit)=telepképző egység, CFE (chloroform fumigation extraction)=kloroform fumigációs extrakció, CFI (chloroform fumigation incubation)=kloroform fumigációs inkubációs módszer, DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis)=denaturáló gradiens gélelektroforézis, FISH (fluorescence „in situ” hybridization)=fluoreszcens „in situ” hibridizáció, NGS (next generation sequencing)=új-generációs szekvenálás, mRNS=messenger (hírvívő) ribonukleinsav, MicroResp=Mikrorespirációs módszer, PLFA (phospholipid fatty acids analysis)=foszfolipidzsírsav-analízis, RT-PCR (reverse transcriptase polymerase chain reaction)=reverz transzkriptáz polimeráz láncreakció, SIR (substrate induced respiration)=szubsztrát-indukált respiráció, MicroResp=mikrorespirációs módszer, MPN (most probable number)=legvalószínűbb élő csíraszám, TGGE (temperature gradient gel electrophoresis)=hőmérsékletgradiens gélelektroforézis, T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism)=terminális restrikciós fragment-hossz polimorfizmus.

A PGPR csoportba tartozó nemzetségek: pl.: *Acinetobacter, Agrobacterium, Azospirillum, Azotobacter, Bacillus, Klebsiella, Paenibacillus, Pseudomonas*. A PGPR előnyei közé sorolható, hogy (I.) a tápanyagellátást javíthatják (biofertilizátorok), (II.) csökkenthetik a növénybetegségek tüneteit, a kórokozók fertőzésének mértékét (bioprotektánsok, biopeszticidok), (III.) a növekedést szabályozzák, (IV.) vitaminok termelésével pozitív élettani hatást gyakorolnak a növényre (biostimulánsok), valamint (V.) serkenthetik a xenobiotikumok lebontását (rhizomediátorok) (CHAPARRO et al. 2012, YANG et al. 2009). Ezen kívül egyes abiotikus stresszfaktorokkal (sóstressz, magas hőmérséklet, szárazság, áradás, oxidatív stressz, UV) szemben is képesek védelmet nyújtani. A nitrogénfixációban szerepet játszó egyes endoszimbionta fajok (pl.: *Rhizobium*) rendelkeznek a fent összegzett PGPR tulajdonsággal (pl.: hormon- és vitamintermelés, patogének elleni védelem, fitosziderofór-termelés, foszfát-szolubilizálás). Egyes *Rhizobium* fajok a nem pillangós növényeket is képesek lehetnek kolonizálni, (pl.: búza, kukorica).

A PGPR jelenléte függ a gazdanövénytől, mert a baktériumok alapvető szénforrásai a gyökér által kibocsátott exudátumok. A baktériumok diverzitását és biomasszáját meghatározza ezek minősége és mennyisége (növényfajtól és környezeti körülményektől függően) (CHAPARRO et al. 2012).

2.5. Az alkalmazott agrotechnikai eljárások hatása a talajtulajdonságokra (fizikai, kémiai és mikrobiológiai)

A talajképződés ütemét figyelembe véve 200-1000 év szükséges ahhoz, hogy 2,5 cm vastag feltalaj képződjön természetes körülmények között (BIRÓ 2017b, CENTERI és PATAKI 2003).

Az emberi beavatkozásnak a talaj minőségére és mennyiségére gyakorolt hatása nagyobb, mint a természetes tényezőké (idő, klíma, kőzet, domborzat és az élőlények). Ilyen közvetlen beavatkozásnak tekinthető a talajművelés (szántás, boronálás, kapálás, tárcsázás, talajlazítás, hengerezés, stb.), a talajtömörödés (főként a mezőgazdasági munkagépek nyomó hatása miatt) és a talajhasznosítás módjának a megváltoztatása.

Az ökológiai módon művelt talajok esetében az erózió mértéke csekélyebb, mint a konvencionálisan művelt területeknél, ám szabadföldi kísérleteknél nem lehet egyértelműen kimutatni a talajfizikai paraméterek közti szignifikáns különbséget. Azonban egyes talajkémiai tulajdonságok változnak az ökológiai művelésmód hatásának köszönhetően: a talajok oldható Mg- és Ca-tartalma, összes nitrogén- és szervesszén-tartalma nagyobb, míg oldható P- és K- tartalma kisebb, a hagyományos művelésmódhoz képest. Az ökológiai területekre jellemző a nagyobb mikrobiális biomassza, az intenzívebb talajlégzés. A megnövekedett enzimaktivitás és ATP-tartalom magyarázhatja azt a tényt, hogy az ökológiai művelésmódnál a talaj alacsony felvehető foszfor tartalma ellenére mérsékeltebb a foszfor hiány, mivel ezen talajok nagyobb mikrobiológiailag kötött foszforkészlettel bírnak, ezáltal nagyobb a szerves foszfor mineralizációs potenciálja is (KÁTAI 2011, ROMANIUK et al. 2011).

A talajművelés jelentős mértékben befolyásolja a talaj mikrobiológiai aktivitását is (GOSLING et al. 2006). A szántás során előidézett bolygatás felgyorsítja a baktériumok mineralizációs (aerob) és humifikációs (anaerob) tevékenységét. Hengerezés által pedig a talaj felső rétegének a tömörödése megy végbe, ami csökkenti a mikrobiális aktivitást (SZABÓ 2008a, b). Egyoldalú talajművelés esetén fennállnak a következő jelentősebb veszélyek: erózió (víz, szél), nitrát kimosódás, humusz lebomlás. Ezért cél a talaj fenntartható védelme, így a modern mezőgazdasági gyakorlatban kidolgozásra került – a természetes egyensúly fenntartása érdekében – a humusztartalmat fenntartó vetésforgó-rendszerek és a kiegyenlített tápanyag-mérlegek alkalmazása (KÁTAI, 2011). Ehhez kiváló a zöldtrágyázás (zöldtrágyanövények beszántása), ami a különféle enzimek aktiválódása révén fokozza a biológiai aktivitást (ELFSTRAND et al. 2007).

A talaj pH-értéke jelentős mértékben befolyásolja a haszonnövény fejlődéséhez nélkülözhetetlen tápanyagok felvehetőségét. A savanyúbb talajok növelik a foszfátok és a vas elemeknek a hozzáférhetőségét. A pH jelentősen befolyásolja a mikrobiák diverzitását és aktivitását is (CHAPARRO et al. 2012).

A foszfor műtrágyák az idő során a talajban megkötődnek, hatóanyag tartalmuk immobilizálódik, nagy része növénytáplálás szempontjából nem hasznosul, szennyezi a talajvizet. A talajban a szervesanyag mineralizáció hatására képződő szerves savak csökkentik a talaj pH-t a rhizoszférában, elősegítve a foszfor oldékonyságát, aminek köszönhetően növekszik a növények általi felvehetőségének az aránya (MAKÁDI 2010). A műtrágya használat mellékhatása, hogy legtöbbször savanyítja a talajt, ezáltal a talaj pH egyensúly csökkenése megy végbe (GAZDAG et al. 2019b), a talaj sav-bázis pufferkapacitása csökken, a nitrát túladagolással fennáll a nitrát kimosódás veszélye (NÉMETH 2014).

2.6. A nitrogén, foszfor és kálium elemkörforgalmakban szerepet játszó mikroorganizmusok mezőgazdasági jelentősége – szerepük a felvehető tápelemtartalom kialakításában

A talajok nyílt rendszerek, melyben állandó energia és anyagbevitel és -kiadás folyik. A talaj a benne élő mikrobák bontó és építő tevékenysége miatt a talajélet egy dinamikus körfolyamat (N, C, P, K elemek, biológiai, biokémiai, biofizikai hatások) (FÜLEKY 1999).

A talaj természetes állapotát a mezőgazdasági művelési mód általi művi beavatkozás befolyásolja, zavarja. Az agrárkutatók célja, hogy a talaj a lehető legnagyobb terméshozamot szolgáltatson az egyre növekvő népesség számára. Ezért cél a fenti folyamatok megismerése és a felismert törvényszerűségek alkalmazása a termés fokozása érdekében. A talajélet a mikrobákkal irányítható, a termékenysége kisebb mértékben fokozható (HELMECZI 2005).

A mikrobiális aktivitás szorosan összefügg a talajtermékenységgel, mert a talajban egyes elemek mineralizációja a mikrobáknak köszönhetően teljesül. A talajban lévő makro-, mezo- és mikroelemek állapota és mennyisége nagyban függ attól, hogy az adott talajkörülmények között lévő mikrobáknak milyen energiaszerző folyamatai dominálnak éppen (ANANAYEVA et al. 2007). A talajmikrobák a talaj elsődleges lebontói, hozzájárulnak a talajminőséghez, a szervesanyag lebontáshoz, biogeokémiai körforgalmakban vesznek részt, biológiai nitrogént kötnek meg, szerepük van az ammonifikációban, nitrifikációban, denitrifikációban, a vegyszerek és a növényvédő szerek lebontásában (RADICS 2018).

Mivel a talaj mikroorganizmus közösségének a táplálékát (szerves anyag forrását) a gyökér- és talómaradványok, a humusz és a gyökérváladékok teszik ki, ezáltal a rhizoszférában élő mikrobák szerepe nélkülözhetetlen. A növények számára nehezen hozzáférhető tápanyagokat alakítják át ásványi formává, így növelve a talajoldat tápelemtartalmát. A szervesanyag mineralizációjában és a nitrogén transzformációjában a talajban élő heterotróf mikroszervezeteknek (baktériumok és gombák) döntő szerepük van, de a talaj természetes termékenységétől élesen nem választható szét, azzal szorosan összefügg (kémhatás, humusztartalom, stb.). A talajban élő mikrobaközösség többsége a szénszükségletének a nagy részét a talaj szerves anyagaiból veszi fel. A talajból nyeri az életműködéséhez szükséges szervesanyagokat, azokat beépíti és időszakosan mobilizálja. Az aktív talajmikrobák kulcsszerepet töltenek be a szervesanyag-dekompozícióban és a N, P tápanyagok körforgásában, azoknak a növények számára felvehetővé tételében (GUNINA és KUZJAKOV, 2015).

A talajmikrobákat két fő csoportra oszthatjuk. Az autotrófok energiatermelők, vagyis a talajban megtalálható elemek segítségével építik fel a szervesanyagokat CO₂-ből a napfény energiája által (fotoautotróf), a kemoszintetizálók pedig kémiai vegyületekből nyerik az energiát (kemolitotróf autotróf). Ezzel szemben a heterotrófok az energiafogyasztók csoportjába tartoznak, szervesanyagot használnak energiaforrásként és testük felépítéséhez is (SZABÓ 2008b). A heterotróf mikrobákra jellemző a szervesanyag mineralizációja, a nitrogén transzformációja, melynek iránya és intenzitása összefügg a talaj természetes tevékenységével (pl.: kötöttség, pH, humusztartalom), a környezeti tényezők hatásaival (pl.: talajnedvesség-tartalom, hőmérséklet) és az alkalmazott agrotechnikai eljárásoktól.

A talajban levő összes káliumtartalom megközelítőleg 0,2-3,3 %. Természetes körülmények közt az agyagos vályog – agyagtalajok biztosítják termesztett növényeink káliumszükségletét. A kőzetekben, K-földpátokban, ill. az elsődleges és másodlagos agyagásványokban sok kálium található, így azokból felszabadulhat. A mikrobák által megkötött kálium mintegy 25-50 kg/ha, ami a mikrobák 3000 kg/ha biomaszátömegében kötődik meg. A mikrobák aktív részesei a kálium mineralizáció-immobilizációs folyamatának is. Sejtjeikbe az immobilizáció során az elbomló szervesanyagokból képesek beépíteni a káliumot, ezen kívül még képesek arra, hogy humusból káliumot vegyenek fel. A mikrobák degradációja során sejtjeikből a felszabaduló kálium a talajoldatba jut, ezáltal a növények számára ismét felvehetővé válik. A makroelemeken kívül a mikrobiális aktivitásnak meghatározó szerepe van még a vas-, kén-, kalcium-, magnézium, mangán-forgalmában is (STEFANOVITS et al. 1999, SZABÓ 2008a).

A talaj foszforkészletének jelentős hányada szerves vegyületekben (pl.: nukleoproteidok) és vízoldhatatlan Fe- és Ca-foszfát formában van jelen. Ezeket a szerves foszforvegyületeket enzimes úton a talaj mikrobái bontják, (a hidrolízis során foszforsav keletkezik) saját szervesanyagaikba építik be, immobilizálják, majd mobilizálják azt a szerves maradványok bontásával, ezáltal a foszfort növények számára felvehető formába alakítják (FÜLEKY 1999, STEFANOVITS et al. 1999). A talajban élő foszfát-szolubilizáló baktériumok (phosphate-solubilizing bacteria (PSB)), a talajban található oldhatatlan szerves (kalcium-foszfát, apatit) és szerves (pl.: fitát) foszforformákat alakítanak át inorganikus foszfáttá (Pi), ami már a növények számára felvehető (pl.: *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Erwinia* fajok). A szerves foszfátokat pedig a szerves savak (pl.: ecetsav, glükonsav, oxálsav, tejsav, valeriánsav, stb.) vagy H^+ szekréciója révén képesek feloldani (KHAN et al. 2009).

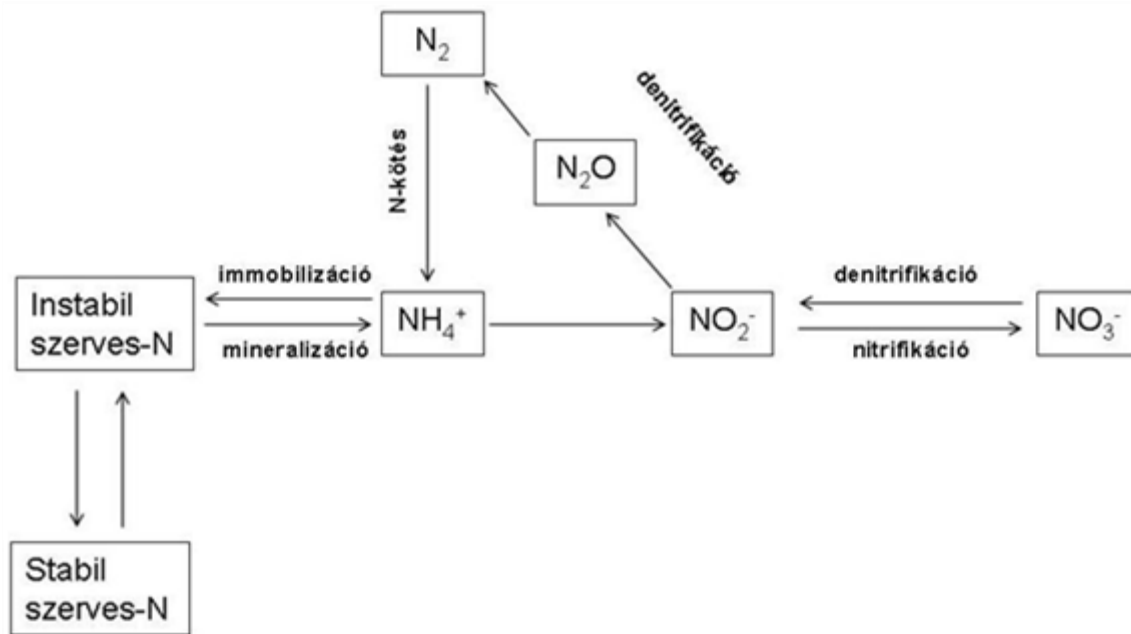
2.6.1. A szimbiotikus nitrogénkötés ökológiai és gazdasági jelentősége

A biogeokémiai ciklusok közül a nitrogénkörforgalom az egyik legfontosabb (**3. ábra**), ahol évente körülbelül a teresztrikus ökoszisztémákban $1,4 \times 10^{11}$ kg a nitrogén biológiai fixációja (BORSODI 2013). A természetben a nitrogén különböző oxidációs állapotú vegyületekben van jelen, amiket az élőlények által végzett átalakítási folyamatok kapcsolják össze. Ezek jelentős hányadát a baktériumok végzik el (BORSODI 2018).

A zöld forradalommal, a hozam maximalizálással együtt járt a megnövelt műtrágya alkalmazása. A nitrogén műtrágyák befolyásolják a nitrogénciklus egyensúlyát, szennyezve a talajvizet és növelve a légköri üvegházgáz mennyiségét, hozzájárulva a globális felmelegedéshez. Ezzel szemben a biológiai nitrogénkötés (BNF) megújuló és fenntartható nitrogénforrás, mellyel a N műtrágyák egy része kiváltható. A BNF eredményeként megkötött N kevésbé hajlamos a denitrifikációra és a kimosódásra. A biológiai nitrogénkötésre prokarióta szervezetek képesek, melyek szabadon élve, asszociatív vagy endoszimbiotikus formában végzik. Ezek a típusú nitrogénkötések több tízmillió évvel ezelőtt alakultak ki (GARG 2007, WANG et al. 2012, GAZDAG et al. 2015).

A természetben a nitrogén megtalálható a légkörben, valamint stabil és szerves nitrogénként. A levegőben levő nitrogén (N_2) stabil, semleges, csak nagy energia mennyiséggel és nehezen alakítható át. A nitrogénciklus során az elemi nitrogén jelentős részben – élő szervezetek által – ammónia formájában fixálódik, ami beépül a szerves vegyületekbe, vagy nitrifikálódik. A nitrogéntartalmú szervesanyagok bomlásából ammónia keletkezik, ami oxigén jelenlétében nitrifikáló baktériumok segítségével szintén nitríté (*Nitrosomonas*) és nitráttá (*Nitrobakter*) oxidálódik.

A nitrogén természetes körforgalma részeként a légköri molekuláris nitrogén (78 V/V %) a villámok hatására oxidálódik, ami a talajba kerül az esővízzel együtt. Az atmoszférában villámlás során keletkeznek N-oxid-vegyületek (elektromos kisülések). Nitrogénkötés történhet még ipari úton (Haber Bosch) és biológiai úton (mikrobiológiai nitrogénkötéssel) (KÁTAI 2011).



3. ábra: Nitrogénkörforgás (KÁTAI 2011).

A szimbióta nitrogénkötő-baktériumok a mezőgazdasági mikrobiológia leginkább kutatott csoportját alkotják. A *Rhizobium*ok egyedszáma függ az ökológiai viszonyoktól és a talajtípustól. Jó termőképességű talajban búza vetemény után 1-10 *Rhizobium* sejt/gramm talaj található, míg pillangós vetemény mellett 10^7 *Rhizobium* sejt/gramm talaj az általános (HESZKY et al. 2005). A szimbiotikus nitrogénkötő-baktériumok mezőgazdasági szempontból fontosak, jelentős szerepük van a tápanyag körforgásában, mivel az összes biológiai úton történő nitrogénkötés felét a *Rhizobium*ok végzik. Pozitívan hatnak a pillangós növények fejlődésére, életképességére, a fenntartható mezőgazdaság kialakításának alappillérei.

A nemzetközi környezetvédelmi igények miatt egyre nagyobb számban kerültek előtérbe a megújuló források, emiatt a biológiai nitrogénkötés fontos nitrogénforrás lehet az ökológiai mezőgazdaságban. Így a műtrágyázással szemben nem szennyeződnek a vízkészletek és nem jelentkezik az élővizek eutrofizációja sem (PÁLVÖLGYI 2009). A hüvelyes haszonnövényeket előszeretettel használják a fenntartható mezőgazdaságban, hogy természetes úton gazdagítsa a talaj nitrogéntartalmát (OLDROYD 2007).

A növények túléléséhez elengedhetetlen az ásványi anyagokhoz való hozzájutás. Számos növényfaj áthidalja ezeket a tápanyag korlátozásokat a mikroorganizmusok szimbiotikus interakciójával. A szimbiotikus nitrogénkötés során a nitrogénkötő prokarióták a molekuláris dinitrogént ammóniává alakítják át, a nitrogén ebben a formában már hasznosítható a növény számára (OLDROYD és DOWNIE 2008).

A pillangósnövények megközelítőleg 90 %-a képes szimbiózist kialakítani a baktériumok egy nem monofiletikus (közös őssel nem rendelkező) csoportjával. Biológiai nitrogénfixációra képesek alábbi szabadonélő mikroorganizmus nemzetségekhez tartozó fajok: *Clostridium*, *Azotobacter*, *Rhodospirillum*, *Beijerinckia*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Chromatium*, egyes prokarióták asszociatív szimbiotikus kapcsolatban (pl.: *Nostoc*- és *Anabena*-fajok), és endoszimbiotikus kapcsolatban (pl.: hüvelyes növényekkel együttélésben: α -proteobacteria, *Rhizobiales*, *Rhizobiaceae*, *Rhizobium*-, *Sinorhizobium*-, *Bradyrhizobium*-, *Azorhizobium*- és *Mesorhizobium*-fajok). Utóbbi csoport mezőgazdaságban betöltött szerepe igen jelentős, hiszen a BNF 80 %-át termeli. Ehhez képest a gümőképző fajok egy töredék része a β -proteobaktériumokhoz tartozik (pl.: *Burkholderia*) (PARÁDI et al. 2013, TALIA et al. 2012)

A pillangósok gyakorisága és fajgazdagsága miatt ez az egyik leghangsúlyosabb növény-mikroba szimbiózis, mivel a biológiai N-fixáció alapjaiban befolyásolja az ökoszisztéma N-

egyenlegét. A szimbiózis során speciális gyökérgümők (noduluszok) képződnek a gazdanövény gyökerén, ahol a szimbionta baktériumok, ún. bakteroidok élnek (PARÁDI et al. 2013).

A hüvelyes növények biztosítják a zöldségekből származó fehérjék legnagyobb forrását a humán ételmezésben és az állati takarmányozásban. Világszerte 250 millió ha területen termesztik a hüvelyes növényeket (GARG 2007). 1 hektár szója vagy borsó gümős gyökérmaradványa megközelítőleg 40-60 kg szervesen kötött nitrogént képes biztosítani a következő vetemény haszonnövényei számára (KÁTAI 2011).

A gyökérgümő képződése során növényi és bakteriális gének expresszálódnak. A *nif*- és a *fix*-gének irányítják a nitrogénkötést, a *nif*-gének megtalálhatók a szabadonélő nitrogénkötő baktériumokban is (*Azotobacter*). A nitrogenáz enzimkomplexen vastartalmú dinitrogenáz-reduktáz (Fe-protein) *nifH* gént képes kódolni (HESZKY et al. 2005). A *nifH*-gén (~500 bp) biomarkert PCR és T-RFLP technikákkal mutatják ki környezeti mintákból. Vízből és talajból való kimutatása is ismert (MAO et al. 2011, RÖSCH et al. 2002).

A pillangós növény nitrogén anyagcseréje már nem függ a talaj nitrogéntartalmától, míg cserébe a baktérium a növény fotoszintéziséből különböző szénvegyületekhez (cukrok, szerves savak) jut. A szimbiózis kialakulása bonyolult folyamat. A két szimbionta partner tér és időbeni összehangolt és szabályozott működésével jön létre. A szimbiotikus nitrogénkötés nagy energiát és ATP-t igénylő oxigén-érzékeny folyamat, melynek szabályozása több szinten megy végbe (OLDROYD 2007). A *Rhizobium* a gazdanövénye hiányában is képes éveig túlélni a talajban (DOWNIE 2010).

A biológiai nitrogénkötés aránya jelentős mértékben eltér attól függően, hogy aerob/anaerob, szabadon vagy növénykapcsolatban élő szervezetekről van e szó. Hiszen a szabadon élők évi 2-6 kg/ha N₂, az asszociatív szimbionták évi 50-60 kg/ha N₂, az obligát szimbionták pedig évi 200-300 kg/ha N₂ fixálását végzik el (SZABÓ 2008a).

A gazdálkodók a mikrobák ezen hasznos tulajdonságára építenek mikor zöldtrágyázást végeznek. A virágzó zöldtrágyanövényt a legintenzívebb N₂-kötés fázisában szántják be, amivel a soron következő haszonnövényeknek potenciális nitrogénmennyiséget szolgáltatnak. A szabadon élő, biológiai úton nitrogénkötésre képes mikrobáknak jelentősen megnő az aktivitása magas széntartalom, alacsony nitrogén és pH=6,5 felett (BIRÓ 2005).

2.6.2. Az α -proteobaktériumok taxonómiai jellemzése

Az általam vizsgált nitrogénkörforgalomban szerepet játszó kulcsindikátorok az α -proteobaktériumok csoportjába tartoznak.

A leírt baktérium-nemzetségek száma megközelítőleg 1000, ám ez a szám a fajok esetében jelentősen nagyobb, 5500 feletti. A nemzetségek 90 %-a (*Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Flavobacteria*) a négy legnagyobb törzset teszik ki. Ezen belül a baktériumok legnagyobb filogenetikai ága a *Proteobacteria*, melyhez megközelítőleg 460 nemzetség és 2100 faj sorolható (GARRITY et al. 2015, KERSTERS et al. 2006). A proteobaktériumok 5 fő osztályba sorolhatók: α -; β -; γ -; δ -; ϵ -proteobaktériumok. Közös jellemzőjük: Gram-negatívak, sokféle morfológiájúak (pálca, kokkus, görbült, csavaros, fonalas, függelékes, sarjadzó, nyeles). Élettani tulajdonságokkal (anyagcseréjüket tekintve lehetnek fototrófok, kemolitotrófok, kemoorganotrófok valamint obligát vagy fakultatív módon lehetnek aerobok vagy anaerobok) bírnak, továbbá iparágakban is hasznosítják őket (orvosi- és mezőgazdasági), innen kapták elnevezésüket. 1988-ban Stackebrandt és munkatársai az ókori görög mitológia egyik alakváltó istenéről, Proteus-ról, a baktériumok fenotípusosan legszerteágazóbb filogenetikai csoportját "proteobaktérium"-nak nevezték el. Hőmérséklet-igényük alapján találhatóak köztük termofilok, mezofilok és pszichofilok, halofilek, szabadonélő vagy szimbionta nitrogénkötők, valamint állati és növényi patogének illetve obligát intracelluláris paraziták is. A *Bacteria*-doménhez tartozó leszármazási csoportoknak a többségét nem tudták mikrobiális módszerekkel tenyésztésbe vonni,

ráadásul az egyes fajok közt morfológiai és fiziológiai különbségek jelentős mértékben előfordulnak, így ezeket a mikroorganizmusokat molekuláris módszerekkel (16S rRNS gén) elemzik (DEÁK 2006).

2.7. A talajok fontosabb fizikai- és kémiai tulajdonságainak hatása a talaj mikrobiológiai folyamataira

KÁTAI (2011) szerint a jelentősebb talajfizikai jellemzők az alábbiak: a talaj színe, a szemcseméret összetétel (textúra), sűrűség és térfogatömeg, porozitás, szerkezet, vízgazdálkodás (vízkapacitás, vízáteresztő-képesség, a holtvíz és a hasznosítható víz aránya), pórustér nagysága (méret szerinti eloszlás), levegőzöttség és hőgazdálkodás.

A talaj egy összetett közeg, háromfázisú polidiszperz rendszer: 45 %-a ásványi részek, 20-30 %-a levegő, 20-30 %-a víz, kb. 5 %-a szerves anyag. Ezek aránya számos biotikus és abiotikus tényezőtől függ (pl.: talajtípus, művelési mód, éghajlat, vízellátás, stb.). A talajban előforduló ásványi anyagok két csoportba sorolhatók. A primer ásványok közül a homokszemcsék a víz és a tápanyagok megtartására kevésbé alkalmasak, míg a másodlagos ásványok közül a kisebb agyagszemcsék jellemzőek, melyek a legnagyobb felszíni felülettel rendelkeznek, ezáltal jó víz és tápanyag gazdálkodásúak (RIEDER et al. 2018).

A talajfizikai paraméterek jelentős mértékben befolyásolják a talajban lejátszódó kémiai és biológiai folyamatokat (pl.: adszorpciós jelenségek, oxidációs–redukciós folyamatok, anyagtranszport, biológiai aktivitás és tápanyagforgalom) és ezeken keresztül pedig a talajtermékenységét (RIEDER et al. 2018).

A talaj textúrája jelentős mértékben befolyásolja a talaj fizikai tulajdonságait, ezáltal a vízháztartást. A talaj textúra a különböző méretű szemcsék aránya, a talajban csoportokat alkot: homok, iszap, agyag. A talajstruktúra a homok, agyag és iszap szemcsék aggregátumokká való rendeződését jelenti – utóbbi kialakulását (aggregátumok) befolyásoló fizikai tényezők közé tehetők az alábbi hatások: duzzadás-zsugorodás, átfagyás és olvadás, a gyökérszövet nyomásából és a vízfelvételeből eredő eltérések, illetve az agrotechnikai eljárások hatásai –, ezek közti rész a pórus, ahol a levegő és a víz található. A levegő a talaj térfogatának megközelítőleg 2-50 %-át teszi ki (STEFANOVITS et al. 1999).

Számos tápanyag felvehetőségét befolyásolja a talaj levegőzöttsége. A talajban található oxigén alapvető fontosságú a mikrobák és a gyökerek légzéséhez, ezáltal elősegítve a növények fejlődését (STEFANOVITS et al. 1999).

A talaj víztartalma a talaj szerkezetétől függ és szükséges a biológiai és a kémiai lebontáshoz. Az agyagos talaj rendelkezik a legnagyobb vízmegtartó képességgel, míg a homoké a legkisebb, viszont a vályogtalaj bizonyul köztük a legjobbnak, mert az a vizet és a tápanyagokat is hatékonyabban képes tárolni a homok és az agyag talajokhoz képest, mivel kombinálja a jó vízmegtartó képességű iszapos szemcséket a jó levegőzöttségű homoktalaj tulajdonságával.

A kémiai tulajdonságokat főként a vízben oldható sók (mennyisége és minősége), a kolloidkémiai reakciók, a kémhatás valamint a redoxifeltételek alakítják ki. A fenti folyamatok összessége befolyásolja a talaj szerkezetét, talajvízzel szembeni válaszát, a talajba került tápanyagok, szennyező anyagok további funkcióit (STEFANOVITS et al. 1999).

A talaj szerves anyaga – köztük a humusz (stabil, tovább nem bomló szerves anyag; főként nitrogént, foszfort és kén tárol, tápanyagokat és élőhelyet biztosít a talajmikrobák számára) –élettelen organizmus, egyéb növényi anyag, illetve a bomlás eltérő állapotában levő szervesanyagok összessége (RADICS, 2018). A növényi hajszálgyökerek, valamint az élő, a szerves anyagok és a humusz lehetővé teszik a talaj mikrobiológiai funkcióinak a betöltését. A humusz alkotja a talaj összes szervesanyagának a 85 %-át, míg a növényi gyökerek a 10 %-át, illetve a talajflóra és -fauna az 5 %-át. A humusz befolyásolja a talajok minőségét, egészségi állapotát valamint működőképességét, javul a talajok vízháztartása és levegőzöttebbé válnak a

pórusterek. A humusztól függ a talajok színe, egyéb fizikai-kémiai tulajdonsága és a talajélet megnyilvánulása is. A humusztartalomhoz kapcsolódó humifikációs folyamatoknak a felerősödése javítja a talajok tápanyag-, víz- és hőgazdálkodását, pufferoló-képességét valamint csökkenti a légköri CO₂ mennyiséget.

A talajban lévő szervesanyag folyamatosan ki van téve lebontó és felépítő folyamatoknak. Hiányos szervesanyag utánpótlás esetében fennáll az a veszély, hogy a talaj humusztartalma csökken (1,5-2,5 %, talajtípus függő), ezáltal nagymértékű visszaesés tapasztalható a talajtermékenységben és termelőképeségben. A talajművelés hatására bekövetkező humuszvesztéséget, célzott humuszgazdálkodással pótolhatjuk: (I.) tarlómaradványok visszaforgatása, (II.) szerves trágya alkalmazása, (III.) vetésforgó-rendszerek.

A szerves trágyához hasonló hatással bírnak a talajban lévő visszamaradó gyökér- és tarlómaradványok is (pentoánhatás). A hatás összetett, hiszen függ azok eredetétől össze függ az azokban található tápanyagok mennyiségétől és arányától is. A gabonafélékhez képest a pillangósok gyökér- és tartómaradványai jelentősen gazdagítják a talajt, mivel nagy nitrogén tartalommal rendelkeznek és a foszfor és kálium tápelemek aránya is nagyobb bennük (FÜLEKY 1999.) A talaj használati módja nagymértékben befolyásolja a humusztartalmat. Természetes illetve ültetvény gyepterületek esetében a legkedvezőbb a humusztartalom, mely egy állandó magas szintre vált. Ezzel szemben az intenzív talajművelési módok csökkenő humusztartalmat eredményeznek (a kedvezőbb talaj levegőzöttség fokozza a humusz lebontását). Szervesanyag pótlás (műtrágyázás, szerves trágyázás) hiányában jelentős mértékben csökken a talaj humuszkészlete, mely csökkenő terméspotenciált eredményez.

CLARK et al. (1998) összes nitrogén- és humusz tartalmat vizsgáltak konvencionális és organikus művelésű területeken. Az organikus esetében (négy évvel az áttérés után) szignifikánsan nagyobb értékeket mértek a vizsgált paraméterekre, mindezeket a szerves trágyázásnak, a vetésforgónak, illetve a zöldtrágyázásnak tudták be. GOSLING et al. (2010) is hasonló eredményeket mértek az organikus javára.

A szerves anyagok a talaj ásványi anyagaival összekapcsolódva hozzák létre az ún. organo-minerális komplexeket. A talajbaktériumok segítségével a kötött, nem felvehető ásványi anyagok lassú feltáródásuk során a növényt felvehető foszforhoz, káliumhoz és egyéb tápelemekhez juttatják (BIRÓ 2017a).

Talajbiológiai vizsgálatok alapján a talajban élő mikrobák tevékenységét befolyásolja többek között a hőmérséklet (talaj legfelső, környezeti ártalmak direkt kitett, gyorsan száradó rétegében csak kevés mikroba él, ráadásul az UV sugárzás is csíráölő hatással van rájuk), a hozzáférhető vízkészlet és a természetes növényzet. A mikroba vízigénye megegyezik a magasabb rendű növényekével. 1 %-os talajnedvességben 4000-30 000, míg 5 %-osnál 100 000 mikroba él egy gramm talajban. A kiszáradást a legtöbb talajmikroba nem viseli el, viszont egyes *Rhizobium*-fajok akár 16 évig, míg az *Azotobacter chroococcum* pedig 10 évig is életképesek maradhatnak (HELMECZI 2005).

2.8. A talaj mikrobaközösség vizsgálatára felhasznált klasszikus módszerek

Az alábbiakban a doktori munkám során használt vizsgálatokat, azok elméleti hátterét, előnyeit valamint hátrányait ismertetem.

2.8.1. A talajmikrobák enzimaktivitás vizsgálata

A fluoreszcein-diacetát (3',6'-diacetyl-fluoreszcein–FDA) egy gyors és egyszerű mikroba összesaktivitás-mérés, amivel a szervesanyag-körforgalmat mérik. A módszert a fentiek mennyiségi meghatározására használják, acetil-észteráz megállapítására egysejtűekben. A legtöbb baktérium, az összes gomba, illetve néhány alga és protozoa is mutat FDA-aktivitást. Az FDA-t enzimek hidrolizálják (pl.: lipáz, proteáz, észteráz), a talajmikroorganizmusok mikrobiológiai aktivitása következtében fluoreszcein termelődik, amit spektrofotométerrel 490 nm hullámhosszon mérünk. A módszer előnye, hogy gyors, egyszerű és érzékeny módszer. A hidrolízis aktivitása az idővel és a talaj mennyiségével lineárisan növekszik. Az agyag és homoktalajokon kicsi az FDA-aktivitás. A vizsgálat hátránya, hogy hatékonyabban alkalmazható a módszer a heterotróf aktivitás meghatározására, mint a biomassza mennyiségének mérésére. Ennek oka, hogy a mért FDA-aktivitással az aktív biomassza egységesen arányos. Az eljárásához fontos a precíz előkészítés (inkubálás, pH=7,6 és megfelelő hőmérséklet (24 °C), ATP hidrolízis elkerülése) (SCHNÜRER és ROSSWALL, 1982).

2.8.2. A talajmikroba-közösségek vizsgálata respirációs módszerekkel

A talajrespirációs vizsgálatok a talajmikrobák anyagcsere diverzitását és aktivitását vizsgáló eljárások. A baktériumok mikrobiális respirációját azok szénforráshasznosító képességével tesztelik, a talajok mikrobiális aktivitásának becslése a CO₂ termelés mérésével kivitelezhető. A szénforrások alkalmasak a mikrobiális aktivitás kvantifikálására (pl.: összaktivitás), a mikrobaközösségekre jellemző „anyagcsere ujjlenyomat”-nak a meghatározására, illetve az anyagcsere aktivitás változásainak időbeni és térbeli nyomon követésére (BORSODI 2018).

A mikrobiális biomasszabecslő-módszerek egyike a szubsztrát-indukált respiráció, ami a könnyen hasznosítható (pl.: glükóz) telítési koncentrációban levő szubsztrát alkalmazására adott respirációs válasz. Ez a válasz a mikroba biomassza nagyságával arányos (SZILI-KOVÁCS 2004). A talajmikroba közösségek lebontó aktivitás meghatározásához funkcionális diverzitás ún. katabolikus aktivitás-mintázat (CLPP=community level physiological profiles) elemzéseket végeznek. Ez az eljárás eltérő szénforrások mikrobiális hasznosításán alapszik, mely a teljes talajmikroba-közösség aktivitását méri. A módszer a dehidrogenáz-enzim aktivitását detektálja fotométerrel. Ez a már korábban WEST és SPARLING (1986) révén létrehozott szubsztrát-indukált respirációs módszer több szubsztrátosra módosított változatát jelenti. CAMPBELL et al. (2003-ban) ezt MicroRespTM néven továbbfejlesztette: a mikrotiter lemezen az agarózgélben levő pH indikátor színváltozásán keresztül detektálja a talajmintából képződő CO₂-mértékét (SZILI-KOVÁCS et al. 2017, MUCSI et al. 2017). A mikrorespirációs módszer a szubsztrát-indukált respiráció miniatürizált mása, amely a talajhoz való szubsztrát (könnyen hasznosítható szénforrás: különböző cukrok, aminosavak és szerves savak) hozzáadása utáni respirációból származó CO₂ kolorimetrikus detektálásán alapszik. A respirációs módszerek hátránya, hogy az inkubálás során végbemenő folyamatok nem követhetőek nyomon (CAMPBELL et al. 2003, VINCENT et al. 2018).

Hazai viszonylatban a fenti módszert az Agrártudományi Kutatóközpont Talajtani és Agrokémiai Intézet Talajbiológiai Osztályán kívül tudomásom szerint mások nem alkalmazzák.

A természetben egyes gyökérváladékok 10 féle cukrot (pl.: glükóz, fruktóz), 25-féle aminosavat termelnek, amit a talaj mikroba közösségek működésükhöz használnak fel, ami évi kb.: 75×10^{15} g C/év emissziót eredményez (RAICH és SCHLESINGER, 1992, SCHLESINGER és ANDREWS, 2000).

2.8.3. A talajmikrobák vizsgálata kitenyésztési eljárásokkal

A tenyésztési módszerek célja a mikrobák elszaporítása, fenntartása, egyes fajok, mikrobacsoportok jelentésének a kimutatása, élősejtszám meghatározás. Kitenyésztésre azért van szükség, mert a mikrobiológiában csak az írható le, amit tenyészetbe vontak. A tenyészetet az alábbi módon definiálhatjuk: meghatározott környezeti körülmények közt, adott tápanyagokon, zárt rendszerben élő/szaporodó mikrobák összessége. A mikrobák szaporodásának a következő feltételei vannak: megfelelő környezeti tényezők (pl.: pH, hőmérséklet, redoxpotenciál) biztosítása mellett a megfelelő tápanyagellátás biztosítása. Laboratóriumi körülmények között ezek az igények különböző összetételű és típusú tápközeggel és termosztátokkal biztosítható. A mikrobák tenyésztése, elemzése általában táptalajokon megy végbe, melyek felvehető állapotban tartalmazzák azon tápanyagokat, amikre a mikrobáknak élettevékenységükhöz szükségük van. A szilárd táptalajokon a mikrobák elszaporodva telepeket alkotnak, ez egy gyors és egyszerű módszer tenyészetek készítésére, a mikrobák számolására, fajmeghatározásra (DEÁK et al. 2006). A mikrobiológiai kitenyésztési eljárásokkal biomassa becslést végezhetünk, viszont szem előtt kell tartani, hogy a mikrobák jelentős része nem tenyésztendő, ezáltal a sejtszám nem minden esetben korrelál pontosan a biomassa mennyiségével. A módszernek nagy a szelektivitása, ezáltal csak korlátozottan lehet alkalmazni (SZEGI 1979, BORSODI 2018).

A mikroba kitenyésztés az élőket számolja, a módszer nem sejtszámot, hanem a CFU-t, a telepképző egységek számát méri (a kettő nem mindig ugyanaz), mivel csak élő sejtekből fejlődnek telepek, ezért a CFU kisebb lehet a tényleges sejtszámnál. Illetve a szuszpendálással szét nem választható fonalas képletek vagy sejtaggregátumok tucatnyi sejtet is tartalmazhatnak, viszont ezekből csak egy-egy telep képes kinőni a táptalajon, így a CFU valós sejtszámnál alacsonyabb értéket ad (HESZKY et al. 2005).

A hagyományos szelektív táptalajos eljárásokkal a teljes talaj-mikrobapopuláció közel 1%-át tenyésztjük ki (PLASSART et al. 2012).

2.9. A talajmikrobák vizsgálata molekuláris technikákkal

A prokarióta mikroorganizmusok rendelkeznek a legnagyobb genetikai diverzitással a Földön (LYNCH et al. 2004). Ehhez képest csak keveset tudunk a talajmikroorganizmusok diverzitásáról (PETRIC et al. 2011, VOGEL et al. 2018). A molekuláris biológiai módszerekkel lehetővé vált a környezeti minták mikrobáinak vizsgálata kitenyésztés nélkül is (NIEMI et al. 2001, LAKAY et al. 2007).

A talajbaktérium közösségi diverzitás vizsgálati eljárások együtt változtak az analitikai módszerek fejlődésével a tradicionális kitenyésztéstől a modern molekuláris-biológiai eljárásokig (PICARD et al. 1992, DOBROVOL'SKAYA et al. 2009). A molekuláris módszerek előnye, hogy nem kell nehézkes, időigényes inokuláció, kultiváció, valamint tiszta kultúrák izolációja. Továbbá a molekuláris módszerekkel elvégezhető a labor körülmények között nem nevelhető baktériumok vizsgálata is. Relatív kis mintamennyiség is elegendő a vizsgálathoz. Új távlatok nyíltak a prokarióták filogenetikai fáján újabb evolúciós kapcsolatok keresésére (DOBROVOL'SKAYA et al. 2008, WHITE 1994). A mikroorganizmusokból származó nukleinsavak és az erre épülő molekuláris módszerek segítségével információt nyerhetünk a mikrobiális közösség összetételéről, nagyságáról, valamint a diverzitásáról (TÖWE et al. 2011, SEMENOV et al. 2018).

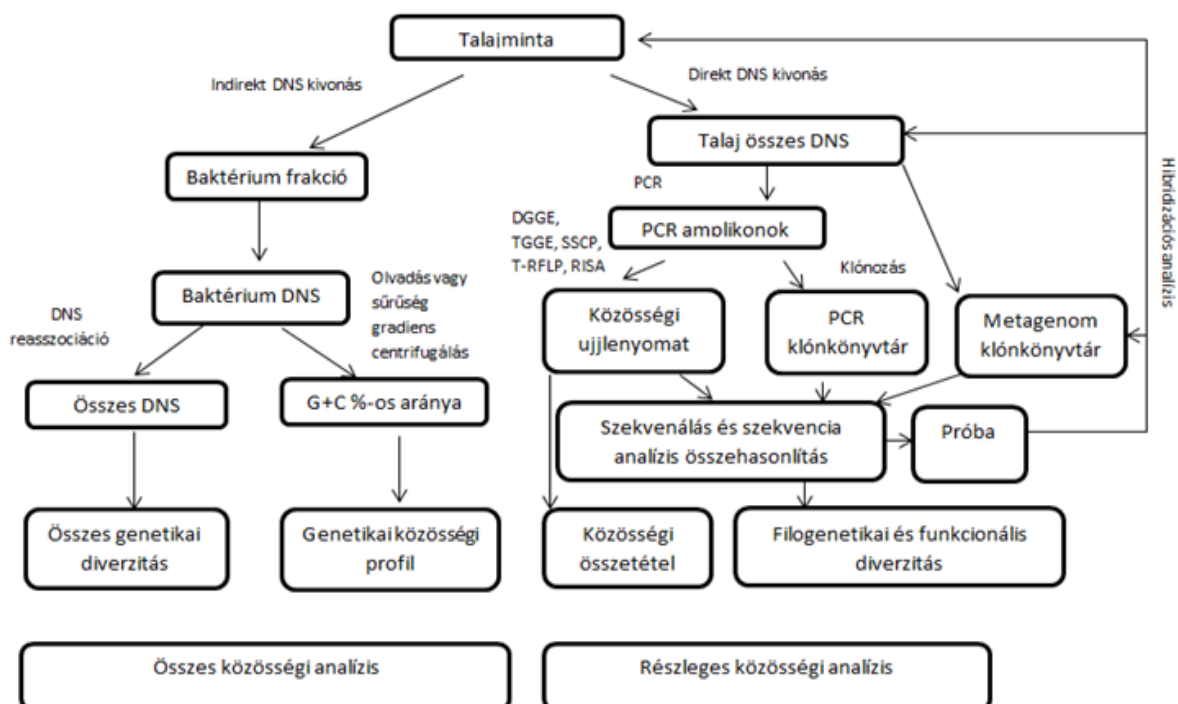
2.9.1. Mikrobiális 16S rRNS

A talajbaktériumok molekuláris vizsgálatához a riboszóma kis alegységében levő konzervatív, 16S rRNS-t használják fel, ami taxonómiaiailag kiértékelhető. A 16S rRNS-t kódoló

génszakasz (16S rDNS, ~1500 bp) minden baktériumban jelen van, konzervált és variábilis régiókból áll, ezért a filogenetikai összefüggések vizsgálhatók vele, a *taxa* megkülönböztethető a többitől és így rutinszerűen alkalmazzák (SZILI-KOVÁCS et al. 2011, HILL et al. 2000).

A különböző talajok mikrobiota közössége összehasonlítható a DNS vizsgálata során kapott genetikai ujjlenyomattal. Az eredményül kapott mintákból statisztikai kiértékeléssel lehetővé válik a talajmikroba közösség szerkezetének vizsgálata (SZILI-KOVÁCS et al. 2011). Csoport- és taxonspecifikus oligonukleotid próbákat terveztek ezekre a szekvenciákra. A mikrobiális közösségekből származó taxonómiai és funkcionális információt hordoz az egész közösségi struktúráról és a genetikai diverzitásról (WELLINGTON et al. 2003). Segítségével a baktériumközösség legjelentősebb tagjai meghatározhatók (HACKL et al. 2004; (TSAI et al. 2009). Továbbá információt szolgáltatnak az összes mikrobiális közösségi genomról (genomtérképezés, speciális gének keresése, filogenetikai- és funkcionális diverzitás kiértékelése) (SOLIMAN et al. 2017) (4. ábra). Továbbá az rDNS génekben lévő eltérő G+C kapocs arányok alapján kiszűrhetőek a közösségekből a kevésbé domináns organizmusok is (NÜSSLEIN és TIEDJE 1998). Az új technikák segítségével érthetőbbé válnak a környezeti- és antropogén hatások a talajmikrobákra, ezáltal a mikrobák szerepe tisztázódhat (HILL et al. 2000). Választ kaphatunk azon tényezőkre, melyek hatással vannak a fajok és a környezet közt, képet kaphatunk a talajbaktériumok közösségi szerkezetéről (McCAIG, 1999). Mindezen eljárások célja a taxonómiai felépítés, illetve a talajmikroba közösségi funkció közti kapcsolat felderítése (DOBROVOL'SKAYA et al. 2009).

A módszer hátrányai közé tartozik, hogy idő- és költségigényes (HACKL et al. 2004).



4. ábra: A mikrobiális közösségek vizsgálatára alkalmazott modern molekuláris módszerek összefoglaló ábrája (LYNCH et al. 2004 nyomán)

2.9.2. Talajmikroba DNS-kivonás

A talajból történő DNS-kivonás nem egyszerű feladat, mivel a kinyerhető nukleinsav mennyisége alacsony, nehéz reprodukálni (TÖWE et al. 2011, WAGNER et al. 2015). A talajból extrahált relatív kisméretű DNS-fragmentumok lehetséges okai: DNS-kivonás során a mechanikai, kémiai eljárások és enzimatisus folyamatok a nukleinsav feldarabolódását idézhetik elő. A

talajbaktériumok „*in situ*” körülmények között végzett stimulációjával (tápanyag utánpótlás) a kivont DNS mennyisége növelhető, ellenben az eljárás módosíthatja a baktériumközösség szerkezetét (BERTRAND et al. 2005). A DNS-kivonási eljárás kritikus lépése: megtisztítani a nukleinsavat a fehérje, a huminsav, a poliszacharidok és a karbamid szennyeződésektől. Az eljárás hatékonysága alapjaiban hatással van a vizsgálatok eredményére (WILLIAMSON et al. 2011). A huminsav a DNS-hez hasonlóan savas makromolekula. A magas szervesanyag-tartalommal rendelkező talajok általában sok huminsavval rendelkeznek. A huminsav fenol csoportjai kovalensen kötődnek a DNS-hez vagy a fehérjéhez (YEATES et al. 1998). Tisztításkor a fenol tartalmú összetevők (huminsav) eltávolítása a cél (LAKAY et al. 2007). Már 10 ng huminsav gátolhatja vagy csökkentheti a PCR-eljárás (Polimerase Chain Reaction) érzékenységét, illetve specifitását (TÉCHER et al. 2010, BÜRGMANN et al. 2001). Ezek a szennyeződések nem távolíthatók el teljesen a hagyományos fenol-kloroformos, detergenses, proteázos kezelésekkel, így azok gátolhatják a PCR-reakciót (NIEMI et al. 2001). A tisztítási lépések növelésével csökken a DNS mennyisége (TÉCHER et al. 2010). A nukleinsav huminsavtartalma az alábbi technikákkal távolítható el: differenciál centrifugálási technika (YEATES et al. 1998), Sephadex-oszlopos tisztítás, polyvinylpolypyrrolidone-os kezelés (SAGOVA-MARECKOVA et al. 2008).

Kísérletekben a talajban lévő prokarióták DNS-kivonására a direkt DNS-extrakció módszerét alkalmazták, mivel ez a módszer magában foglalja az „*in situ*” sejtek lízisét, majd az azt követő DNS-extrakciót és tisztítást (WILLIAMSON et al. 2011; DELMONT et al. 2011). Az indirekt eljáráshoz képest ez esetben nagyobb a kivont DNS mennyisége, így a módszert gyakrabban alkalmazzák (MUMY és FINDLAY, 2004). Az üveggyöngyös DNS izolálás 15-23,5 µg DNS/g talaj eredményez (YEATES et al. 1998).

A DNS-kivonás három alapvető követelménye: (I.) a mintában lévő mikroorganizmusok lízise, (II.) nagy molekulású DNS-extraktum és (III.) tiszta DNS nyerése (YEATES et al. 1998). A nukleinsav extrakció függhet a talajtípustól, az alkalmazott eljárástól. A módszert optimalizálni kell, figyelembe véve a vizsgált talaj fizikai és kémiai tulajdonságait (pl.: pH, humusztartalom, szemcseösszetétel) (KÖDÖBÖCZ és MURÁNYI, 2012; PETRIC et al. 2011).

A talaj DNS-kivonó kitek magukban foglalják a tisztítási lépést is, szemben a hagyományos eljárásokkal (WHITEHOUSE, 2007; DAUPHIN et al. 2009). A kereskedelmi forgalomban kapható kitek nukleinsav extrakciós hatékonysága a vizsgált mintából való DNS-kinyerés hatékonyságának, reprodukálhatóságának és a kivont DNS tisztaságának köszönhető (MUMY és FINDLAY, 2004). A mai modern kitek segítségével PCR-vizsgálatra alkalmas minőségű DNS nyerhető ki (FITZPATRICK et al. 2010).

2.9.3. PCR, Nested-PCR-módszer

A polimeráz láncreakciót (Polymerase Chain Reaction-PCR) 1985-ben Mullis és Saiki írták le (SAIKI et al. 1985; MULLIS és FALOONA, 1987). A PCR egy „*in vitro*” módszer, melynek segítségével egy speciális készülékben, hőstabil DNS-függő DNS-polimeráz enzim és primerek jelenlétében (baktériumok esetében univerzális és specifikus primerek), enzimatis úton megsokszorozhatunk kromoszómális, illetve klónozott DNS (komplementer DNS-(cDNS) az mRNS-ből visszaírt (reverz transzkripció) csak kódoló szakaszokat tartalmazó DNS) célszekvenciákat (NOVÁK, 1999; KISS, 1999, WUNDERLICH et al. 2014). A PCR-eljárás több ciklusból tevődik össze, ciklusonként három fő lépés különíthető el. Első lépés a denaturálás, ahol a felszaporítani kívánt DNS kettős szál megközelítőleg 95 °C-on egyszálúvá denaturálódik. Második lépés a primerek kapcsolódása (anneláció), ahol 36-72 °C-on a primerek (rövid, 8-20 nukleotidból álló mesterséges oligonukleotidok) kitapadnak a komplementer célszekvenciákhoz. Harmadik lépés a komplementer szál szintézise, 72-75 °C-on megy végbe, ahol a legelterjedtebben alkalmazott hőstabil DNS-függő Taq polimeráz enzim meghosszabbítja az egyszálú templát nukleinsavhoz tapadó primereknek a 3' végeit, így 5'-3' irányban végbemegy a templát DNS-sel komplementer szál szintézise. A DNS molekulák mennyisége az első ciklus után

megkétszereződik, majd minden ciklus során megduplázódik, tehát optimális feltételek esetén exponenciálisan nő a felsokszorozott DNS szakaszok mennyisége. A ciklusok számát az igényelt cél DNS mennyiségétől függően határozzák meg, a rutin PCR-reakciókban általában 30-40 ciklust alkalmaznak.

A PCR áttörést okozott a molekuláris biológia történetében. A módszerrel lehetővé vált a vizsgált minta genetikai állományának egy vizsgált szakaszát több milliószorosára felszaporítani. A PCR-technika napjainkban széles körben elterjedt, melyet a populációgenetikában, a diagnosztikában, valamint a molekuláris-, evolúció-, és fejlődésbiológiában is alkalmaznak (NOVÁK, 1999). A PCR nagy érzékenységű eljárás, éppen ezért a vizsgált minta kisebb szennyeződéseit felerősítheti (WHITE, 1994). Az a legmegfelelőbb PCR-technika, amelyik olcsó, egyértelmű, illetve megbízható, reprodukálható eredményt nyújt (NOVÁK, 1999).

Az eddig alkalmazott primerektől eredményesebb baktérium specifikus, univerzális primerekkel végzik a PCR-reakciót, melyeket a konzervált régiókra terveztek és több baktériumfajon, számos környezeti mintán módszeresen, empirikusan teszteltek (MARCHESI, 1998). A genom méret, a 16S rRNS gének kópiaszáma és a G/C tartalom befolyásolhatja a PCR-termékek arányát (SIPOS et al. 2007).

A genetikai ujjlenyomat módszerek a PCR-eljáráson alapulnak, az univerzalistaól a fajspecifikusig primereket és próbákat alkalmaznak. Ezen technikák kombinációi segítségével könnyebben megérthetjük a baktérium közösségi struktúrát (McCAIG, 1999). Az így keletkező amplikonok különböző módszerekkel választják szét (LYNCH et al. 2004).

A PCR-alapú közösségi ujjlenyomat technikák előnyei: gyors, egyszerre több minta parallel elemezhető, megbízható és gyors a reprodukálhatósága, minőségi és mennyiségi információt nyújt a populációról a közösségen belül. A közösségi tagok közt lévő filogenetikai kapcsolatot összehasonlítja az adatbázisban levő fragment méretekkel és szekvenciákkal (TSAI et al. 2009; SZILI-KOVÁCS és munkatársai, 2011).

A hátrányok közé tartozik, hogy egy-egy baktérium törzsről különböző PCR amplikonok készülhetnek, melynek oka a sok operon. A komplex közösségek amplikon száma túl sok ahhoz, hogy egymástól elszeparálhatóak legyenek (LYNCH et al. 2004).

Az ún. fészek (nested)-PCR-eljárással több nagyságrenddel megnövelhető a PCR-reakció érzékenysége, mely során két specifikus primerpárt alkalmaznak. Az első, ún. külső primerpárt alkalmazva a kisebb mennyiségben lévő cél nukleinsav is biztosan amplifikálódik (HESZKY et al. 2005). A második, ún. belső specifikus primerpár során az első PCR-termék cél DNS-sé válik. A módszer előnye, hogy az első szakaszban a cél DNS mellett nem specifikus melléktermékek is keletkezhetnek. Ezt küszöböli ki a második lépés, ahol már csak a pontos PCR-termékekhez kötődik a belső primerpár (DEÁK et al. 2006, BORSODI, 2018).

2.9.4. Agaróz gélelektroforézis vizsgálat

A gélelektroforézis segítségével a töltéssel rendelkező nukleinsavak, makromolekulák valamint fehérjék elválasztása és méretük meghatározása végezhető el. A technika azon alapul, hogy a vizsgált molekulák a gél pórusain át az ellentétes töltés felé vándorolnak egy elektromos térbe helyezett gélben. A negatív töltésű nukleinsavak esetében a gélben történő mozgást befolyásoló tényezők az alábbiak: molekula nagysága és alakja, gél koncentrációja, puffer ionerőssége, az áramerősség, az agaróz koncentrációja. A nukleinsavak gélelektroforézises szétválasztásakor az eredményül kapott fragmentumok mérete DNS molekulatömeg markerrel határozható meg. A nukleinsav analitikában alkalmazott gél lehet agaróz illetve poliakrilamid (KISS 1999, BORSODI 2018).

2.9.5. DGGE módszer

A DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)-denaturáló gradiens gélelektroforézis módszer egy taxonómiai diverzitást vizsgáló eljárás, amit általában a rövid, azonos hosszúságú, eltérő szekvenciájú a 16S rRNS génszakaszra tervezett univerzális baktérium primerekkel kapott PCR-termékek (variábilis régiókat körülvevő konzervált régiók felszaporítása – a konvervatív szakaszokhoz kötődik a primer, a variábilis régió biztosítja a szekvencia különbségeket, mely az elválasztás alapja) elválasztására használják denaturáló gradiens poliakrilamid gélben, ahol az elválasztás az amplikonok eltérő denaturációs tulajdonságaik alapján történik. A DGGE alkalmazásakor a GC-kapocccsal ellátott primerek segítségével a PCR-termékeknek megnő az olvadáspontja, ezáltal nem lesz teljes a denaturáció, egy része kettősszálú marad. A részlegesen vagy teljesen denaturált molekulák, lassabban haladnak és különböző pozíciókban állnak meg a gélben, eltérő mintázatot adva, ezáltal a különböző fajok elkülöníthetők egymástól (HESZKY et al. 2005, NIEMI et al. 2001). A módszerrel 100-500 bázispáros fragmentumok vizsgálhatók (LYNCH et al. 2004). A DGGE módszerrel megegyező méretű, ellenben eltérő bázissorrendű DNS-szakaszok elválasztása végezhető el. Befolyásolja az eljárást a bázissorrendtől függő olvadási hőmérséklet (T_m -Melting Temperature), valamint a bázisösszetétel. Az alkalmazott denaturálószer: formamid és urea lineáris grádiense. A gélfestés utáni detektálást szoftveres statisztikai értékelés követ (HESZKY et al. 2005)

Az elméletileg egyféle DNS-t tartalmazó csíkokat vágják ki a gélből, a DNS-t visszaizolálják, majd újra amplifikálják. Ezután végzik a bázissorrend meghatározását, a szekvenálás során, majd adatbázis segítségével összehasonlítják a többi mikroorganizmussal (TORSVIK és ØVERÅS, 2002, ROELFSEMA és PETERS, 2005, BORSODI 2018). Az egyes DNS gél mintázatok (csíkok) reprezentálják a domináns baktériumfajokat a talajban (NIEMI et al. 2001). A DGGE különbséget tár fel a komplex mikroba közösségek között (McCAIG 2001).

A módszer előnye, hogy közösségi DNS izolátumokkal dolgoznak tenyésztéstől függetlenül, hátránya pedig az, hogy eszköz- és munkaerőigényes, továbbá karcinogén (akrilamid). Több baktériumfaj 16S rRNS-e is ugyanott denaturálódhat a gélben, ezért a gélből visszaizolált, egyedinek gondolt 16S rRNS mégis kevert mintázatot eredményezhet, ezáltal nehezen értelmezhető eredményeket adhat. Illetve kisebb az egyszerre vizsgálható mintaszám, ezért ez a módszer egyre veszít a népszerűségéből. Ez a módszer csak korlátozottan alkalmas a mikrobiális közösségalkotók filogenetikai jellemzésére, mivel az elemezhető szakasz aránylag rövid (~500 bp) (NIEMI et al. 2001).

Felismerhetők vele a nukleotid szekvenciában lévő kis különbségek, a kapott gél mintázat alapján a közösségi struktúra is vizsgálható. A nukleotid sorrendtől függ a futási távolság, a gélen megjelenő sávokhoz (a kapott sávok fajspecifikusak, a talajbaktérium-közösségre jellemző mintázatból információt kaphatunk a domináns baktériumfajról), valamint elvégezhető a különálló mintázatok gélből történő extrakciója és szekvenálása is (JOHANSSON et al. 2004, TORSVIK és ØVERÅS, 2002).

A talaj mikroba közösségeknek tanulmányozásához érdemes kombinálni a hagyományos kitenyésztéses módszereket a modern molekuláris technikákkal, ezáltal komplex képet kaphatunk a speciális mikroba csoportokról (HILL et al. 2000, BORSODI 2018).

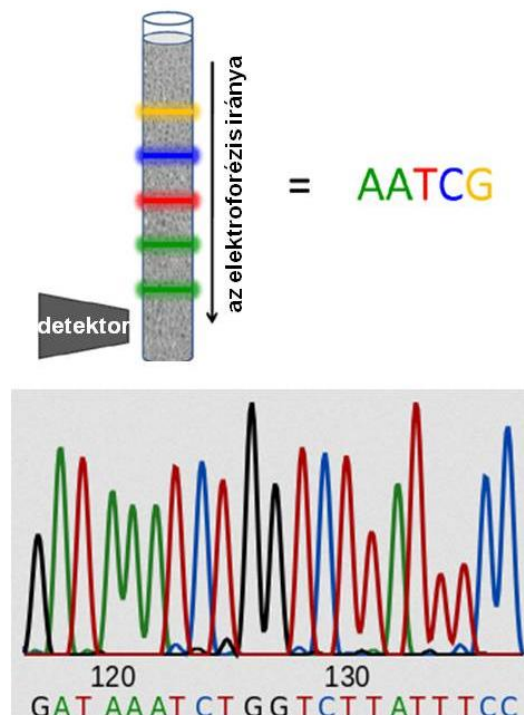
2.9.6. Sanger-féle szekvenálás

Az élő szervezetek működésének megértéséhez alapvető fontosságú a nukleinsav szekvencia meghatározás. A DNS-szekvenálás egy biokémiai eljárás, ahol a DNS polinukleotid bázisainak (adeninnek, guaninnak, citozinnek és a timinnek) sorrend-meghatározására alkalmaznak. A molekuláris biológia legfontosabb feladatai közé sorolhatjuk a nukleinsavak és a fehérjék szekvenciáinak az azonosítását. Egyszerűsége miatt csak a Sanger-féle láncterminációs

módszer terjedt el (**5. ábra**), a klasszikus szekvenálási technikák közül napjainkban ezt használják. A módszer hasonlít a PCR-eljáráshoz, viszont csak egy primert alkalmaznak. A reakcióban a négy bázisnak megfelelően négy különböző fluoreszcens festékkel jelölt ddNTP is részt vesz. Amint ezek beépülnek a lánchosszabbítás alatt, leáll a reakció, mert egy ddNTP után már nem képes beépülni újabb nukleotid. Ezáltal eltérő hosszúságú, az utolsó bázisnak megfelelően terminálisan jelölt DNS-fragmentek generálódnak. A reakcióelegyet etanolos precipitációval tisztítják meg az enzimtől és a be nem épült nukleotidoktól. Majd kapilláris elektroforézissel választhatják szét az egy bázisnyival különböző fragmentumokat. Lézer segítségével történik a különböző fluoreszcens jelek detektálása, a végeredmény az elektroforetogram.

A módszer előnyei közé sorolható, hogy költséghatékony. Hátránya, hogy szekvenálás alatt a reakció és a kapilláris elektroforézis során is felléphetnek hibák. A kapott eredmény minőségét és az értékelő szoftver hibás leolvasását a felhasználónak ellenőriznie és esetlegesen „manuálisan” korrigálnia is kell.

A 2000-es évek közepétől egyre inkább elterjednek az ún. „új generációs” DNS-szekvenálási technikák (SOLIMAN et al. 2017) (NGS=Next-Generation DNA Sequencing; Illumina, Roche 454, Ion Torrent). Biotechnológiai cégek eltérő módszereket fejlesztettek ki a nukleinsav gyors szekvenálásának céljából. Ezek az eljárások nagyságrendekkel megnövelik a szekvenálás sebességét, mert nagyon sok különböző szekvencia bázissorrend meghatározását teszi lehetővé szimultán. Az eredményül kapott információkból egy nagy teljesítményű számítógép teljes genomra összeilleszti a szekvenciatarédekeket (SANGER et al. 1977, CSIKÓS 2015). Ezeknek az NGS eljárásoknak az egy nukleotid meghatározására szükséges költsége nagyságrendekkel alacsonyabb, mint a Sanger-módszer esetében, viszont nagyobb pontatlansággal rendelkeznek. Ezekkel az új módszerekkel lehetővé válik a baktériumtörzsek teljes genomjának a meghatározása, mikrobaközösségek taxonómiai összetételének metagenomikai elemzése (BORSODI 2018).



5. ábra: DNS szekvenálás kapilláris elektroforézissel (WUNDERLICH 2014)

2.9.7. Mikrobiális filogenetikai elemzések

A molekuláris módszerekkel történő bakteriális taxonómia elemzése – a vizsgált mikroorganizmus sejtjeiből származó DNS alapján – rendszertanilag értékelhető információt eredményez. Ezek összehasonlító értékelésével meghatározható, hogy az adott törzsek mennyire hasonlítanak vagy térnek el egymástól (HESZKY et al. 2005). Egyes génekről részleges vagy teljes bázissorrend meghatározással nyerünk információt. A szekvenciák közti hasonlóságot %-ban szokás megadni. Két törzset akkor tekintjük egy fajhoz tartozónak, amennyiben a 16S rRNS génjük bázissorrendjének hasonlósága 98,7 %-ot meghaladó érték (CHUN et al. 2018., GOBERNA és VERDÚ, 2018).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Mintavételi helyek bemutatása, mintavétel

A mintavételi területek kijelölésénél az egyik fő szempont a talajok különböző fizikai félesége, míg a másik az eltérő gazdálkodási mód (organikus és konvencionális) volt.

A minták talajfizikai vizsgálata alapján azok szemcseméret besorolása a textúraháromszög alapján:

- Karcag, organikus területe agyag talaj=AO
- Karcag konvencionális területe agyagos vályogtalaj=AVK,
- Martonvásár, organikus területe vályogtalaj=VO,
- Martonvásár, konvencionális területe vályogtalaj=VK,
- Nyíregyháza, organikus terület vályogos homoktalaj=VHO,
- Nyíregyháza, konvencionális terület homoktalaj=HK.

A három jellegzetesen eltérő fizikai-féleségű talajt reprezentáló mintaterületünk Martonvásár, Karcag és Nyíregyháza közelében található (**M4**). A vizsgálatokba bevont talajminták a rizoszférából származtak (**M2A-C**). A talajmintavétel 2011-ben ősszel (nov. 16-19.), 2012-ben tavasszal (máj. 22-23.) történt.

A három területen egy organikus művelésű és egy konvencionális táblát mintáztam. A terület átlója mentén 10 méterenként, 0-20 cm-es talajmélységből vettem a talajmintákat, egy mintavételi területről 12 ismétlésben. A három területről összesen 144 talajmintát gyűjtöttem be a két év alatt, amelyeket a mintavétel napján a MTA ATK TAKI laboratóriumába szállítottam.

A minták novemberi és májusi begyűjtése azért volt indokolt, mert az irodalmi adatok szerint a talajokban ősszel és tavasszal növekszik a mikrobiológiai aktivitás (SZABÓ 1992). A talajmintákat a nagyobb növényi részek eltávolítása után 2 mm-es szitán átszitáltam, majd a fizikai és kémiai talajvizsgálatokig légszáraz állapotban tároltam. A mikrobiológiai vizsgálatokhoz a talajokat +4 °C-on, molekuláris elemzésekhez pedig -20 °C-on tároltam a mihamarabbi felhasználásig.

3.1.1. Karcagi kísérleti terület

Az 1960-as évek végén Országos Műtrágyázási Tartamkísérlet (OMTK) kísérletsorozatot állítottak be 26 helyen, ami lehetővé tette az adott termőhelyre jellemző eltérő talajtulajdonságok és időjárási viszonyok mellett a műtrágyák érvényesülésének és a felvehető tápanyagtartalomban beállt változásokat befolyásoló hatásoknak a tanulmányozását. Az OMTK kísérleti területek közül a XXI. század elejére már csak 9 maradt meg (CSATHÓ et al. 2002).

A talajmintavétel az OMTK Debreceni Egyetem Agrártudományi Központ Karcagi Kutatóintézet telephelyén történt. A mintázott konvencionális terület az OMTK 17, AI. 16. parcellája (5,67 ha) volt. A mintavétel évében cirok és őszi bűza (2011) majd ismét őszi bűza (2012) volt vetve a parcellákon. Az organikus művelésű területek esetében a minták az M1 tábláról (5,67 ha) származtak, ahol a mintavételt megelőző évben 2010-ben belvízkár jelentkezett, mely az őszi bűza növényt károsította (**M4**). A mintavételkor somkóró (2011; Melilotus; Fabaceae) és köles (2012; *Panicum miliaceum*, Poaceae) volt a területen (**M4**).

A táblák GPS koordinátái: é. sz. 47° 16' 47'', k. h. 20° 53' 12'' (**M3A**).

A karcagi talaj nehézaggyag, agyagos vályog textúrájú, réti csernozjom (STEFANOVITS 1972), (WRB) (FAO 2015), (AO=agyag, organikus, AVK=agyagos vályog, konvencionális).

3.1.2. Martonvásári kísérleti terület

A Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézetében az 1950-es évek végén és az 1960-as évek elején Györffy Béla és Sarkadi János állította be azokat a nemzetközileg nyilvántartott, folyamatosan fenntartott tartamkísérleteket, ahol a kukorica- és búza jelzőnövényekkel végzett kutatások jelenleg is folynak (BERZSENYI 2009). Az MTA Agrártudományi Kutatóközpont martonvásári tanúsított organikus tenyészkertjében 20 éve sem trágyázás, sem növényvédőszer alkalmazása nem történt (MIKÓ et al. 2014). A kísérletben vetésforgót alkalmaznak, melyben 50 % a pillangós (Fabaceae) növények aránya. A területen a talajmintavétel éveiben zöldborsót (2011; *Pisum sativum*; Fabaceae) és gabonát (2012), majd ősszel kalászosokat vetettek. Az organikus terület mellett közvetlenül helyezkednek el az üzemi művelési parcellák, mely esetében búza és kukorica növényeket vetnek felváltva. Itt a mintavétel évében a területen tavaszi búzát (2011; *Triticum aestivum*; Poaceae) és kukoricát (2012; *Zea mays*; Poaceae) vetettek (**M4.**).

A martonvásári talaj agyagos vályog textúrájú, mészlepedékes csernozjom (STEFANOVITS 1972), (WRB) (FAO 2015). A martonvásári organikus (VO=vályog, organikus) és konvencionális (VK=vályog, konvencionális) terület 0,5-0,5 hektáron terül el, melynek GPS koordinátái a következők: é. sz. 47° 18' 38'', k. h. 18° 46' 45'' (**M3B.**).

3.1.3. Nyíregyházi kísérleti terület

A Debreceni Egyetem Agrártudományi Központ Nyíregyházi Kutatóintézet üzemi területén helyezkedik el a Westsik-féle vetésforgó tartamkísérlet. A tartamkísérletet 1929-ben Westsik Vilmos állította be. A szabadföldi kísérlet célja a savanyú homoktalaj tápanyag-szolgáltató képességének javítása. A Westsik-féle vetésforgórendszer kutatómunkája 1929 őszén indult, 1933 óta tizenöt homokjavító vetésforgóval üzemel. A Nyíregyházi Kutatóintézet tangazdaságát alacsony humusztartalmú futóhomok alkotja, szelíd lejtők, vagy homokdombok formájában. A mintavételkor a 15. parcellából vettünk talajmintákat a domb aljától a domb tetejéig (6,70 ha) é. sz. 47° 58' 42'', k. h. 21° 40' 52''. A mintavétel éveiben a területen rozst (*Secale cereale*, Poaceae) (2011) valamint rozst ésszőszös bükkönyt (*Vicia villosa*, Fabaceae) (2012); vetettek. Ezt a vetésforgót a másodvetésű csillagfürt (*Lupinus*, Fabaceae) zöldtrágyahatás elemzésére állították be, ahol műtrágyázás nem történt. A nyírség homoktalajaira általánosan jellemző, hogy mészhiányosak, vízgazdálkodásuk kedvezőtlen. A talajoknak a természetes vízkapacitása alacsony, a tavaszi szelek a talaj mélyebb rétegeit kiszárítják, károkat okozva a növényeknek (KÖDÖBÖCZ et al. 2007).

A Nyíregyházi Kutatóintézet 1997 óta 55 ha-os területen folytat ökológiai gazdálkodást. A kísérleteikben fontos szerep jut az egyéves és az évelő pillangós növények termesztésének (KÖDÖBÖCZ et al. 2007) A talajok mintavétele a 16-os parcellából történt (14,9 ha) é. sz. 47° 58' 48'', k. h. 21° 40' 33'' (**M3C.**), ahol 2011-ben tönkölybúzát (*Triticum spelta*, Poaceae) és lucernát (*Medicago sativa*, Fabaceae), míg 2012-ben pohánkát (hajdina, *Fagopyrum esculentum*) és borsót (*Pisum sativum*, Fabaceae) termesztettek (**M4.**).

A nyíregyházi talaj humuszos homok (STEFANOVITS 1972), (WRB) (FAO 2015), (VHO=vályogos homok, organikus; HK=homok, konvencionális).

A három kísérleti terület konvencionális, ill. organikus termesztés alatt álló parcelláiban alkalmazott agrotechnikai beavatkozásokat az **M4** táblázatban tanulmányozhatjuk. A konvencionális táblák közül a vályog és az agyagos vályog talajokon történt műtrágyázás. Műtrágyázási időpontok: Martonvásár: őszi: 2011. 11. 06., tavaszi: 2012. 04. 07.; Karcag: őszi: 2011. 09. 26, tavaszi: 2012. 03. 05. (**M4** táblázat).

3.1.4. A mintavételi évek időjárása

A mintavételt megelőző 2010-es év rekordcsapadékosnak bizonyult. A mintavétel éve, a 2011-es év szintén rekordot döntött, ezúttal a szélsőségesen száraz időjárással. 2011-ben az országos átlagos csapadékösszeg 407,4 mm volt, mely alapján átlagos évnak mondható. A novemberi mintavétel idején volt az év legszárazabb hónapja, ekkor az országos átlag 0,3 mm volt. A 2011-es éves átlagos középhőmérséklet pedig 7-11 °C volt (MÓRING et al. 2012). A 2011-es rekord száraz év után ismét 2012-ben igen aszályos év következett Magyarországon. A 2012-es éves átlagos középhőmérséklete az országban 11-12 °C közt mozgott. Az országos átlagos csapadékösszeg pedig 470,4 mm volt (FODOR et al. 2013).

3.2. Státuszvizsgálatok

3.2.1. A talajok főbb fizikai és kémiai vizsgálata

A talajok fizikai-kémiai tulajdonságainak vizsgálata a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont Talajtani és Agrokémiai Intézet Központi Laboratóriumában a Magyar Szabvány valamint BUZÁS et al. (1988, 1993) módszertani leírások alapján valósult meg. A talajnedvességet szárítószekrényes módszerrel (105 °C-on, súlyállandóságig) határoztuk meg. A talaj fizikai vizsgálata során meghatároztuk azok szemcseméret eloszlását, ahol az agyag és a vályog frakciók meghatározása pipettázással, a homoktalajé pedig szitálással történt. Az alábbi három szemcsefrakció mérethatárai az USDA osztályozás szerinti elemzésen alapultak: homok (0,05-2 mm), iszap (0,002–0,05 mm), agyag (<0,002 mm) (m/m%) (MSZ 08-0205:1978) (BUZÁS et al. 1993). Az elektromos vezetőképesség (EC 2,5), 1:2,5 talaj:víz arányú szuszpenziójában (mS/cm), a pH_(H₂O) az MSZ 08-0206-2:0178 szabvány szerint Radiometer Copenhagen ABU 93 Triburette és TIM 900 TitraLab Radiometer titráló műszerrel lett mérve.

A talaj KCl-oldható NH₄⁺-N (mg/kg) és NO₃⁻-N (mg/kg) tartalmak meghatározását, az összes N (%) mennyiségét az MSZ 08-0458-80 szabvány szerint mértük meg (TYURIN 1937, BARANYAI et al. 1987).

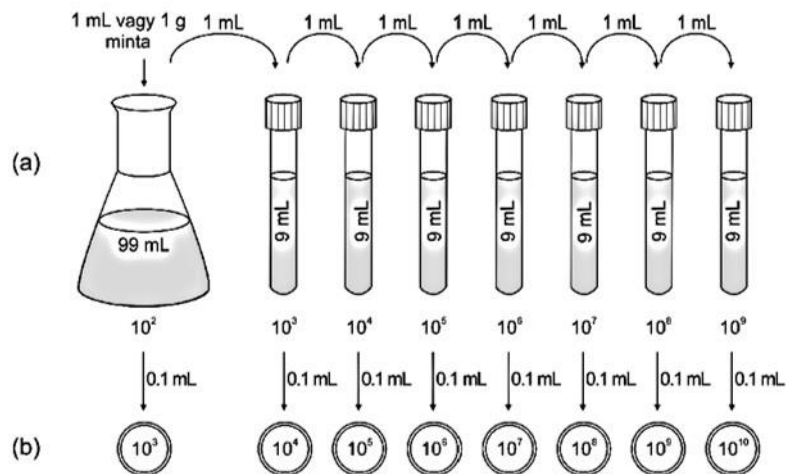
Az AL (ammónium-laktát)-oldható Ca (m/m%), K₂O (mg/kg), Na (mg/kg), P₂O₅ (mg/kg) tartalmakat az MSZ 20135:1999 szabvány szerint határoztuk meg (EGNÉR et al. 1960). A humusztartalmat (%) tömény kénsavas K-dikromátos nedves roncsolásos eljárás utáni Mohr-só oldattal történő redoxititrálással mértem Ferroin indikátor oldat jelenlétében (TYURIN 1937). A kapott szerves C % értéket 1,725-tel (faktor) megszorozva számítottam a talaj humusztartalmát. A talajminták mezo- és mikroelemtartalom-átlagainak mérése (Mg, B, Cu, Fe, Mn, S, Zn) Lakanen Erviö kioldással (LAKANEN és ERVIÖ 1971), induktívan kapcsolt plazma atomemissziós spektrométerrel (ULTIMA 2 ICP Optical Emission Spectrometer, Jobin Yvon Technology, HORIBA France SAS, Montpellier, Franciaország) az MSZ 21470-50:2006 szabvány szerint történt.

3.3 Funkcionális vizsgálatok

3.3.1. Tenyésztésen alapuló talaj-mikrobiológiai vizsgálatok, csíraszámbecslés

A friss talajmintákból 1-1 g-ot 9 ml steril, kémcsőben autoklávozott csapvízben szuszpendáltam. Valamennyi talajminta esetében tizedelő hígítási sorozatot készítettem (**7. ábra**) (SZEGI 1979, BORSODI 2018). Az egyes talajmikrobák kitenyésztéséhez az egyes hígítási tagokból végeztem el a kitenyésztést (KÖDÖBÖCZ et al. 2013), amelyekből 100-100 µl-t a

következő táptalajokra pipettáztam át (15 ml táptalaj/Petri-csésze) mintáként három ismétlésben. A talajban élő *Bacillus* sp. és spórás – az utóbbi meghatározás során a hígított talajsuszpenziót 10 percig 80 °C-os vízbe helyeztem, ezáltal a legtöbb baktérium elpusztult, kivéve a baktériumspórákat - baktériumot Nutrient agar (Merck Millipore, Németország) segítségével, a mikro-gombákat Bengál rózsza agaron (Merck Millipore, Németország), míg a aktinobaktérium *Actinomyces* agar segítségével (HiMedia Laboratories, India) tenyésztettem ki. A felhasznált táptalajok összetételét mellékletben (M5.) tüntettem fel. A táptalajokat automata autoklávban (Sanyo, Auro Science, model MLS-3781 L-PE, CE 820156) sterilizáltam (121 °C-on, 1 atmoszféra nyomáson, 20 percig). A szélesztett táptalajokat az egyes protokolloknak megfelelően termosztátban inkubáltam, majd azt követően a kinőtt telepek leszámolása után a csíraszám (telepképző egységek, colony forming unit - CFU-k) becslését 1 g száraz talajra vonatkoztatva adtam meg.



7. ábra. Hígítási sorból készített szélesztéses csíraszámbecslés (BORSODI 2018)

Megj.: (a)=a mintából sterilizált desztillált vízben tizedelő hígítási sorozat készítése, (b)=az egyes hígítási tagokból 100 µl-nek a táplemezre való szélesztése.

3.3.2. Talaj enzimaktivitás vizsgálat (FDA)

A rizoszféra talajmintákban található mikroorganizmusok összes aktivitását fluoreszceindiacetát (FDA) hidrolízissel SCHNÜRER és ROSSWALL (1982), valamint az ADAM és DUNCAN (2001) módszerei szerint végeztem el a következő módosítással: másfél órás üvegyöngyös előráztatást alkalmazva a szubsztrát hozzáadása előtt a talajaggregátumok szélesztése érdekében, valamint tízszeres szubsztrát koncentráció mellett (VILLÁNYI et al. 2006).

3.3.3. Talajrespirációs vizsgálatok

3.3.3.1. Alap és szubsztrát-indukált respiráció

A talajmintákban lévő talaj mikrobióta aktivitásának vizsgálatára alap-(basal respiration-BRESP) és szubsztrát-indukált respiráció (substrate-induced respiration-SIR) elemzéseket hajtottam végre. Az egyes mintákból 3-3 párhuzamossal dolgoztam ($n=4$ /kezelés). A talajminták nedvességtartalmát a szabadföldi vízkapacitásközele értékre állítottam be, ezt követően 7 napos előinkubációt végeztem, a parafilmmel fedett mintákat egy hétig vákuum ekszikkátorba (DURAN® 300 mm, AA Labor Kft., Budapest) helyeztem szobahőmérsékleten. Az inkubációhoz 25 cm³ térfogatú üvegfolyába 2-2 g talajt mértem be. Az üvegedényeket átlevégőztetés után

butilgumi dugóval zártam le és a talajmintákat 25 °C-os rázóvízfürdőbe (60 fordulat/perc) (GFL 1086, Burgwedel, Németország) helyeztem. 4 és 24 óra elteltével megmértem a termelődött CO₂ mennyiségét, a kettő különbségéből számoltam ki a CO₂-képződés sebességét, az alaprespirációt (µg CO₂-C/g talaj/óra).

Az alaprespiráció meghatározása után ugyanabból a talajmintából mértem meg a szubsztrát-indukált respirációt is. Az egyes üvegedényekben lévő talajokhoz 200-200 µl D-glükózoldatot (Reanal Labor, Budapest) (8 mg glükóz g⁻¹ talaj) pipettáztam. A csöveket 20 perc után gumidugóval zártam le, majd három órán keresztül 25 °C-os rázó vízfürdőben (60 fordulat/perc) inkubáltam. A gázminta mérés során kiindulási értéknek a labor levegőjében mért CO₂ koncentrációt vettem alapul.

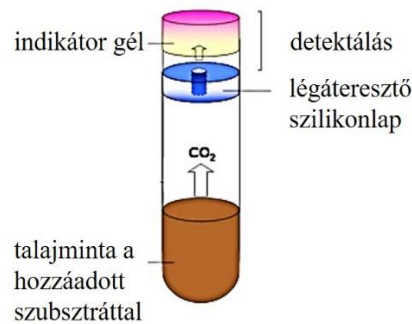
A BRESP és a SIR során képződött CO₂-ot, gázkromatográf készülékkel mértem (**6. ábra**) (GC 8000, Fisons, Rodano, Olaszország) (SZILI-KOVÁCS és TÖRÖK, 2005). Hamilton teflundugattyús fecskendő (250 µl, 702N, Hamilton), segítségével 250 µl gázmintát injektáltam a készülékbe, ahol megmértem a keletkezett CO₂ mennyiségét, melyet a Clarity 4.0 szoftver (DataApex Ltd., Prága, Csehország) segítségével határoztam meg. A keletkezett CO₂ mennyiségét a mérés során eredményül kapott CO₂ csúcsok görbe alatti területének integrációjával állapítottam meg.



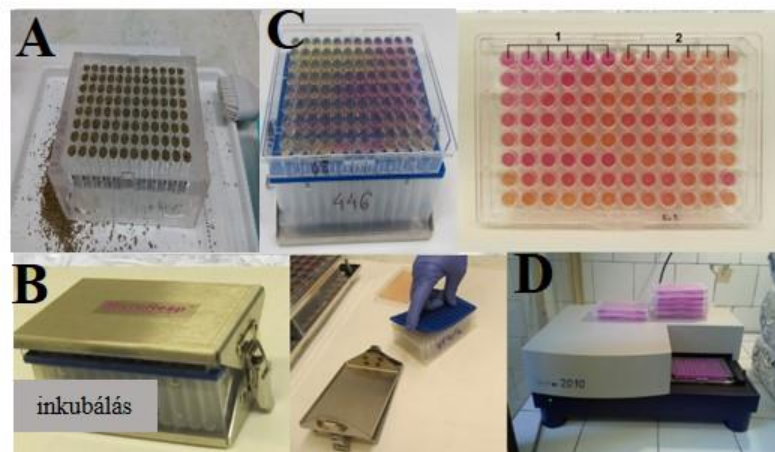
6. ábra. Gázkromatográf készülék (MTA ATK TAKI) Fotó: GAZDAG 2019

3.3.3.2. Mikrorespirációs mérés

A mikrorespirációs kísérlet során 23 szénforrást és kontrollként desztillált vizet használtam (n=4/kezelés). A mérés ideje alatt két darab 96 üregű mikroplét található egymással szemben. Az alsó pozícióban egy 1,2 ml térfogatú mélyüregű mikroplét található (Deepwel plét: AB-0564 1,2 ml Storage Plate (Applied Biosystems – Thermo Fisher Scientific Inc.)), ami a talajmintát és a hozzápipettázott szubsztrátot tartalmazza, a felső pozícióban az úgynevezett detektor mikroplét helyezkedik el, ami egy indikátor festéket (krezolvörös) tartalmazó 3 %-os agarózgél. A két mikroplétet egy teflonbevonatú szilikon lap köti össze (MicroRespTM seal), ami a szemben lévő üregek közt átjárást biztosít a talajmikrobák aktivitása során termelődő CO₂-nak (ANANYEVA et al. (2008) (**7.**, **8. ábra**)).



7. ábra. MikroRespiraciós™ mérés elvét szemléltető ábra (ROWELL 1995) nyomán



8. ábra. MikroRespiraciós™ mérés (Fotó: GAZDAG és SZILI-KOVÁCS, 2019)

Megj.: A=talajminta bemérés a deepwell plétekbe, B=szubsztrát hozzáadás után inkubálás, C=a mikrobiális szubsztrát hasznosítás során termelődött mikrobiális CO₂ detektálása–detektorplét színreakció, D=fotometriás detektálás.

A mérést megelőzően a talajminták nedvességtartalmát a szabadföldi vízkapacitás közeli értékre állítottam be. A talajmintákat a MicroResp™ adagolóval adtam a mikropléthez, plétenként egy talajmintát. A talajminták betöltése után tömegméréssel adtam meg az átlagosan bemért talaj tömegét. A pléteket parafilmrel lezártam, vákuumexszikkátorban inkubáltam (48 óra), ami szódamesz és vizet tartalmazott. Előbbi elnyelte a termelődött CO₂-ot, utóbbi pedig a szükséges páratartalmat biztosította. Két nap inkubálás után 25 µl szénforrás oldatokat adagoltam nyolccsatornás pipetta segítségével a mikroplétben levő talajmintákhoz. Szubsztrátként 23 különböző szénforrást és kontrollként desztillált vizet alkalmaztam. A szénforrások elrendezését a deepwell és a detektor pléten az **M6A.** és **M6B. mellékletek** mutatják. Egy-egy szubsztrát plétenként 4 ismétlésben található meg. A szubsztrát oldatok pH-ját 5,00–7,34 közé állítottam be 1N NaOH vagy 1N HCl oldat hozzáadásával. A szubsztrátok kiadagolását követően 30 percet vártam az abiotikus CO₂ kicserélődésre, majd a pléteket fém lezáró (MicroResp™) segítségével lezártam, termosztátba helyeztem, ahol 25 °C-on 6 órát inkubáltam.

Az inkubáció elején és a végén mikroplét fotométerrel (Anthos 2010 Microplate Absorbance Reader (Biochrom Ltd. Cambridge, UK, ADAP 1.4 szoftver) lemért abszorbancia (A₅₇₀) értékek normalizálása után elvégeztem a CO₂ % kalkuláció számítását Microsoft Office Excel 2016 programmal az alábbi képlet alapján:

CO₂ % = $A+B/(1+D \times A_i)$ képlettel (A_i az átlagos abszorbancia érték egy meghatározott CO₂ koncentrációnál; A=-0,2265; B=-1,606; D=-6,771 modellparaméterek).

A fenti képlet nem illeszkedett jól az általam lemerített abszorbancia értékek teljes tartományára. Ezért a kalibráció során a CurveExpert 1.4 Programmal egy jobban illeszkedő modellt használtam, a Harris-modellt, azonban ezt is csak két elkülönített tartományra tudtam nagy pontossággal illeszteni.

Harris Modell: $y=1/(a+bx^c)$

Ahol, ha a mért abszorbancia $>0,42$, akkor $A=2,07$, $B=41,81$, $C=4,59$;

ha a mért abszorbancia $<0,42$, akkor $A=-0,04$, $B=30,75$, $C=2,83$.

A kalibráció a CO_2 koncentráció sorozat párhuzamos gázkromatográfiás és kolorimetrikus mérésével ment végbe. 6 óra inkubáció utáni normalizált CO_2 % értékekből számítottam ki a respiráció sebességét ($\mu g CO_2-C/g talaj/óra$).

3.4. Tenyésztéstől független, mikrobiális közösség molekuláris vizsgálatok

3.4.1. Talajbaktérium nukleinsav-izolálás

A tavaszi talajmintákból mikroba DNS-t izoláltam a „Soil Microbe DNA MiniPrep Kit”-tel (Zymo Research, Irvine, USA). Az izolálás során a mintákból 0,25 g-ot mértem be, az izolálást a gyártó utasításai alapján végeztem el. A 16S riboszómális RNS-t kódoló gén (16S rDNS) régiót nested-PCR polimeráz láncreakció segítségével szaporítottam fel. Az DNS-t $-20\text{ }^\circ\text{C}$ -on tároltam a későbbi felhasználásig.

3.4.2. Talajbaktérium nukleinsav mennyiségi- és minőségi ellenőrzése

A kivont DNS koncentrációját ND 1000 NanoDropTM spektrofotométer (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, USA) segítségével mértem. A nukleinsav koncentráció meghatározásán túl ($\lambda=260\text{ nm}$ -en vizsgálva) a kapott abszorbanciákból lemerítettem a huminsavak ($\lambda=230\text{ nm}$) és a fehérje ($\lambda=280\text{ nm}$) szennyeződések (KÖDÖBÖCZ és MURÁNYI, 2012).

3.4.3. Talajbaktérium nukleinsav-izolálás módszertani fejlesztése

Az őszi és a tavaszi talajmintákból DNS-izolálást végeztem el a Zymo Research „Soil Microbe DNA MiniPrep Kit”-tel. A mennyiségi (koncentráció $ng/\mu l$) és minőségi (huminsav 260/230 nm, fehérje 260/280 nm) vizsgálatokat a ND 1000 NanoDropTM spektrofotométerrel mértem. Ezzel célom volt megállapítani, hogy van-e szignifikáns különbség az egyes évszakok között a vizsgált paraméterek tekintetében.

Azt feltételeztem, hogy a „Soil Microbe DNA MiniPrep Kit”-es (Zymo Research) talajból történő DNS feltárás hatékonyságát javítani lehet, melyhez négyféle rázatási módszert teszteltem. Ezzel célom volt a talajaggregátumok eredményesebb szétválása, a kivont DNS mennyiségi és minőségi mutatóinak javítása. Az extrakció a gyártó utasításainak megfelelően történt.

Az előkísérletem eredményeit alapul véve a leghatékonyabb évszakkal (tavaszi) és talajtípusokkal (VO) a DNS mennyiségi és minőségi mutatóinak javítását különböző fizikai talajkezelési eljárásokkal fejlesztettem. Ehhez maximális fokozaton teszteltem a következő készülékeket, háromféle időtartalommal:

A, homogenizáló, FastPrep-24™, (mpbio™, Kuwait, Közel-Kelet, 90-250 V, 50-60 Hz, 1200 W, 1-60 másodperc, sebesség 4,0-6,5 fordulat/másodperc, 1, 3, 5 perc rázatási idő.

B, horizontális vortex, (Pulsing Vortex Mixers, VWR® International, Radnor, Pennsylvania, 120 V, 50-60 Hz, 3200 fordulat/perc), 1, 5, 10 perc rázatási idő.

C, sejtmalom, (Mini-Bead Beater-16 (MIDSCI), St. Louis, Amerika, 115 V, 60 Hz, 3450 fordulat/perc), 1, 3, 5 perc rázatási idő.

D, vortex, (ZX3 Vortex Mixer, VELP Scientifica, Inc., Bohemia, Egyesült Államok, 100-240 V, 50-60 Hz, 3000 fordulat/perc), 1, 5, 10 perc rázatási idő.

Majd a kísérletet megismételtem a leghatékonyabb rázatási időkkel az egyes rázatógépekre a másik két talajtípusra is (AO, VHO). Minden kezelés esetében 5 párhuzamossal dolgoztam. A rázatást követően az egyes mintákkal a gyártó utasításait követve folytattam a DNS kivonást a fenti kittel. Majd a kapott DNS minőségi és mennyiségi paramétereit a ND-1000 NanoDrop™ spektrofotométerrel és száloptikás mikroküvetével ellátott (Hellma TrayCell®, Dialab Kft., Budapest) spektrofotométer (Helios Beta, Thermo Spectronic, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, USA) készüléssel mértem.

3.4.4. A talajmikroba DNS felszaporítása fészek (nested) - polimeráz lánreakcióval (PCR)

A tavaszi talajminták 16S rDNS génszakasz analizésére PCR módszert végeztem. Az első PCR-reakcióban „külső” primerpárként (F203α; R1494) (**3. táblázat**) α-proteobaktériumokra specifikus (nitrogénkövető-baktériumok kimutatása) alkalmaztam (GOMES et al. 2001, TSUSHIMA és MATSUSHITA, 2010). Ennek a lépésnek az az előnye, hogy a mintában kisebb mennyiségben jelenlévő cél nukleinsavunk is amplifikálódik. A második PCR reakcióban a „belső”, baktériumokra univerzális primerpárral (F984GC; R1378) (**4. táblázat**) történt a felszaporítás, a reakció során az előző PCR-termék szolgáltatta a templátot (GOMES et al. 2001), így biztosított a keresett célszekvencia amplifikálása (BELÁK et al. 2011).

A fészek-PCR első amplifikációja (ICYCLER Thermal Cycler, Bio-Rad Laboratories, Applied Biosystems, Foster, Kalifornia, USA) készülékben 25 μl végtérfogatban történt (**3. táblázat**).

3. táblázat: α-proteobaktériumokra specifikus PCR-reakcióelegy összetétele

<i>PCR-reakcióelegy összetétele</i>	<i>végtérfogat/minta</i>
Maxima Hot Start PCR Master Mix (2x) ^I	12,5 μl
forward primer F203α (10 μM)	1,00 μl
reverse primer R1494 (10 μM)	1,00 μl
DNS templát	5,00 μl
steril víz ^{II}	5,50 μl

Megj.: ^I=(Thermo Scientific, Biocenter Laboratóriumi szolgáltató Kft., Szeged), ^{II}=nukleázmentes (Thermo Scientific, Biocenter Laboratóriumi szolgáltató Kft., Szeged).

A kezdő denaturációt (95 °C, 4 perc) 30 ciklusban ismétlődő denaturáció (95 °C 30 másodperc), annealációs hőmérséklet (56 °C, 30 másodperc) és extenzió követett (72 °C, 1 perc), 72 °C-os, 10 perces végső extenzióval. A fészek-PCR második amplifikációja hasonló körülmények között történt, mint az első, F984GC; R1378 primerpárral (Biocenter Laboratóriumi szolgáltató Kft., Szeged), 53 °C-os annealációs hőmérséklettel, templátként az előző körben

felszaporított PCR-terméket alkalmaztam. A kísérletek során a minták mellett negatív kontrollt is mértem, amibe templát helyett steril, nukleázmentes vizet pipettáztam. Ezzel kimutatható a PCR-reakcióelegybe vitt esetleges szennyezés.

4. táblázat: A 16S rRNS génszakasz vizsgálatához primerpárok jellemzése

Primerpárok*	Bázissorrend 16S rRNS génszekvencia	Termékméret (bp)**
R1378/ F984GC Baktérium	5'CGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACG-3' 5'AACGCGAAGAACCTTAC-3'	24/17
GC-kapocs	CGCCCGGGGCGCGCCCCGGGGCGGGGCGGGGGCAC GGGGGG (5' végen kapcsolva a F984GC-hez)	40
R1494/ F203α (α-proteobaktérium)	5'CTACGGTTACCTTGTTACGAC-3' 5'CCGCATACGCCCTACGGGGGAAAGATTTAT-3'	21/30

Megi.: nt=nukleotid, bp=bázispár; R= reverz primer; F=forward primer; *=referencia (GOMES et al. 2001; TSUSHIMA és MATSUSHITA, 2010). A gyártó utasításai szerint kihígítottam a primereket (10 μM) (Biocenter Laboratóriumi szolgáltató Kft, Szeged). **=termékméret baktérium primerpárral: ~400 bp, α-proteobaktérium primerpárral: ~1300 bp.

3.4.5. Nested-PCR-termék elválasztás agaróz gélelektroforézissel

A DNS-ek elektroforézises elválasztásakor a kapott fragmentumok méretét DNS molekulatömeg markerrel (GeneRuler™ 1 kb Plus DNA Ladder, Thermo Scientific) határoztam meg. A vizsgált DNS-eket 1,5 %-os agaróz TAE gélben, 1xTAE (50x TAE Buffer (Tris-acetate-EDTA, Lonza, Belgium) futtatópuffer jelenlétében (GR Safe Nucleic Acid Gel Stain, 10000x) fluoreszcens festékkel tettem láthatóvá, így kimutathatóvá vált a keresett génszakasz.

3.4.6. A talajmikroba *nifH* gén felszaporítása polimeráz láncreakcióval (PCR)

A tavaszi talajminták (kezelésenként n=4) mikrobáinak *nifH* génjét PCR módszerrel mutattam ki. A PCR-reakcióban a *nifH* FOR és a *nifH* REV primerpárokat (Biocenter Laboratóriumi szolgáltató Kft, Szeged) (6. táblázat) alkalmaztam, a nitrogénkötő-baktériumok detektálása céljából. A PCR-es amplifikáció 12,5 μl végtérfogóban történt (5. táblázat).

5. táblázat: A *nifH* gén PCR-reakcióelegy összetétele

PCR-reakcióelegy összetétele	végtérfogó (μl)/minta
Maxima Hot Start PCR Master Mix (2x) ^I	6,25
<i>nifH</i> FOR (10 μM)	0,500
<i>nifH</i> REV (10 μM)	0,500
BSA (20 mg/ml) ^{II}	0,250
steril víz ^{III}	2,50
DNS templát ^{IV}	2,50

Megi.: ^I=(Thermo Scientific, Biocenter Laboratóriumi szolgáltató Kft., Szeged), ^{II}=BSA (Bovine Serum Albumin, Sigma-Aldrich/Merck, Darmstadt, Németország) ^{III}=nukleázmentes (Thermo Scientific, Biocenter Laboratóriumi szolgáltató Kft., Szeged), ^{IV}=a VO, VK, AO talajminták esetében 2,5 μl volt a PCR-reakcióban a templát, míg az AVK, VHO és HK esetében 5 μl.

A PCR-reakció hőprofilja megegyezett a korábban alkalmazott univerzális bakteriális primerekével.

6. **táblázat:** A *nifH* gén elemzéséhez használt primerpárok

Primerpárok*	Bázissorrend <i>nifH</i> gén szekvencia	Primerhossz (bp)
<i>FnifH</i>	5' AAAGGCGGTATCGGTAAATCTACCAC-3'	26
<i>RnifH</i>	5' TTGTTAGCAGCATACATCGCCATCAT-3'	26

Megj.: bp=bázispár; R=reverz primer; F=forward primer; *=referencia: RÖSCH et al. 2002.

A *nifH* gén PCR-termék (457 bp) elválasztás agaróz gélelektroforézissel történt (ld. 3.6.4.5 *Nested-PCR termék elválasztás agaróz gélelektroforézissel című fejezetben leírtak alapján*).

3.4.7. Denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE)

A 16S rRNS génszakasz régiót nested-PCR polimeráz láncreakció segítségével szaporítottam fel. A DGGE (Denaturate Gradiens Gel Electrophoresis - Denaturáló Gradiens Gélelektroforézis)-hez két egymást követő PCR-t alkalmaztam.

A DGGE módszert az Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar Mikrobiológiai Tanszékén végeztem el. A módszer során a gélben vándorló egyforma hosszúságú DNS-ek bázisösszetételétől függően a denaturáló ágens eltérő koncentrációnál állnak meg a gélben, a módszerrel akár 1-2 bázispárnnyi eltérést adó nukleinsav szakaszok is szétválaszthatóak egymástól. A már meglévő PCR-termékeket 7 %-os PAA poliakrilamid gélben futtattam meg. A gél a denaturálószer karbamid (urea), (Sigma-Aldrich, USA) és formamid (Sigma-Aldrich, USA) 40-60 %-os gradiensét tartalmazta (**7. táblázat**).

7. **táblázat:** A DGGE módszerhez felhasznált denaturáló 7 %-os akrilamid gél összetétele

Felhasznált vegyszerek	Denaturálószer gradiens	
	40 %	60 %
denaturálószer		
akrilamid (40 %) ^I	4,20 ml	4,20 ml
50xTAE puffer ^{II}	480 ml	480 ml
urea ^{III}	4,00 g	6,00 g
formamid ^{IV}	3,84 ml	5,76 ml
desztillált víz	Az összemért oldatok 24,0 ml-re lettek kiegészítve	

Megj.: ^I=(Merck, Németország), ^{II}=(Tris-acetát-EDTA, Lonza, Belgium), ^{III}=karbamid (urea), Sigma-Aldrich, USA, ^{IV}=Sigma-Aldrich, USA.

A kétféle koncentrációnak megfelelően a hozzávalókat két steril 50 ml-es Falcon-csőbe mértem be és a csövek tartalmát 24 ml-re egészítettem ki desztillált vízzel, majd összekeverés után szonikátorba (Memmert, Labsystem Kft., Budapest) tettem őket. A gél készítésekor 0,1 g ammónium-perszulfátot (APS) (Sigma-Aldrich, USA) 500 µl desztillált vízben oldottam fel, ezután a Falcon-csővekhez 50 µl 20 %-os APS oldatot és 5 µl tetrametil-etilén-diamint (TEMED) (SERVA, Németország) adtam a polimerizáció beindításához. A csövek tartalmát beleöntöttem

egy speciális keverőszerkezetbe, (IKA® Big Squid, IKA-Werke, Németország) ami a kívánt gradienst kialakítva, perisztaltikus pumpával (Elpan, Lengyelország) adagolta a gélt az öntőformába (ELPAN 372.1). A fenti koncentráción az akrilamid egy óra alatt polimerizálódott. Ez idő alatt elkészítettem a 7 %-os koncentráció gélét, melynek összetétele: akrilamid (40 %) (Merck, Németország) 1,05 ml, 50xTAE puffer (Lonza, Belgium) 120 ml, desztillált víz 4,95 ml. A futtató gél polimerizálódását követően ráadagoltam a koncentráció gélét, amihez még a betöltés előtt 6 µl TEMED-t és 60 µl 20 %-os APS oldatot pipettáztam. A koncentráció gél 15 perc alatt megszilárdult.

Az előzőleg elkészített PCR-termékekhez 9-9 µl töltőpuffert pipettáztam, (6xDNA Loading Dye, Thermo Scientific, USA) amit Hamilton fecskendővel töltöttem be a gél egyes zsebeibe. A mintáinkat az INGENYphorU készülékben (Ingeny International, Hollandia), HYBAID PS 250 futtatógésszel (Thermo Hybaid, USA), 1 %-os TAE (50x-osból hígítva) Tris-acetát-EDTA (Lonza, Belgium) pufferben, 60 °C hőmérsékleten 120 V feszültségen 13,5 órán keresztül futtattam (**9. ábra**).

A kapott mintázatot etídium-bromidos (EtBr) festéssel tettem láthatóvá UV-gerjesztés alatt. A PAA gélt EtBr oldatban (1xTAE puffer és pár csepp etídium-bromid; Sigma-Aldrich, USA, 10 mg/ml, E1510-10ML) 20 percig áztattam, majd 15 percen keresztül 2 ismétléssel futtató pufferrel mostam. UV-transzilluminátor készülék (Herolab, Németország) segítségével készítettem fényképet a gélről. A gélben levő elektroforetikus csíkok száma az egyes mintákban levő domináns taxonok számát mutatja. A gél mintázatának kiértékeléséhez a TotalLab TL120 (TotalLab, Anglia) szoftvereket alkalmaztam.

UV-transzilluminátor fölé steril szikével kivágtam a gélből azokat a különálló elektroforetikus csíkokat, amik a mintázat alapján feltehetően egy-egy taxonnak feleltethetők meg. Az izolált sávokat 600 µl-es Eppendorf-csővekbe (Thermo Scientific, Biocenter Laboratóriumi Szolgáltató Kft., Szeged) tettem bele, majd hozzáadtam 30 µl steril desztillált vizet és egy éjszakán keresztül 4 °C-on inkubáltam, hogy a DNS a gélből a vízbe diffundáljon. Majd a 984GC forward és 1378 reverse primerek felhasználásával, PCR-módszerrel felszaporítottam.

Reakciónként egy-egy mintára 200 µl-es PCR-csővekbe 23 µl - premix oldatot és 2 µl DNS templátot mértem össze. A PCR-reakció összetevői és a reakció hőprofilja megegyezett a fészek-PCR második körével. 1,5 %-os agaróz gélelektroforézissel ellenőriztem a PCR-termékek jelenlétét, minőségét.



9. ábra. DGGE készülék ([https 1](https://1))

3.4.8. Szekvenálás kapilláris elektroforézissel

A PCR-termékek szekvenciájának meghatározásához a Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Kutatóközpont Sanger-féle szekvenáló laboratórium szolgáltatásait vettük

igénybe, ahol a kapilláris szekvenálást egy 8 kapillárisos, 3500-as szériájú Genetic Analyzer (Life Technologies) készülékkel végezték el.

3.5. Az adatok statisztikai értékelése

Az alap adatokat a Microsoft Office Excel 2016-os program segítségével értékeltem. A kiugró értékeket szelektáltam, majd a statisztikai elemzéshez az SPSS 25.0. (IBM Corp., Armonk, NY, USA) programot alkalmaztam. Az adatok kiértékelésénél a 95 %-os ($p \leq 0,05$) megbízhatósági szintet vettem alapul. Az adatok normalitását és szóráshomogenitását vizsgáltam a feltételvizsgálat során. A szóráshomogenitás elemzéséhez a Levene-tesztet, a normalitás vizsgálatához a Shapiro-Wilk-tesztet alkalmaztam, majd egytényezős varianciaanalízist (ANOVA) használtam a kapott eredmények összevetésére. Szóráshomogenitás esetén az eltérő kezelések páronkénti összehasonlításánál (eltérő évszakok és gazdálkodási módok) Tukey HSD post hoc-tesztet, szórásinhomogenitás esetén pedig Games-Howell-tesztet végeztem el. A talajbaktérium nukleinsav-izolálás módszertani fejlesztéséhez a teljesítménymutatók több paramétert egyszerre figyelembe vevő komplex statisztikai értékeléshez az SRD szoftvert (letölthető innen: [https 2](https://2)) használtam.

A főbb talaj fizikai-, kémiai- és mikrobiológiai tulajdonságok közötti összefüggés jellemzését a Pearson-féle korrelációs együttható értékkel számítottam ki. A fenti paraméterekere a két évszak tekintetében multikritériumos összehasonlítást végeztem az ún. RV koefficiens segítségével.

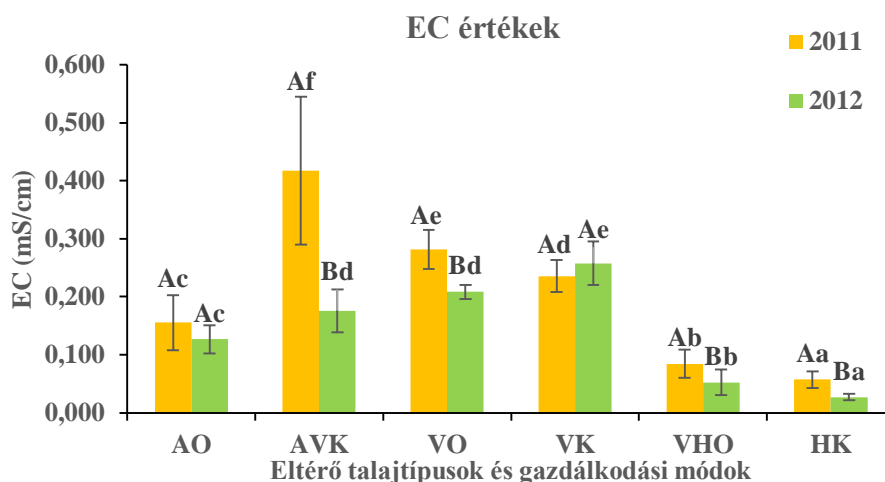
4. EREDMÉNYEK

4.1. Státusz vizsgálatok eredményei - A talajok főbb fizikai és kémiai paraméterei

4.1.1. Elektromos vezetőképesség

Az EC értéken belül szignifikáns különbséget mutattam ki az évszakok közt (évszak: $F(1;125)=63,3$; $p \leq 0,001$), a talajtípusok/gazdálkodási módok közt (talaj: $F(1;125)=112$; $p \leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak $F(1;125)=22,8$; $p \leq 0,001$), az összesítő elemzés eredményeit a **10. ábra** mutatja.

2011 őszen a legnagyobb EC értékekkel az AVK talaj ($0,418 \pm 0,128$ mS/cm), a legkisebbel a HK ($0,057 \pm 0,014$ mS/cm) rendelkezett. 2012 tavaszán a legnagyobb EC értéket a VK szolgáltatta ($0,258 \pm 0,038$ mS/cm), míg a legkisebb megegyezett az őszi HK esetével ($0,027 \pm 0,006$ mS/cm).



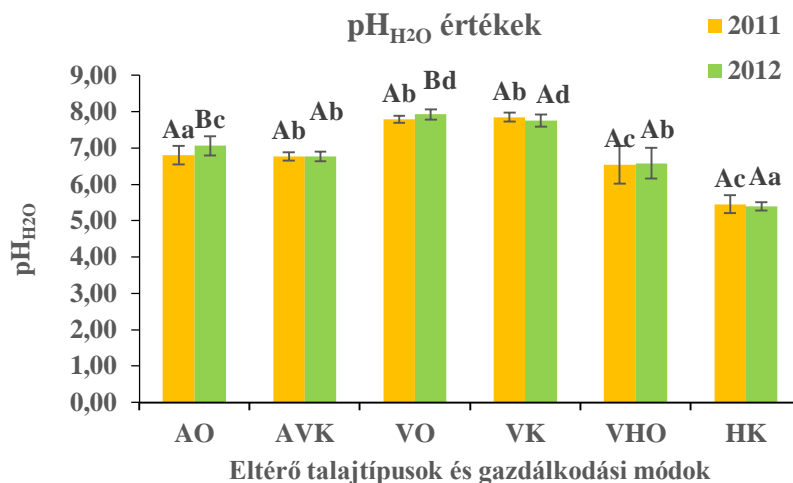
Megj.: sárga színek=2011 őszi talajminták, zöld színek=2012 tavaszi talajminták, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza).

10. ábra. Az eltérő talajtípusból és gazdálkodási módból származó talajminták összesített EC értékek átlaga (mS/cm) és szórása a 2011-es évi és a 2012-es évi (őszi és tavaszi) mintavétel során. Az egyes betűk szignifikánsan különböző csoportokat jelölnek a különböző talajtípusok és gazdálkodási módok esetében. Kisbetűk: az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; nagybetűk: a két évszak közti különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása (Games-Howell post hoc teszt; $p \leq 0,05$).

4.1.2. pH_{H2O}-értékek

A összesített pH_{H2O}-értékek esetében (**11. ábra**) az évszakok közt (évszak: $F(1;129)=1,158$; $p=0,284$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között nem találtam szignifikáns eltérést (talaj*évszak: $F(1;129)=1,57$; $p=0,170$), ezzel szemben a talajtípusok/gazdálkodási módoknál igen (talaj: $F(1;129)=282$; $p \leq 0,001$). 2011 őszen a legmagasabb pH_{H2O}-értéket az VK talajtípus adta ($7,85 \pm 0,12$), a legalacsonyabbat pedig a HK

($5,45 \pm 0,24$). 2012 tavaszán a legmagasabb $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ -értéket az VO talajtípusnál ($7,93 \pm 0,14$), a legalacsonyabbat az őszihez hasonlóan a HK-nál detektáltam ($5,40 \pm 0,11$).



Megj.: sárga színek=2011 őszi talajminták, zöld színek=2012 tavaszi talajminták, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza).

11. ábra. Az eltérő talajtípusból és gazdálkodási módból származó talajminták összesített $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ értékek átlaga és szórása a 2011-es évi és a 2012-es évi (őszi és tavaszi) mintavétel során. Az egyes betűk szignifikánsan különböző csoportokat jelölnek a különböző talajtípusok és gazdálkodási módok esetében. Kisbetűk: az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; nagybetűk: a két évszak közti különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása (Games-Howell post hoc teszt; $p \leq 0,05$).

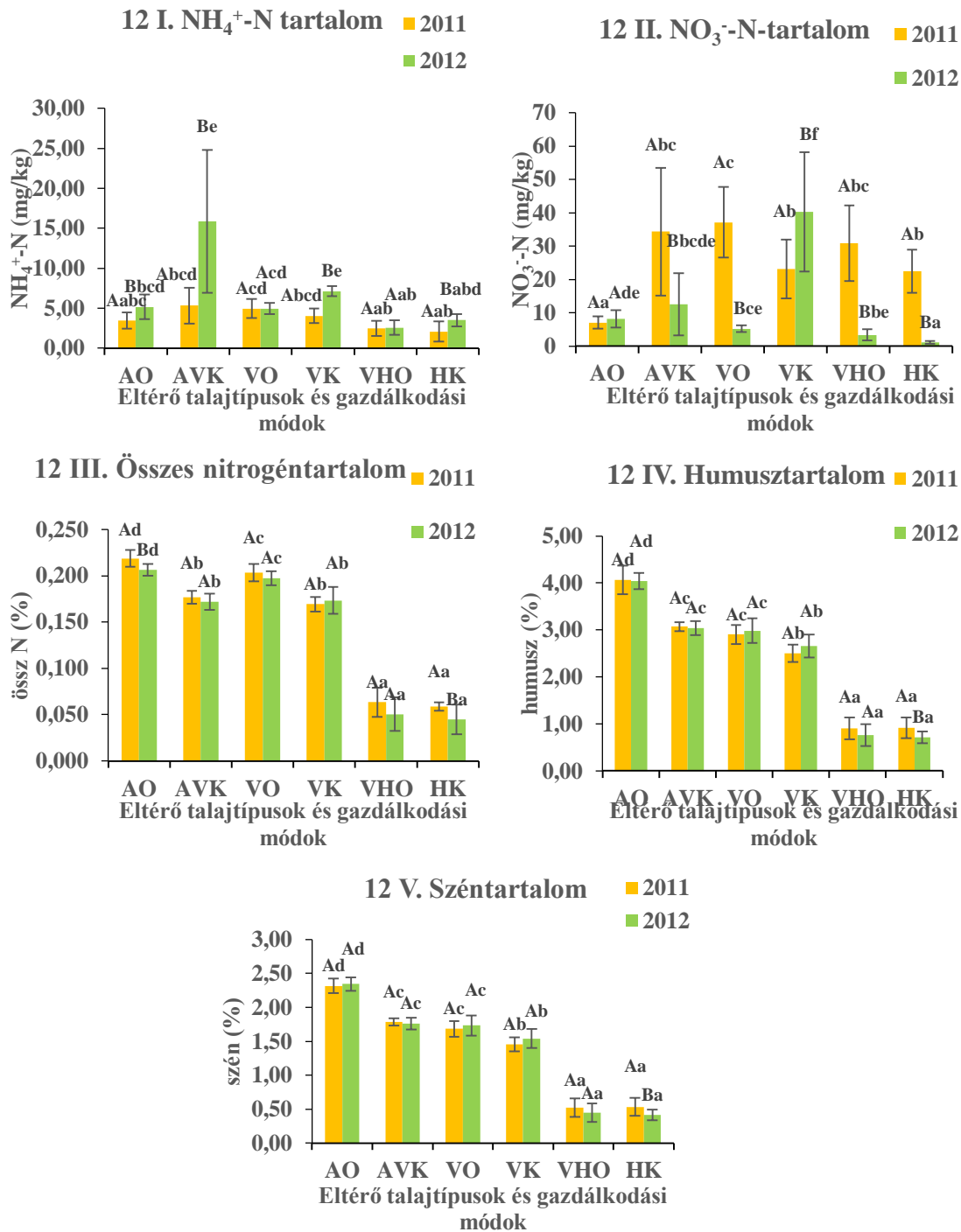
4.1.3. N-formák, humusz- és széntartalom

Az összesített $\text{NH}_4^+\text{-N}$ értékeknél (**12 I. ábra**) szignifikáns eltérést mutattam ki az évszakok közt (évszak: $F(1;123)=31,67$; $p \leq 0,001$), a talajtípusok/gazdálkodási módoknál (talaj: $F(1;123)=22,59$; $p \leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;123)=10,29$; $p \leq 0,001$). 2011 őszen a legnagyobb $\text{NH}_4^+\text{-N}$ értéket az AVK talaj ($5,33 \pm 2,23$ mg/kg), míg a legalacsonyabbat a HK adta ($2,06 \pm 1,25$ mg/kg). Tavasszal a legmagasabbat az őszi évszakkal megegyezően az AVK esetében detektáltam, amely a többihez képest kiugróan magas értéket mutatott ($15,87 \pm 8,94$ mg/kg, a legalacsonyabb értéket a VHO-nál mértem ($2,54 \pm 0,91$ mg/kg).

A $\text{NO}_3^-\text{-N}$ adatoknál (**12 II. ábra**) is szignifikáns eltérést mutattam ki az évszakok közt (évszak: $F(1;129)=70,9$; $p \leq 0,001$), a talajtípusok/gazdálkodási módoknál (talaj: $F(1;129)=17,9$; $p \leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;129)=22,0$; $p \leq 0,001$). Ősszel a legmagasabb értéket a VO talajtípusnál mutattam ki ($34,4 \pm 19,2$ mg/kg), ehhez képest a legalacsonyabbat az AO esetében ($7,05 \pm 1,87$ mg/kg). Tavasszal a legnagyobbat a VK ($40,2 \pm 17,9$ mg/kg), a legkisebbet a HK-nál mértem ($1,19 \pm 0,44$ mg/kg).

Az összes nitrogént (**12 III. ábra**) tekintve a két évszak között szignifikáns eltérést tapasztaltam (évszak: $F(1;131)=16,5$; $p \leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módoknál (talaj: $F(1;131)=961$; $p \leq 0,001$), ellenben a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között nem volt eltérés (talaj*évszak: $F(1;131)=2,20$; $p=0,058$). A 2011-es őszi legnagyobb összes nitrogén-értéket az AO talajnál mértem ($0,219 \pm 0,009$ %), a legkisebbet pedig a HK-nál ($0,059 \pm 0,005$ %). A 2012-es tavaszi értékek is hasonló trendet mutattak, mivel a legmagasabb

érték szintén az AO-nál ($0,207 \pm 0,006$ %), míg a legalacsonyabb ugyancsak a HK esetében ($0,045 \pm 0,016$ %) volt.



Megj.: sárga színek=2011 őszi talajminták, zöld színek=2012 tavaszi talajminták, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza).

12. ábra. Az eltérő talajtípusból és gazdálkodási módból származó talajminták összesített (I.) $\text{NH}_4^+\text{-N}$ -, (II.) $\text{NO}_3^-\text{-N}$ -értékek átlaga (mg/kg) és szórása, valamint az (III.) összes nitrogén-, a (IV.) humusz- és a (V.) széntartalmak átlaga (%) és szórása a 2011-es évi és a 2012-es évi (őszi és tavaszi) mintavétel során. Az egyes betűk szignifikánsan különböző csoportokat jelölnek a különböző talajtípusok és gazdálkodási módok esetében. Kisbetűk: az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; nagybetűk: a két évszak közti

különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása (Games-Howell post hoc teszt; $p \leq 0,05$).

Az összesített humusztartalmak (**12 IV. ábra**) esetében az évszakok (évszak: $F(1;132)=0,615$; $p=0,434$) közt nem, ellenben az eltérő talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;132)=915$; $p \leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;132)=2,32$; $p \leq 0,001$) szignifikáns eltérés mutatkozott. Az őszi humusz értékeknél az AO talaj szolgáltatta a legmagasabb értéket ($4,07 \pm 0,30$ %), a VHO a legalacsonyabbat ($0,905 \pm 0,240$ %). A tavaszi tendencia szinte ezzel megegyezett, az AO ($4,04 \pm 0,17$ %) és a HK ($0,717 \pm 0,130$ %) volt a két szélsőérték.

A széntartalmaknál (**12 V. ábra**) az évszakok (évszak: $F(1;131)=0,247$; $p=0,620$) közt nem, viszont az eltérő talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;131)=1003$; $p \leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;131)=2,79$; $p \leq 0,001$) szignifikáns eltérést detektáltam. Ősszel a legmagasabb széntartalmat az AO ($2,32 \pm 0,11$ %), a legalacsonyabbat a VHO ($0,525 \pm 0,137$ %) produkálta. Ehhez képest hasonló tendenciát észleltem tavasszal is, az AO ($2,34 \pm 0,10$ %) és a HK ($0,415 \pm 0,076$ %) esetében.

Az összes nitrogén-, humusz- és a széntartalmak az agyagos talajtól a homokig csökkenő tendenciát mutatnak.

4.1.4. AL-oldható elemtartalmak (Ca, Na, P_2O_5 , K_2O)

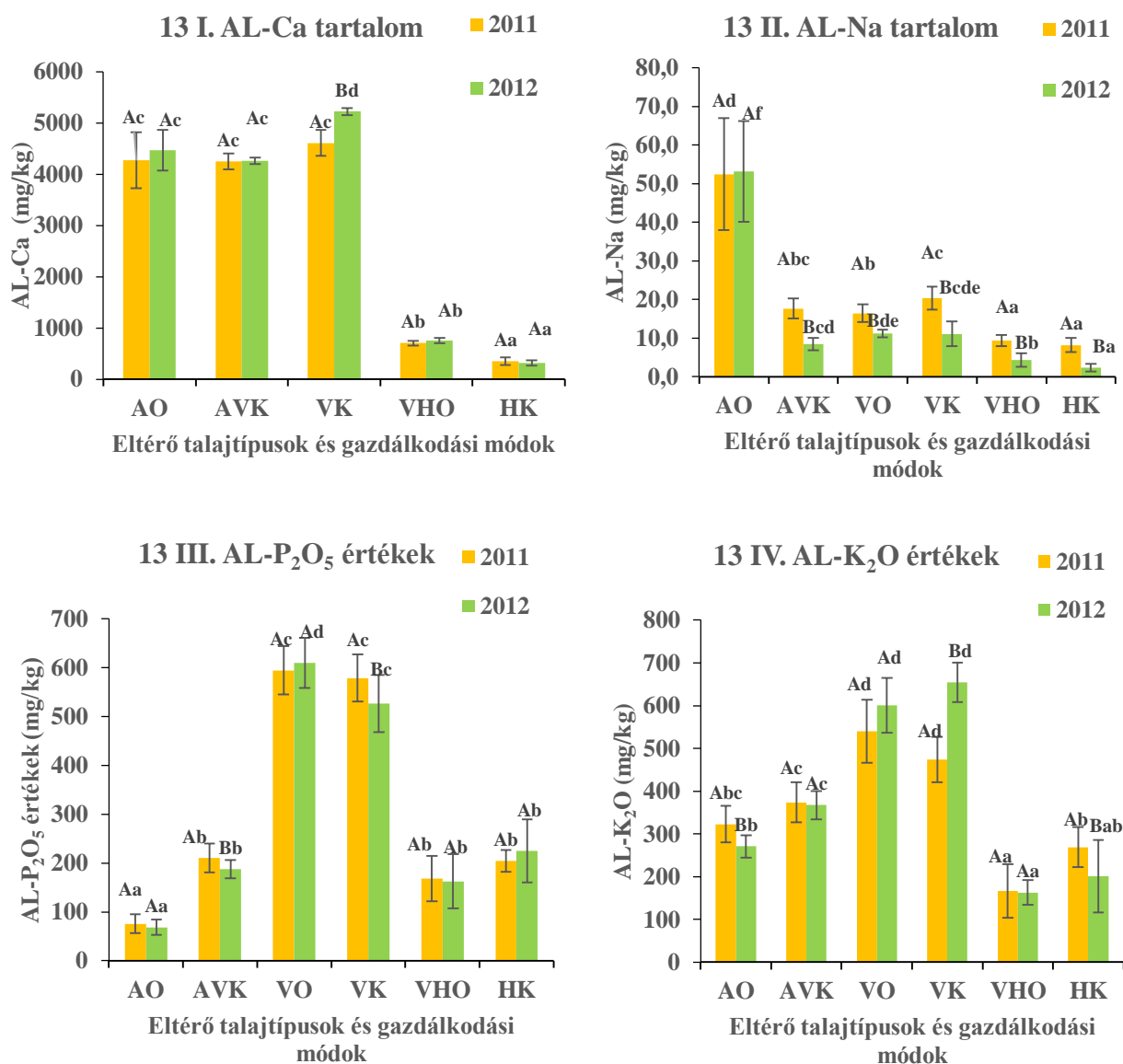
Az AL-Ca értékek (**13 I. ábra**) szerint a különböző évszakok (évszak: $F(1;101)=0,015$; $p=0,903$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;101)=0,094$; $p=0,993$) szignifikáns eltérést nem, ellenben a talajtípusok/gazdálkodási módoknál (talaj: $F(1;101)=122$; $p \leq 0,001$) megfigyelhető volt. Ősszel a legmagasabb érték a VO esetében mutatkozott meg (16790 ± 5521 mg/kg), a legalacsonyabb a HK-nál (317 ± 49), ehhez hasonlóan alakult tavasszal is a két érték: VO (16295 ± 5219 mg/kg), HK (317 ± 49 mg/kg). A VO értékek mind a két évszakban kiugróan magasak voltak, több, mint háromszorosát mértem a VK értékek átlagainak, ezért ezek a **15 I. ábrán** nincsenek feltüntetve, mivel jelentős mértékben torzították volna a skálát.

Az AL-Na értékeket (**13 II. ábra**) tekintve az eltérő évszakok (évszak: $F(1;115)=39,8$; $p \leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módoknál (talaj: $F(1;115)=193$; $p \leq 0,001$), valamint a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;115)=2,44$; $p \leq 0,001$) szignifikáns eltéréseket mutattam ki. A 2011-es őszi minták közül az AO-nál mértem a legnagyobb AL-Na értéket ($52,5 \pm 14,6$ mg/kg), a legalacsonyabbat a HK szolgáltatta ($8,16 \pm 1,83$ mg/kg). Tavasszal ugyanaz a tendencia volt megfigyelhető az AO ($53,2 \pm 13,0$ mg/kg) és a HK ($2,28 \pm 1,03$ mg/kg) átlagok tekintetében. Mind a két évszakban az AO esetében jelentősen magasabb értékeket mértem a többi érték átlagához képest.

Az AL- P_2O_5 értékek esetében (**13 III. ábra**) a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(5;112)=543$; $p \leq 0,001$) szignifikáns eltérést tapasztaltam, viszont az évszakok (évszak: $F(1;112)=1,17$; $p=0,280$), és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(5;112)=1,96$; $p=0,089$) nem detektáltam ilyen különbséget. Mind a két évszak legmagasabb értékeit a VO talaj adta, ősszel (594 ± 49 mg/kg) is és tavasszal (610 ± 51 mg/kg) is. A legalacsonyabb értékeket egységesen az AO talajokhoz tartoztak, (ősz: $75,9 \pm 18,9$ mg/kg), (tavasz: $68,6 \pm 15,7$ mg/kg).

Az összesített AL- K_2O elemzését a **13 IV. ábra** szemlélteti, ahol szignifikáns különbséget mutattam ki a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(5;122)=211$; $p \leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(5;122)=16,7$;

$p \leq 0,001$), az évszakok esetében szignifikáns eltérést nem tapasztaltam ($F(1;122)=3,93$; $p=0,051$). Az őszi tendencia alapján a legmagasabb értéket a VO talajnál (540 ± 74 mg/kg), ezzel szemben a legalacsonyabbat pedig a VHO talajnál detektáltam (167 ± 62 mg/kg). Az őszi értékek szinte megegyeztek a tavasszal (tavasz: VK 655 ± 64 mg/kg; VHO 163 ± 29 mg/kg).



Megj.: sárga színek=2011 őszi talajminták, zöld színek=2012 tavaszi talajminták, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza).

13. ábra: Az eltérő talajtípusból és gazdálkodási módból származó talajminták összesített (I.) AL-Ca, (II.) AL-Na, (III.) AL-P₂O₅ és (IV.) AL-K₂O értékek átlaga (mg/kg) és szórása a 2011-es évi és a 2012-es évi (őszi és tavaszi) mintavétel során. Az egyes betűk szignifikánsan különböző csoportokat jelölnek a különböző talajtípusok és gazdálkodási módok esetében. Kisbetűk: az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; nagybetűk: a két évszak közti különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása (Games-Howell post hoc teszt; $p \leq 0,05$).

4.1.5. Összesített mezo- és mikroelemtartalmak (Mg, B, Cu, Fe, Mn, S, Zn)

Az összesített magnézium mezoelem értékeit a **14 I. ábra** mutatja, ahol szignifikáns különbséget mutattam ki a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;125)=862$; $p\leq 0,001$) közt, viszont az évszakok (évszak: $F(1;125)=0,377$; $p=0,540$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;125)=1,79$; $p=0,119$) nem volt eltérés. 2011 és 2012-ben ugyanaz a talajtípus és művelésmód adta a legnagyobb (össz: VO 628 ± 54 mg/kg; tavasz: VO 587 ± 79 mg/kg) és a legkisebb értékeket (össz: HK $34,8\pm 6,5$ mg/kg; tavasz: HK $35,3\pm 5,2$ mg/kg).

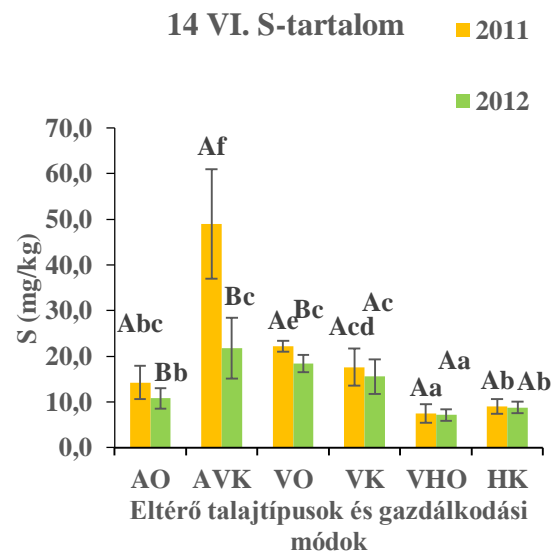
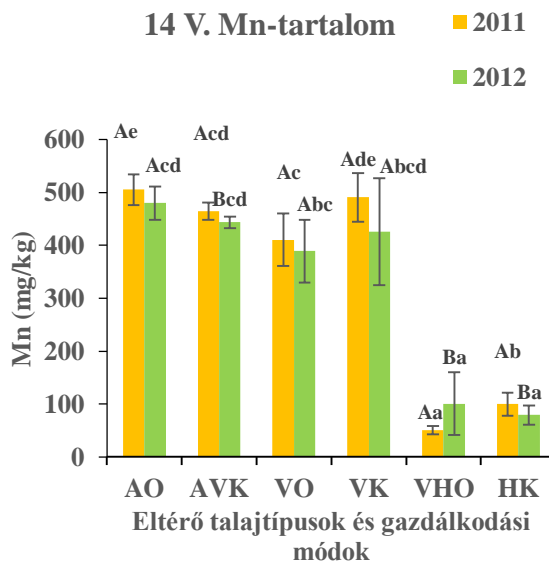
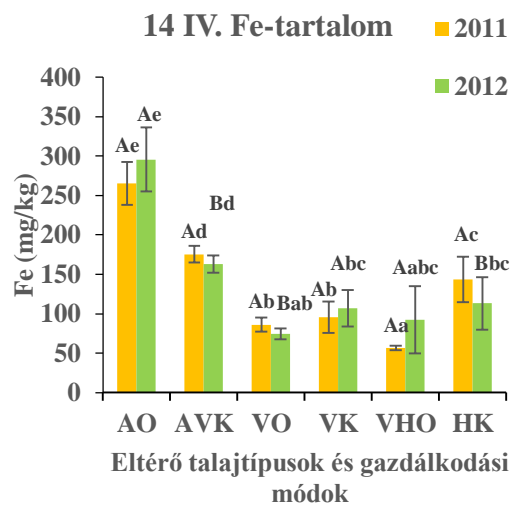
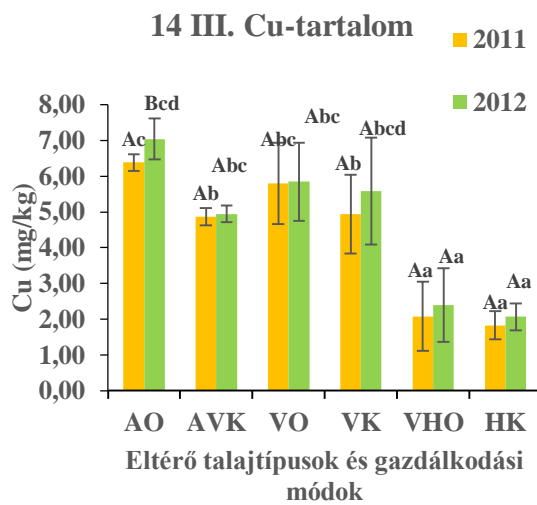
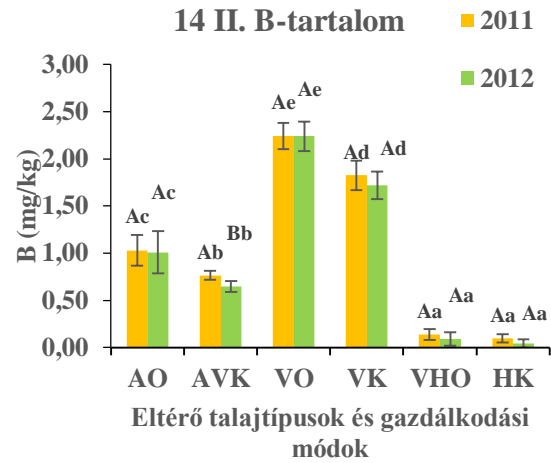
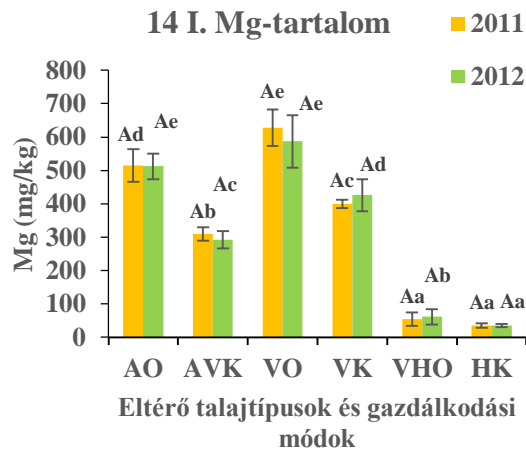
A mikroelemek közül a bór összesítő statisztikai értékelését a **14 II. ábra** szemlélteti, ahol szignifikáns különbséget mértem az évszakok (évszak: $F(1;103)=4,73$; $p\leq 0,001$), a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;103)=4853$; $p\leq 0,001$) esetében. Ehhez képest nem volt szignifikáns eltérés a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója közt (talaj*évszak: $F(1;103)=0,667$; $p=0,667$). A magnéziumhoz tendenciához hasonlóan a két évszakban ugyanaz a talajtípus és gazdálkodási mód adta a legnagyobb (max.: össz: VO $2,24\pm 0,14$ mg/kg; tavasz: VO $2,24\pm 0,16$ mg/kg) és a legkisebb értékeket (min.: össz: HK $0,099\pm 0,045$ mg/kg; tavasz: HK $0,040\pm 0,020$ mg/kg).

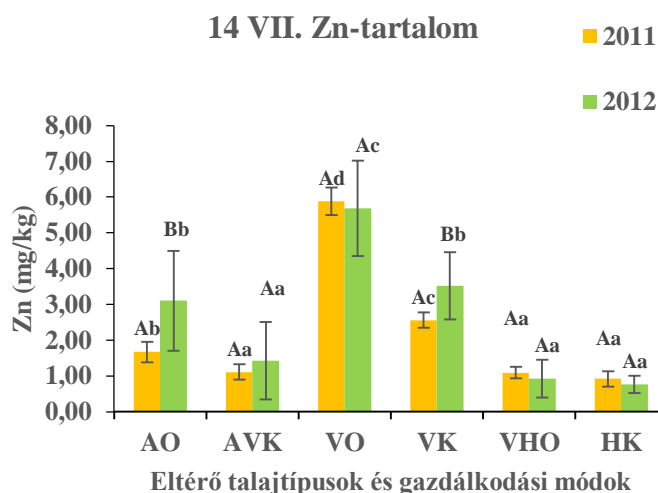
A réz összesítő értékelésekor (**14 III. ábra**) szignifikáns különbséget detektáltam az évszakoknál (évszak: $F(1;128)=5,31$; $p\leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módoknál (talaj: $F(1;128)=121$; $p\leq 0,001$). Ehhez képest nem mutatkozott ilyen eltérés a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;128)=0,583$; $p=0,713$). A legnagyobb és a legalacsonyabb értéket ősszel és tavasszal is ugyanaz a talaj, az AO és a HK szolgáltatja (össz: max.: AO $6,38\pm 0,24$ mg/kg; min.: HK $1,83\pm 0,40$ mg/kg és tavasz: max.: AO $7,04\pm 0,57$ mg/kg; min.: HK $2,07\pm 0,38$ mg/kg).

A vas esetében (**14 IV. ábra**) az évszakokon (évszak: $F(1;118)=0,675$; $p=0,413$) kívül szignifikáns különbséget észleltem a talajtípusok/gazdálkodási módoknál (talaj: $F(1;118)=181$; $p\leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;118)=5,19$; $p\leq 0,001$). Az őszi évszakban a legmagasabb vas értéket az AO talajnál mutattam ki (265 ± 28 mg/kg), a legalacsonyabbat a VHO-nál ($56,6\pm 2,7$ mg/kg). A tavaszi periódus maximális vas eredményeit az őszihez hasonlóan az AO talaj adta (296 ± 41 mg/kg), a legkisebbet pedig a VO ($74,4\pm 7,0$ mg/kg).

A mangántartalom alakulását a **14 V. ábra** szemlélteti, ahol az évszakokon át (évszak: $F(1;118)=4,25$; $p\leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módokon keresztül (talaj: $F(1;118)=354$; $p\leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módok az évszak interakciójáig (talaj*évszak: $F(1;118)=2,83$; $p\leq 0,001$) szignifikáns eltérést mutattam ki. Az őszi évszakban a legmagasabb mangántartalmat az AO talaj biztosította (505 ± 29 mg/kg), a legalacsonyabbat a VHO ($50,8\pm 8,0$ mg/kg). A tavaszi időszakban a legmagasabb mangán értéket az őszihez hasonlóan az AO talajnál mértem (480 ± 31 mg/kg), a legalacsonyabbat pedig a HK eredményezte ($79,5\pm 18,1$ mg/kg).

Az összesített kén tartalom statisztikai értékelését a **14 VI. ábra** mutatja, ahol szignifikáns eltérést tapasztaltam az évszakok (évszak: $F(1;121)=81,8$; $p\leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;121)=122$; $p\leq 0,001$), a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;121)=28,5$; $p\leq 0,001$). A két évszakban ugyanaz a talajtípus és gazdálkodási mód adta a legnagyobb és a legkisebb értékeket (össz: max.: AVK $49,0\pm 12,0$ mg/kg; min.: VHO $7,47\pm 2,00$ mg/kg) (tavasz: max.: AVK $21,8\pm 6,7$ mg/kg; min.: VHO $7,17\pm 1,27$ mg/kg).





Megj.: sárga színkód=2011 őszi talajminták, zöld színkód=2012 tavaszi talajminták, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza).

14. ábra: Az eltérő talajtípusból és gazdálkodási módból származó talajminták összesített mezo- és mikroelemei: (I.) Mg, (II.) B, (III.) Cu, (IV.) Fe, (V.) Mn, (VI.) S, (VII.) Zn értékének az átlaga (mg/kg) és szórása a 2011-es évi és a 2012-es évi (őszi és tavaszi) mintavétel során. Az egyes betűk szignifikánsan különböző csoportokat jelölnek a különböző talajtípusok és gazdálkodási módok esetében. Kisbetűk: az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; nagybetűk: a két évszak közti különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása (Games-Howell post hoc teszt; $p \leq 0,05$).

A cinktartalom összesítő értékelését a **14 VII. ábra** szemlélteti. Szignifikáns különbséget detektáltam az évszakok (évszak: $F(1;118)=6,82$; $p \leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;118)=127$; $p \leq 0,001$), a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;118)=4,23$; $p \leq 0,001$). Mind a két évszakban ugyanaz a talajtípus és gazdálkodási mód adta a legnagyobb és a legkisebb értékeket (ősz: max.: VO $5,88 \pm 0,39$ mg/kg; min.: HK $0,914 \pm 0,209$ mg/kg) (tavasz: max.: VO $5,69 \pm 1,34$ mg/kg; min.: HK $0,763 \pm 0,234$ mg/kg).

4.2. Funkcionális vizsgálatok eredményei

4.2.1. Tenyésztésen alapuló talajmikrobiológiai csíraszámok

Az *Actinomycetes* csíraszámokat tekintve (**15 I. ábra**) szignifikáns eltéréseket találtam az évszakok (évszak: $F(1;128)=252$; $p \leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;128)=91,7$; $p \leq 0,001$), valamint a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;128)=15,2$; $p \leq 0,001$). Ősszel a legmagasabb csíraszám értékeket az AVK talajmintában ($7,91 \pm 0,23$ logCFU/g száraz talaj), míg a legalacsonyabbat a HK esetében mértem ($6,39 \pm 0,20$ logCFU/g száraz talaj). Tavasszal viszont a maximális értéket a VO ($8,39 \pm 0,16$ logCFU/g száraz talaj), a minimumot a VHO prezentálta ($7,33 \pm 0,26$ logCFU/g száraz talaj).

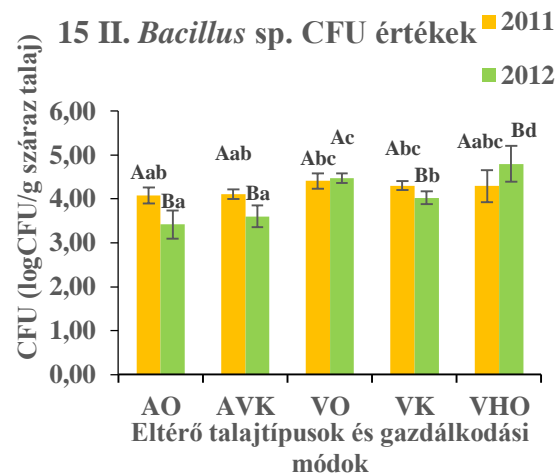
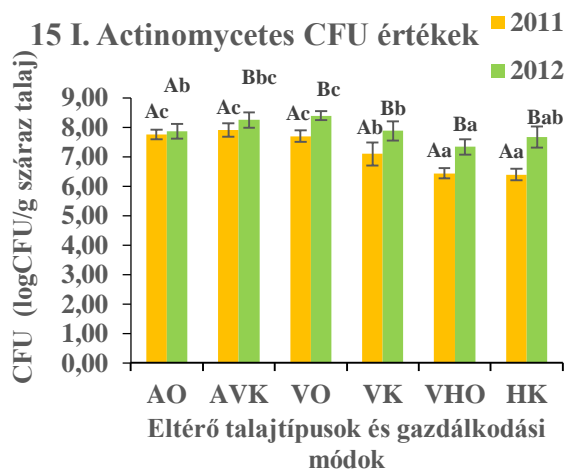
A *Bacillus* sp. csíraszámokat szemlélteti a **15 II. ábra**. Szignifikáns különbséget találtam az évszakok (évszak: $F(1;99)=15,2$; $p \leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj:

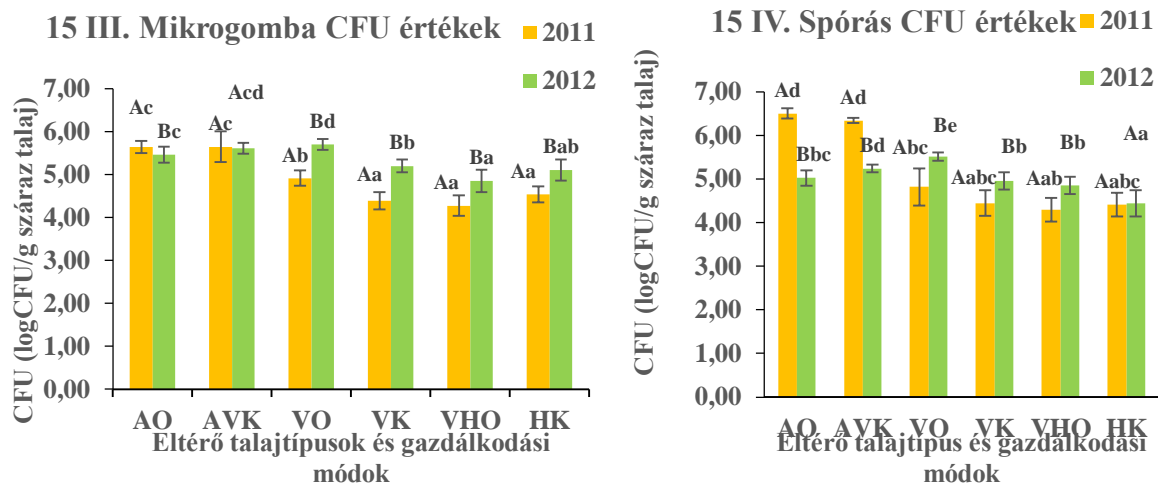
$F(1;99)=48,6$; $p\leq 0,001$), valamint a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;99)=19,7$; $p\leq 0,001$). A HK talaj esetében 1 g talajra vonatkoztatva ősszel és tavasszal is 10^4 csíraszámot detektáltam. A tavaszi esetében a mért $n=2$ adat, nem alkalmas statisztikai elemzésre, így a két év statisztikailag nem összevethető. Az alacsony csíraszám valószínűsíthető oka a savanyú, tápanyagszegény homoktalaj. Az őszi adatok ($n=7$) tekintetében megállapítást nyert, hogy az egyes talaj*gazdálkodási mód közt nem, viszont az eltérő talajok közt szignifikáns eltérés volt tapasztalható ($p\leq 0,001$). Az őszi periódusban a legmagasabb értéket a VO talaj szolgáltatta ($4,41\pm 0,18$ logCFU/g száraz talaj), a legalacsonyabbat pedig az AO ($4,08\pm 0,18$ logCFU/g száraz talaj), míg tavasszal a maximális érték a VHO-hoz ($4,80\pm 0,40$ logCFU/g száraz talaj), a minimum pedig – az ősziével megegyező – az AO-hoz tartozott ($3,41\pm 0,32$ logCFU/g száraz talaj).

A Bengal Rose táptalajon detektált mikrogomba CFU-k esetében (15 III. ábra) az előzőekhez hasonlóan szintén szignifikáns eltéréseket tapasztaltam az évszakok (évszak: $F(1;132)=143$; $p\leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;132)=106$; $p\leq 0,001$), valamint a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója közt (talaj*évszak: $F(1;132)=24,0$; $p\leq 0,001$). Az őszi évszakban a legmagasabb csíraszám értékeket az AO és az AVK együttesen prezentálta ($5,64\pm 0,15/0,36$ logCFU/g száraz talaj), ehhez képest a legalacsonyabbat a VHO adta ($4,27\pm 0,24$ logCFU/g száraz talaj). Tavasszal a VO talaj esetén mértem a maximális értéket ($5,70\pm 0,13$ logCFU/g száraz talaj), a minimumot pedig az ősziével megegyező VHO mutatta ($4,85\pm 0,27$ logCFU/g száraz talaj).

A fentiekhez hasonlóan a spórásoknál (15 IV. ábra) is szignifikáns különbséget detektáltam az évszakok (évszak: $F(1;120)=10,0$; $p\leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;120)=141$; $p\leq 0,001$), valamint a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója közt (talaj*évszak: $F(1;120)=78,9$; $p\leq 0,001$). 2011 őszen a legjelentősebb csíraszám értékeket az AO szolgáltatta ($6,51\pm 0,12$ logCFU/g száraz talaj), míg a legalacsonyabbakat a VHO ($4,30\pm 0,27$ logCFU/g száraz talaj). Ehhez képest a tavaszi évszakban a tendencia következőképpen alakult: max.: VO $5,52\pm 0,10$ logCFU/g száraz talaj, min.: HK $4,45\pm 0,30$ logCFU/g száraz talaj).

A tavaszi mintavétel eredményei tendenciájukat tekintve megegyeznek az őszi mintavétel eredményeivel, de értékükben minden esetben szignifikáns eltérés tapasztalható.





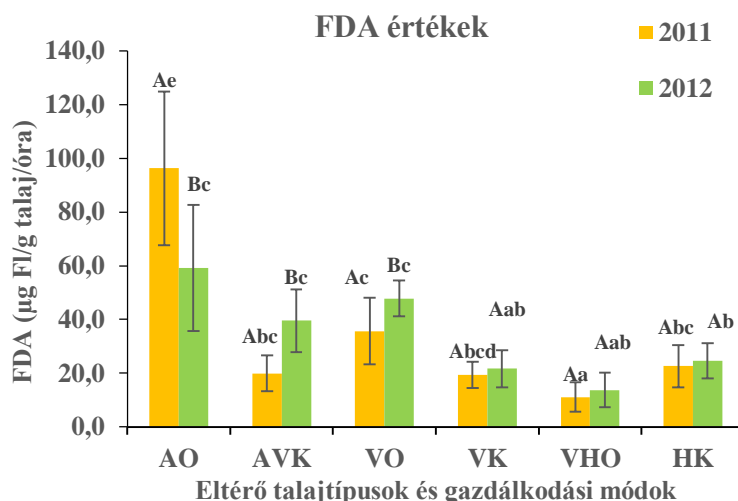
Megi.: sárga színek=2011 őszi talajminták, zöld színek=2012 tavaszi talajminták, CFU=telepképző egység, . O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza).

15. ábra. Az eltérő talajtípusból és gazdálkodási módból származó talajminták összesített (I.) *Actinomyces*, (II.) *Bacillus* sp., (III.) Mikrogomba, (IV.) Spórás CFU értékeinek az átlaga (logCFU/g száraz talaj) és szórása a 2011-es évi és a 2012-es évi (őszi és tavaszi) mintavétel során. Az egyes betűk szignifikánsan különböző csoportokat jelölnek a különböző talajtípusok és gazdálkodási módok esetében. Kisbetűk: az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; nagybetűk: a két évszak közti különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása (Games-Howell post hoc teszt; $p \leq 0,05$).

4.2.2. Talaj enzimaktivitás vizsgálat (FDA)

Az FDA értékeket a **16. ábra** mutatja, ahol szignifikáns eltérést az évszakoknál (évszak: $F(1;127)=0,013$; $p=0,908$) nem, viszont a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;127)=77,2$; $p \leq 0,001$), a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;127)=13,3$; $p \leq 0,001$) igen.

A két évszakban ugyanaz a talajtípus és gazdálkodási mód (AO) adta a legnagyobb (max.: őszi: $96,3 \pm 28,5$ $\mu\text{gFl/g}$ talaj/óra; tavasz: $59,2 \pm 23,4$ $\mu\text{gFl/g}$ talaj/óra) és a legkisebb (VHO) értékeket (min.: őszi: $11,1 \pm 5,4$ $\mu\text{gFl/g}$ talaj/óra; tavasz: $13,8 \pm 6,5$ $\mu\text{gFl/g}$ talaj/óra).



Megj.: sárga színek=2011 őszi talajminták, zöld színek=2012 tavaszi talajminták, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza).

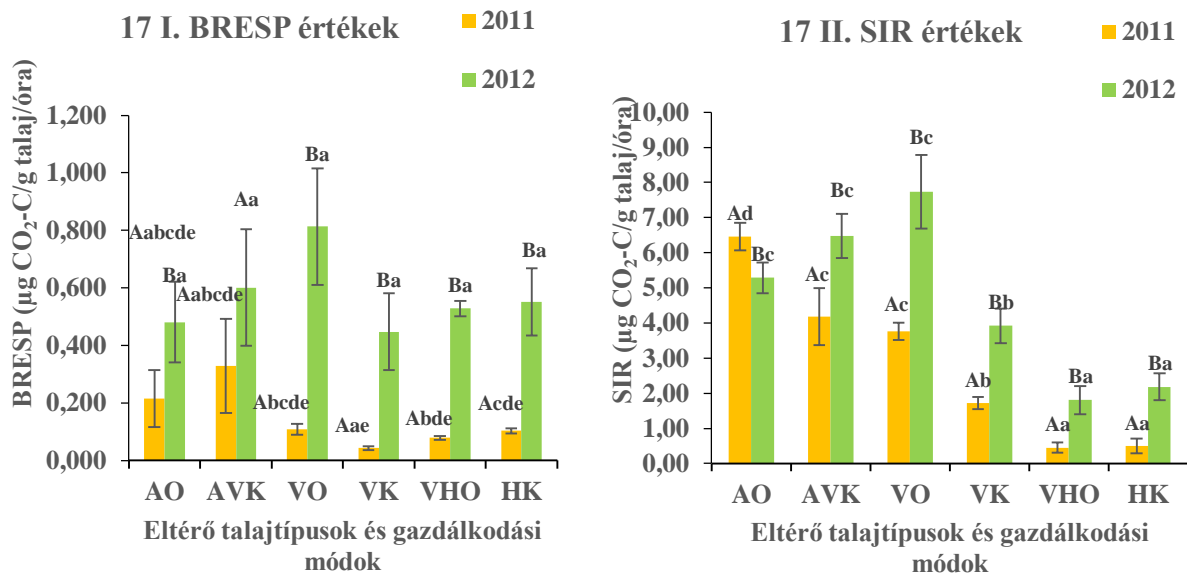
16. ábra. Az eltérő talajtípusból és gazdálkodási módból származó talajminták összesített FDA aktivitásának az átlaga ($\mu\text{gFI/g talaj/óra}$) és szórása a 2011-es évi és a 2012-es évi (őszi és tavaszi) mintavétel során. Az egyes betűk szignifikánsan különböző csoportokat jelölnek a különböző talajtípusok és gazdálkodási módok esetében. Kisbetűk: az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; nagybetűk: a két évszak közti különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása (Games-Howell post hoc teszt; $p \leq 0,05$).

4.2.3. Talajrespirációs vizsgálatok

4.2.3.1. Alap- és szubsztrát-indukált respiráció

Az összesített BRESP értékeket a **17 I. ábra** szemlélteti, ahol szignifikáns eltérést tapasztaltam az évszakok (évszak: $F(1;34)=135$; $p \leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;34)=4,05$; $p \leq 0,001$), a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;34)=3,41$; $p \leq 0,001$). Ősszel a legmagasabb BRESP értéket az AVK ($0,330 \pm 0,163 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) és a legalacsonyabbat a VK talaj adta ($0,044 \pm 0,007 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$). Tavasszal az értékek szignifikánsan nagyobbak voltak (max.: VO $0,814 \pm 0,202 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$; min.: VK $0,448 \pm 0,133 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$).

A SIR értékeket a **17 II. ábra** magyarázza, ahol a BRESP-pel megegyezően szignifikáns eltérést tapasztaltam az évszakok (évszak: $F(1;36)=134$; $p \leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;36)=147$; $p \leq 0,001$), a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;36)=21,3$; $p \leq 0,001$). Az őszi legmagasabb SIR értéket az AO talaj adta ($6,46 \pm 0,39 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$), ehhez képest pedig a legalacsonyabbat a VHO mutatta ($0,45 \pm 0,14 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) értékkel. Tavasszal a legnagyobb SIR aktivitást a VO talaj adta ($7,74 \pm 1,05 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$), a legalacsonyabb értéket az őszi megegyező VHO talaj ($1,81 \pm 0,40 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$).



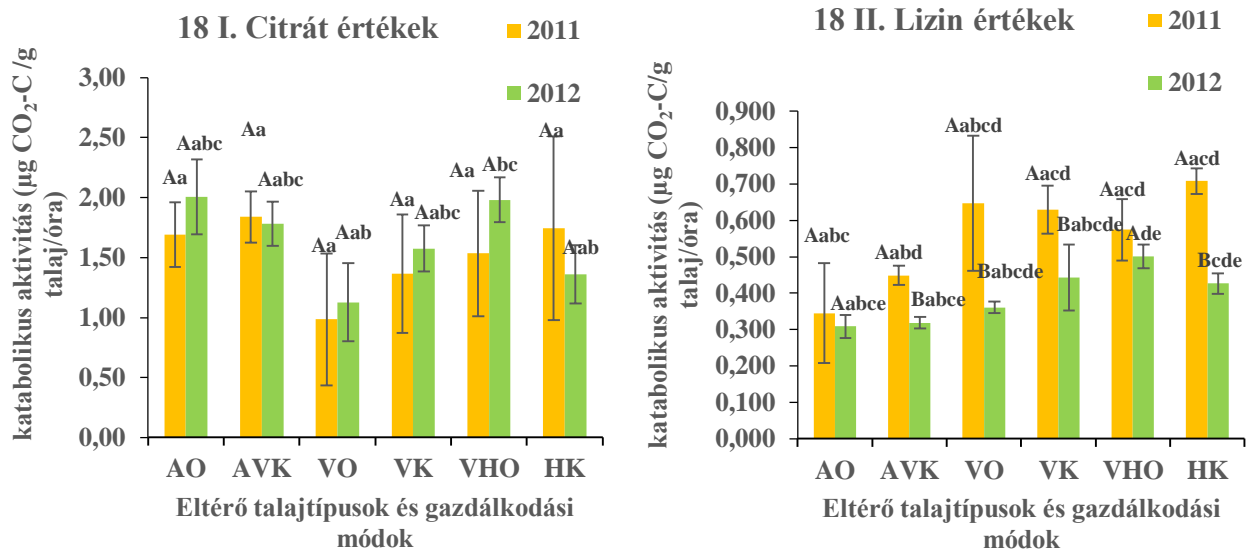
Megj.: sárga színek=2011 őszi talajminták, zöld színek=2012 tavaszi talajminták, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza).

17. ábra. Az eltérő talajtípusból és gazdálkodási módból származó talajminták összesített (I.) BRESP és (II.) SIR értékeinek az átlaga ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) és szórása a 2011-es évi és a 2012-es évi (őszi és tavaszi) mintavétel során. Az egyes betűk szignifikánsan különböző csoportokat jelölnek a különböző talajtípusok és gazdálkodási módok esetében. Kisbetűk: az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; nagybetűk: a két évszak közti különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása (Games-Howell post hoc teszt; $p \leq 0,05$).

4.2.3.2. Mikrospirációs eredmények

A vizsgált 23 szubsztrát összesített katabolikus aktivitása közül a citrát szolgáltatja mind a két évszagnál a legmagasabb értékeket, míg a lizin a legalacsonyabbat. A citrát eredményeket a **18 I. ábra** szemlélteti, ahol szignifikáns eltérést tapasztaltam a talajtípusok/gazdálkodási módoknál (talaj: $F(1;36)=4,51$; $p \leq 0,001$), ellenben az évszakok (évszak: $F(1;36)=0,957$; $p=0,334$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között (talaj*évszak: $F(1;36)=1,11$; $p=0,369$) között nem detektáltam ilyen eltérést. Ősszel a legnagyobb citrátra adott katabolikus aktivitás választ az AVK talaj adta ($1,84 \pm 0,21 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$), míg a legalacsonyabbat a VO nyújtotta ($0,985 \pm 0,550 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$). Tavasszal nagyobb aktivitás detektáltam, ami nem volt szignifikáns. A legnagyobb értéket az AO-nál mértem ($2,01 \pm 0,31 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$), ezzel ellentétben a legalacsonyabbat az őszi megegyező módon a VO szolgáltatja ($1,13 \pm 0,32 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$).

A lizinre adott katabolikus választ a **18 II. ábra** mutatja, ahol szignifikáns eltérést tapasztaltam az évszakok (évszak: $F(1;36)=50,5$; $p \leq 0,001$) a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;36)=11,5$; $p \leq 0,001$), és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója közt (talaj*évszak: $F(1;36)=3,37$; $p \leq 0,001$). Az őszi folyamán a HK talaj mutatta a legnagyobb katabolikus aktivitást ($0,708 \pm 0,035 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$), ezzel szemben a legalacsonyabb értéket pedig az AO nyújtotta ($0,345 \pm 0,137 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$). Ehhez képest a tavaszi időszakban a legnagyobb aktivitással a VHO rendelkezett ($0,501 \pm 0,033 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) és a legalacsonyabbal az AO, az őszi egyező módon ($0,309 \pm 0,032 \mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$).



Megj.: sárga színek=2011 őszi talajminták, zöld színek=2012 tavaszi talajminták, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza). Cit=citromsav, Liz=lizin.

18. ábra. Az eltérő talajtípusból és gazdálkodási módból származó talajminták összesített katabolikus aktivitás értékeinek ((I.) Citrát, (II.) Lizin) az átlaga (µgCO₂-C/g talaj/óra) és szórása a 2011-es évi és a 2012-es évi (őszi és tavaszi) mintavétel során. Az egyes betűk szignifikánsan különböző csoportokat jelölnek a különböző talajtípusok és gazdálkodási módok esetében.

Kisbetűk: az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; nagybetűk: a két évszak közti különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása (Games-Howell post hoc teszt; $p \leq 0,05$).

A **8. táblázat** vastag betűvel jelölt szubsztrátainál jelentkezett szignifikáns eltérés, az egyes évszakok közt négyénél, a talajtípusok/kezelésmódok és az évszak interakciója között esetében háromnál, a talajtípus/kezelésmódoknál nyolc esetben mutattam ki szignifikáns eltérést az összesből.

8. táblázat: Szubsztrátok katabolikus aktivitása az eltérő talajtípusok és gazdálkodási módok alapján

Szubsztrátok	2011		2012		Évszak	Talaj	Talaj*Évszak
	Max	Min	Max	Min			
Ala	VK	AVK	VK	AVK	p=0,098	p≤0,001	p=0,883
Arg	HK	AO	VK	AO	p≤0,001	p≤0,001	p=0,088
Aszp	AVK	HK	VK	HK	p=0,927	p≤0,001	p=0,388
Dhb	HK	VO	HK	VO	p≤0,001	p≤0,001	p=0,322
Fru	VO	HK	VO	VHO	p=0,078	p≤0,001	p=0,147
Glc	AO	VO	VO	VHO	p=0,525	p=0,730	p≤0,001
Ino	HK	VO	VK	AO	p≤0,001	p=0,402	p=0,315
Man	HK	VK	VK	VHO	p≤0,001	p≤0,001	p≤0,001
Szuk	VHO	VK	HK	VK	p=0,089	p≤0,001	p≤0,001
Xil	AO	VHO	AVK	VHO	p=0,108	p≤0,001	p=0,487
Ara	AVK	VK	AVK	VHO	p=0,131	p=0,172	p=0,208
Gal	AVK	HK	AO	VHO	p=0,345	p=0,885	p=0,902
Gls	VHO	HK	VHO	HK	p=0,945	p=0,282	p=0,875
Glut	VHO	VK	HK	AO	p=0,615	p=0,640	p=0,697
Glü	VHO	AVK	AVK/HK	VO	p=0,735	p=0,136	p=0,127
Mal	HK	AVK	VO	VK	p=0,229	p=0,187	p=0,286
Mat	VO	HK	HK	AVK	p=0,255	p=0,139	p=0,084
Ram	HK	VK	AO	VO	p=0,059	p=0,641	p=0,406
Szor	VK	VO	VHO	AO	p=0,243	p=0,377	p=0,446
Tre	HK	AO	VO	AO	p=0,134	p=0,073	p=0,945

Megi.: Gal=galaktóz; Tre=trehalóz; Ara=arabinóz; Glc=glukóz; Fru=fruktóz; Mal=almasav; Szuk=Na-szukcinát; Ala=alanin; Glut=glutamin; Arg=arginin; Dhb=3,4-dihidroxi-benzoészav; Gls=glutamin sav; Ino=mio-inozitol; Xil=xilóz; Mat=mannitol; Man=mannóz; Szor=szorbitól; Ram=ramnóz; Aszp=aszparagin-monohidrát; Glü=D-glükonsav-kálium, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza); Szignifikancia=az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; a két évszak közti különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása, talajtípusok/gazdálkodási módok az évszak interakciója (Games-Howell post hoc teszt; p≤0,05, Max=legnagyobb katabolikus aktivitással rendelkező talaj, Min=legkisebb katabolikus aktivitással rendelkező talaj.

4.3. A főbb talajfizikai, -kémiai és -mikrobiológiai paraméterek közti összefüggések

A főbb talajfizikai, -kémiai és -mikrobiológiai paraméterek közti összefüggés-jellemzés a Pearson-féle korrelációs együttható értékkel történt. Ősszel (M7A.) a legerősebb szignifikáns összefüggést ($r=0,937$) (ref.: nagyon erős korreláció tartomány $r=0,80-1,00$) a szerves szén (%) és a SIR ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$), valamint a humusztartalom (%) és a SIR ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) közt volt. Ez a tendencia annak köszönhető, hogy a humusztartalom a szerves szén értékből lett kalkulálva, ezt mutatja a köztük lévő korreláció is ($r=0,999$). Míg a sorban a leggyengébb korrelációt ($r=-0,514$) (ref.: közepes korreláció tartomány $r=0,40-0,59$) a $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ és a citrát szubsztrát-katabolikus aktivitása ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) közt tapasztaltam.

Tavasszal (M7B.) a legerősebb korreláció a $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ és az AL-Na (mg/kg) közt mutatkozott ($r=0,871$) (ref.: nagyon erős korreláció tartomány $r=0,80-1,00$). Ezzel szemben a legalacsonyabb szignifikáns összefüggést a BRESP ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) és a citrát szubsztrát-katabolikus aktivitása ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) között detektáltam ($r=-0,462$) (ref.: közepes korreláció tartomány $r=0,40-0,59$).

A fenti paraméterekre az ún. RV koefficiens segítségével multikritériumos összehasonlítást végeztem el az őszi (A mátrix) és a tavaszi (B mátrix) évszakokra. Eredményül

azt kaptam, hogy a két évszak (mátrix) változók közti korrelációs hasonlósága szignifikáns ($p < 0,001$).

4.4. Tenyésztéstől független talajmikrobiális-közösség diverzitása

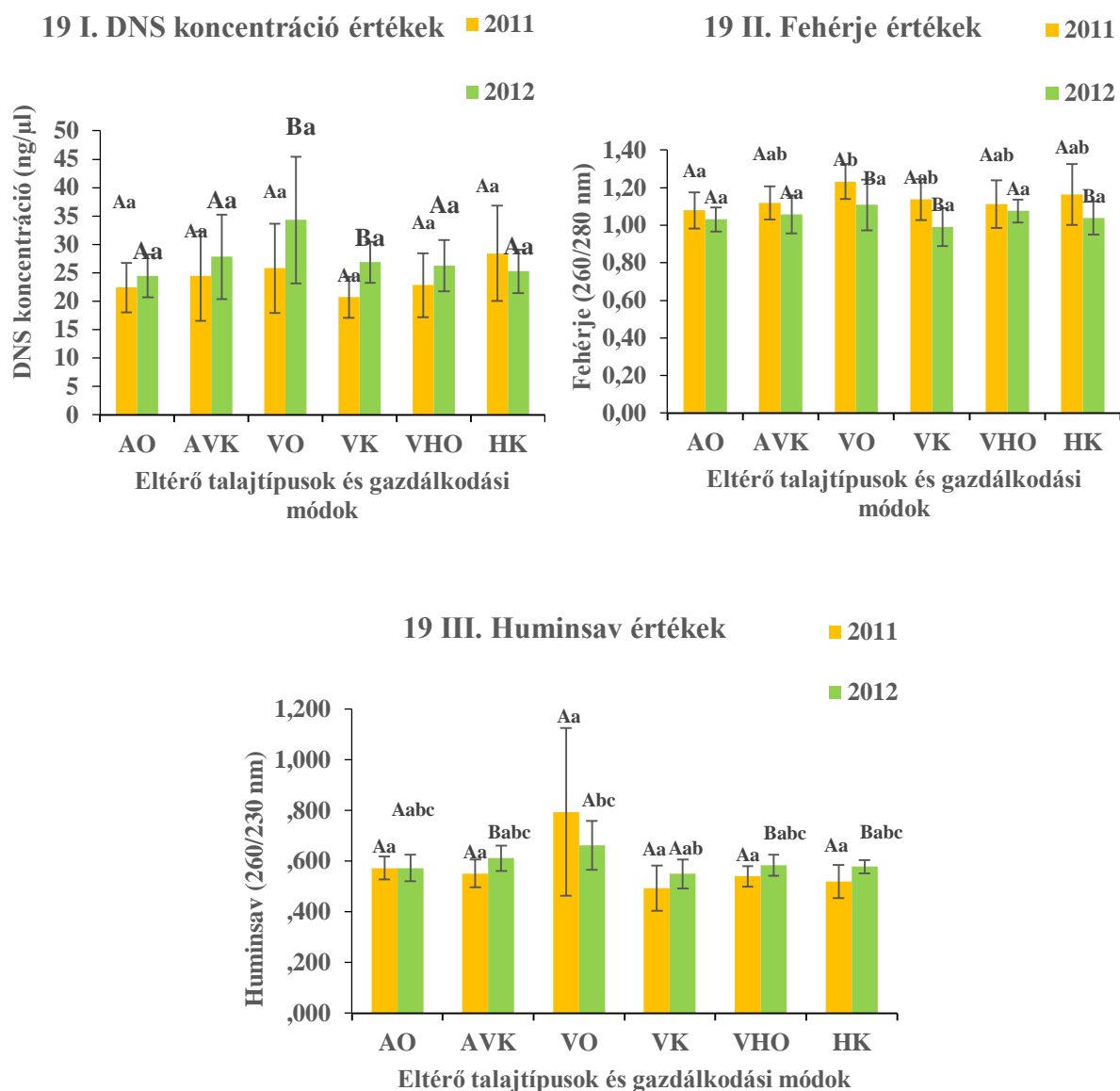
4.4.1. Talajbaktérium nukleinsav-izolálás mennyiségi és minőségi paraméterei

A DNS koncentráció tekintetében (**19 I. ábra**) elmondható, hogy az évszakok (évszak: $F(1;130)=9,84$; $p \leq 0,001$), a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;130)=3,44$; $p \leq 0,001$) közt szignifikáns eltérést mértem, míg a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója közt nem (talaj*évszak: $F(1;130)=2,24$; $p=0,054$). Az őszi időszakban a legmagasabb nukleinsav koncentráció a HK talajhoz társult ($28,4 \pm 8,4$ ng/ μ l), ehhez képest a legalacsonyabb értéket a VK szolgáltatva ($20,7 \pm 3,6$ ng/ μ l) értékkel. Tavasszal viszont a legjobb eredmény a VO-nál volt detektálható ($34,3 \pm 11,1$ ng/ μ l), a minimum pedig az AO esetében volt mérhető ($24,5 \pm 3,8$ ng/ μ l).

A fehérjetartalom esetében (**19 II. ábra**) megállapítható, hogy az évszakok (évszak: $F(1;132)=25,7$; $p \leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;132)=3,58$; $p \leq 0,001$) közt szignifikáns eltérést mutattam ki, ezzel szemben a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között nem (talaj*évszak: $F(1;132)=1,15$; $p=0,336$). Ősszel a legtisztább fehérjetartalmú minta a VO-nál mutatkozott ($1,23 \pm 0,09$ 260/280 nm, ref.: $>1,8$; 260/280 nm), a legszennyezettebbet az AO esetében detektáltam ($1,08 \pm 0,10$ 260/280 nm). A tavaszi periódus során az őszihez hasonlóan a VO adta a legtisztább értéket ($1,11 \pm 0,14$ 260/280 nm), míg a legszennyezettebbet a VK ($0,992 \pm 0,101$ 260/280 nm) nyújtotta.

A huminsavnál (**19 III. ábra**) látható, hogy az évszakok (évszak: $F(1;132)=0,646$; $p=0,423$) közt nem, viszont a talajtípusok/gazdálkodási módok (talaj: $F(1;132)=10,3$; $p \leq 0,001$) és a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között szignifikáns eltérést mértem (talaj*évszak: $F(1;132)=2,73$; $p \leq 0,001$). A két évszakban detektált legtisztább és legszennyezettebb talajok megegyeztek (ősz: max.: VO $0,793 \pm 0,330$ 260/230 nm (ref.: >2 260/230 nm)); min.: VK $0,493 \pm 0,088$ 260/230 nm; tavasz: max.: VO $0,663 \pm 0,096$ 260/230 nm, min.: VK $0,549 \pm 0,057$ 260/230 nm).

Összességében a tavaszi VO talaj rendelkezett a legnagyobb DNS koncentrációval, melyhez a mindkét évszakban mért legjobb fehérje- és huminsav-mutatók tartoztak. Illetve a legalacsonyabb nukleinsav koncentrációhoz (ősszel a VK $20,7 \pm 3,6$ ng/ μ l) a legszennyezettebb fehérje- (ősz AO $1,08$ 260/280 nm) és huminsav-értékek (ősz VK $0,493 \pm 0,088$ 260/230 nm) köthetők (**19 I-III. ábra**).



Megj.: sárga színek=2011 őszi talajminták, zöld színek=2012 tavaszi talajminták, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza).

19. ábra. Az eltérő talajtípusból és gazdálkodási módból származó talajminták összesített nukleinsav mennyiségi és minőségi paramétereinek I, DNS koncentráció átlaga (ng/μl) és szórása, II, Fehérje értékek átlaga (260/280 nm) és szórása, III, Huminsav értékek átlaga 260/230 nm) és szórása a 2011-es őszi és a 2012-es tavaszi év során. Az egyes betűk szignifikánsan különböző csoportokat jelölnek a különböző talajtípusok és gazdálkodási módok esetében.

Kisbetűk: az egyes évszakokon belüli különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása; nagybetűk: a két évszak közti különböző talajtípusok és gazdálkodási módok összehasonlítása (Games-Howell post hoc teszt; $p \leq 0,05$).

4.4.2. Két évszakos DNS-izolálás mennyiségi és minőségi paramétereinek több szempontot egyszerre figyelembe vevő komplex kiértékelése

A kiinduló adattábla (**9. táblázat**) oszlopaiban az eltérő talajtípusok és gazdálkodási módok, a sorokban az izolált nukleinsavak mennyiségi és minőségi mutatói találhatóak. A vizsgált két évszak DNS-mutatói alapján létrehoztam az elméletileg legjobban teljesítő talajtípust és művelésmódot, aminek az értékei a referencia oszlopban (Max) láthatóak. A legjobb értékeket a legnagyobb értékek mutatják. Ez a referencia oszlop az összehasonlítás alapját adja.

9. táblázat: Az SRD-elemzéshez a bemenő adatok mátrixa négyzetgyökös transzformációt, normalizációt követően

Talaj DNS-mutatók	Eltérő talajtípusok és művelésmódok						
	VO	VK	AO	AVK	VHO	HK	Max
CC 2011	5,07	4,54	4,72	4,93	4,77	5,33	5,33
HS 2011	0,890	0,702	0,756	0,742	0,734	0,720	0,890
FEH 2011	1,11	1,06	1,03	1,05	1,05	1,07	1,11
CC 2012	5,85	5,10	4,94	5,27	5,12	5,02	5,85
HS 2012	0,813	0,741	0,756	0,782	0,764	0,760	0,813
FEH 2012	1,05	0,995	1,01	1,02	1,03	1,01	1,05

Megj.: CC=DNS koncentráció, HS=huminsavtartalom, FEH=fehérjetartalom, 2011=őszi minták, 2012=tavaszi minták, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza).

Az oszlopokban az eltérő talajtípusok és gazdálkodási módok találhatóak, a sorokban a két évszak izolált nukleinsavak mennyiségi és minőségi mutatói. A vizsgált eltérő talajtípusok és gazdálkodási módok DNS mennyiségi és minőségi mutatói alapján az elméletileg legjobban teljesítő talaj értékeit mutatja a referencia oszlop (félkövér betűtípussal jelölve (Max)).

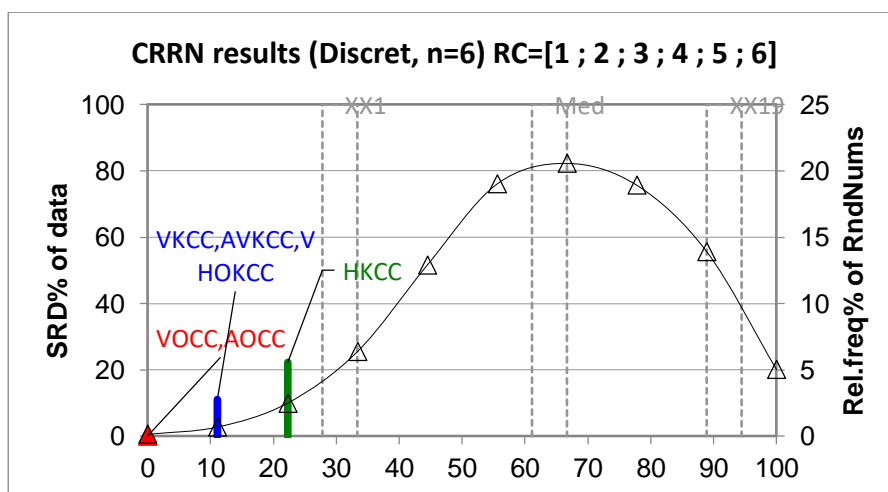
A fenti bemenő adattáblára (**9. táblázat**) futtattam le az SRD statisztikai módszert. A kapott DNS-izolálási módszer hatékonysági rangsor azt mutatja, hogy az egyes évszakok és talajminták nukleinsav-mutatói mennyiben térnek el az egyes évszakok és talajminták nukleinsav-mutatói alapján létrehozott elméleti legjobbtól. Egy DNS-mutató minél közelebb van a legjobb mutatóhoz (zérus ponthoz), annál hatékonyabb a teljesítménye. Az eredmények alapján az egyes évszakok és talajminták nukleinsav-mutatói csoportokba sorolhatók. A legjobb DNS-kihozatalt a VO és az AO adta, a második leghatékonyabb csoportot a VK, AVK és a VHO, míg a legkevésbé hatékony a HK volt (**10. táblázat**).

10. táblázat: Klaszterekbe sorolt két évszakos DNS-izolálás mennyiségi és minőségi paramétereinek az SRD-rangsora

<i>Eredmények sorrendje</i>		<i>p %</i>		<i>Max SRD=18</i>
<i>Talajminta</i>	<i>SRD</i>	<i>x<SRD>=x</i>		<i>SRDnorm</i>
VO CC	0	0	0,14	0
AO CC	0	0	0,14	0
VK CC	2	0,14	0,83	11,11
AVK CC	2	0,14	0,83	11,11
VHO CC	2	0,14	0,83	11,11
HK CC	4	0,84	3,31	22,22
XX1	6	3,36	9,68	-
Q1	10	22,7	41,5	-
Med	12	41,7	62,1	-
Q3	14	62,2	81,0	-
XX19	17	94,9	95,0	-

Megj.: a félkövérrel jelzett módszerek az eljárás szignifikánságát jelöli ($p=0,05$).

A 10. táblázatban lévő XX1 az 5%-os, a Q1 az 25%-os, a Med az 50%-os, a Q3 a 75%-os, az XX19 a 95%-os percentilist jelzi. Mivel a különböző DNS-izolálási módokhoz tartozó számított SRDnorm-érték kisebb, mint a véletlen értékelés eloszlásához tartozó (5%-os percentilishoz (XX1) tartozó) elméleti valószínűségi érték, ezért szignifikánsnak kell venni minden rázatási módszer ezen nukleinsav mennyiségi és minőségi mutatói alapján vett rangsorolását 5%-os szignifikancia szinten. Az SRD oszlopa mutatja az összegzett abszolút ragszámkülönbségeket (SRD-értékeket) az egyes DNS-izolálási módokra. A p% oszlop két valószínűségi értéke pedig az eloszlás diszkrét jellegéből kifolyólag, az egyik az 5%-os érték alatt, míg a másik felette van. Az (20. ábra) szemlélteti a grafikusan ábrázolt eredményeket.



20. ábra. Az SRDnorm-értékek alapján vett leghatékonyabb talajtípusok és gazdálkodási módok DNS-izolálási módszerének a rangsora

4.4.3. Talajbaktérium nukleinsav-izolálás módszertani fejlesztése

11. táblázat: Mennyiségi és minőségi mutatók javítására irányuló módszertani fejlesztés az organikus vályog talajból történő DNS-izolálás során

Rázatások	DNS koncentráció					
	TrayCell®		NanoDrop™		TrayCell®	NanoDrop™
	Max	Min	Max	Min	Szignifikancia	
	(perc)					
BB	3 ^I	5	3	5	p=0,177	p≤0,001
FP	5	1	5 ^{II}	3	p=0,751	p=0,525
PV	1	5	1 ^{II}	10	p=0,635	p=0,322
ZX	10	5	10 ^{II}	1	p=0,459	p=0,218
	Fehérjetartalom					
BB	3	5	3 ^I	5	p≤0,001	p≤0,001
FP	5	1	5 ^{II}	1	p=0,484	p=0,930
PV	1	5	1 ^{II}	5	p=0,650	p=0,417
ZX	10	1	10 ^{II}	5	p=0,251	p=0,229
	Huminsavtartalom					
BB	3	5	3 ^I	5	p=0,077	p≤0,001
FP	3	1	5 ^{II}	1	p=0,478	p=0,748
PV	10	5	1 ^{II}	5	p=0,814	p=0,445
ZX	10	5	10 ^{II}	5	p=0,083	p≤0,001

Megi.: Max=maximális hozamot adó rázatási időtartalom (perc), Min=minimális hozamot adó rázatási időtartalom (perc), BB=sejtmalom (Beadbeater), FP=FastPrep homogenizáló, PV=Pulsing Vortex, horizontális rázó, ZX=asztali vortex, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza); Szignifikancia=az egyes rázatási módoként a rázatási percek közti szignifikáns eltérés.^I=összesítve a leghatékonyabb rázatási mód (perc), ^{II}=leghatékonyabb rázatási mód/rázatógép (perc).

Az SRD elemzés tükrében a VO talajtípus teljesített a legjobban (**10. táblázat**) a nukleinsav mennyiségi és minőségi paraméterek esetében, ezért erre a talajmintára alapozva végeztem el egy módszertani fejlesztést, mely a mennyiségi és minőségi mutatók javítására irányult a DNS-izolálás során. A DNS mennyiségi és minőségi mutatói a VO talajtípuson (**11. táblázat**) heterogén tendenciát mutat, attól függően, hogy melyik a leghatékonyabb és a legkevésbé hatékony 3-féle rázatási időtartam, a 4-féle rázóberendezés és a 2-féle spektrofotométer szerint. A **11. táblázat** alapján a leghatékonyabb rázatási módokat félkövér betűtípussal jelöltem, ahol a vizsgált nukleinsav paraméterek tekintetében szignifikáns eltérés mutatkozott a többi tesztelt időtartalomhoz képest.

A legsikeresebb rázást a sejtmalom készülék szolgáltatta, 3 perces rázatási idővel, ennél mind a nukleinsav koncentráció (TrayCell® mikrokvettával mért 51,5±23,0 ng/μl), mind a minőségi paraméterek (NanoDrop™-el detektált huminsav-érték 0,638±0,021 260/230 nm; (NanoDrop™) fehérjetartalom 1,20±0,04 260/280 nm) is a legjobbnak bizonyultak.

Ezzel szemben a legalacsonyabb értékeket a Pulsing Vortex rázó berendezés eredményezte az 5 perces időtartalommal (TrayCell® mikrokvettával mért: DNS koncentráció 10,8±3,5 ng/μl; huminsavtartalom 0,140±0,035 260/230 nm; detektált fehérje-érték 0,586±0,080 260/280 nm).

A **12. táblázat** alapján eredményei szerint kibővíttem a kísérletet 3-féle talajtípusra (AO, VHO, VO). A 4-féle rázóberendezés ugyanaz volt (BB, FP, PV, ZX), ahol TrayCell® mikrokvetta és NanoDrop™ spektrofotométerrel teszteltem a paramétereket, hogy melyik talajtípus a leghatékonyabb. Rázatási időtartalomnak a **11. táblázatban** mért leghatékonyabb percek /rázógép tekintetem.

12. táblázat: Mennyiségi és minőségi mutatók javítására irányuló módszertani fejlesztés különböző talajtípusokból történő DNS-izolálás során

DNS koncentrációk							
Rázatások	TrayCell®		NanoDrop™		TrayCell®	NanoDrop™	
	perc	Max	Min	Max	Min	Szignifikancia	
BB	3	VO	AO	VO	VHO	p=0,135	p≤0,001
FP	5	AO	VO	AO	VO	p=0,132	p≤0,001
PV	1	VHO	VO	VO	AO	p≤0,001	p≤0,001
ZX	10	VHO	VO	AO	VO	p≤0,001	p=0,692
Fehérjetartalmak							
BB	3	VHO	VO	VO	VHO	p=0,983	p=0,329
FP	5	AO	VO	AO	VO	p=0,460	p=0,313
PV	1	VHO	VO	VO	VHO	p≤0,001	p=0,443
ZX	10	VHO	VO	VO	AO	p≤0,001	p=0,493
Huminsavtartalmak							
BB	3	VHO	VO	VO	VHO	p≤0,001	p=0,160
FP	5	VHO	AO	VHO	VO	p≤0,001	p≤0,001
PV	1	VHO	VO	VHO	AO	p≤0,001	p≤0,001
ZX	10	VHO	VO	AO	VO	p≤0,001	p≤0,001

Megj.: Max=maximális hozamot adó talajtípus, Min=minimális hozamot adó talajtípus, BB=sejtmalom (Beadbeater), FP=FastPrep homogenizáló, PV=Pulsing Vortex, horizontális rázó, ZX=asztali vortex, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza), Szignifikancia=az egyes rázósi módoként a tesztelt talajtípusok közti szignifikáns eltérés.

A **12. táblázat** alapján a módszertani fejlesztéssel kapott összesített legmagasabb DNS koncentrációt a 10 perces rázóással végzett vortex adta VHO talajon ($64,5 \pm 14,2$ ng/ μ l) TrayCell® spektrofotométerrel mérve, míg a legalacsonyabbat a Pulsing Vortex 1 perces rázóása mutatta az AO talajon ($7,58 \pm 2,03$ ng/ μ l) NanoDrop™ készülékkel mérve.

Az összesített huminsavtartalom a következőképpen alakult, a FastPrep rázóatókészülék 5 perces homogenizálással NanoDrop™ készülékkel mérve eredményezte a VHO talaj esetében a legtisztább értéket ($1,77 \pm 0,34$ 260/230 nm), ehhez képest a legalacsonyabbat pedig a Pulsing Vortex adta VO talajon 1 perccel (TrayCell® mikroküvétával mérve) $0,164 \pm 0,011$ 260/230 nm. Ez utóbbi módszer eredményezte a legalacsonyabb talaj DNS koncentrációt, mely oka lehet a kedvezőtlen huminsav tartalomnak. Mivel a humuszanyagokban gazdag vályogtalaj magas huminsav tartalma gátolhatja az eredményes DNS izolálást.

A legtisztább fehérjetartalmat az összesítő értékelés alapján az 5 perces AO talaj adta NanoDrop™ készülékkel mérve ($1,64 \pm 0,52$ 260/280 nm), míg a legalacsonyabb értéket a Pulsing Vortex eredményezte 1 perces rázóás során TrayCell® mikroküvétával mérve ($0,652 \pm 0,127$ 260/280 nm).

A **12. táblázat**ból megállapítható, hogy szignifikáns eltérés mutatkozott az egyes talajtípusok izolált nukleinsav paraméterei között az egyes spektrofotométereket alkalmazva (félkövér betűtípussal jelölt a **12. táblázat**ban). Ez alól teljes kivételt a NanoDrop™ készülékkel mért fehérjetartalmak jelentettek, ahol szignifikáns eltérés nem mutatkozott.

4.4.4. A talaj DNS-izolálási módszertan nukleinsav mennyiségi és minőségi mutatóinak több szempontot egyszerre figyelembe vevő komplex kiértékelése

A fent ismertetett talajbaktérium nukleinsav-izolálás módszertani fejlesztés (11., 12. táblázat) adataira korrelációs elemzést hajtottam végre. A bemenő adattábla (M8. melléklet) oszlopaiban az egyes rázató berendezések, a rázatási időtartamok és a talajtípusok találhatóak, a sorokban az izolált nukleinsavak mennyiségi és minőségi mutatói. A vizsgált különféle rázató berendezések, a rázatási időtartamok, a talajtípusok teljesítményei és DNS-mutatói alapján létrehoztam az elméletileg legjobban teljesítő módszert, aminek az értékei a referencia oszlopban (Max) láthatóak. A legjobb értékeket a legnagyobb értékek mutatják. Ez a referencia oszlop az összehasonlítás alapjául szolgál. A fenti bemenő adattáblára futtattam le az SRD statisztikai módszert. A kapott rázatási módszer hatékonysági rangsor azt mutatja, hogy az egyes rázatási módok nukleinsav mutatói mennyiben térnek el az egyes rázatási módok legjobb nukleinsav mutatói alapján létrehozott elméleti leghatékonyabb rázatási módszertől. Egy rázatási módszer minél közelebb van a legjobb mutatóhoz (zérus ponthoz), annál hatékonyabb a teljesítménye. Az eredmények alapján az egyes rázatási módok csoportokba sorolhatók. A legjobb rázatási módszerek: a 10 perces vortexes rázatás AO és VHO talajjal. A második leghatékonyabb csoportot a 10 perces vortexes rázatás nyújtotta VO talajon, a 3 perces sejtmalom AO talajon és az 1 perces Pulsing Vortex AO és VHO talajokon, a legkevésbé hatékony pedig az 5 perces vortex rázatás volt VO talajon (13. táblázat).

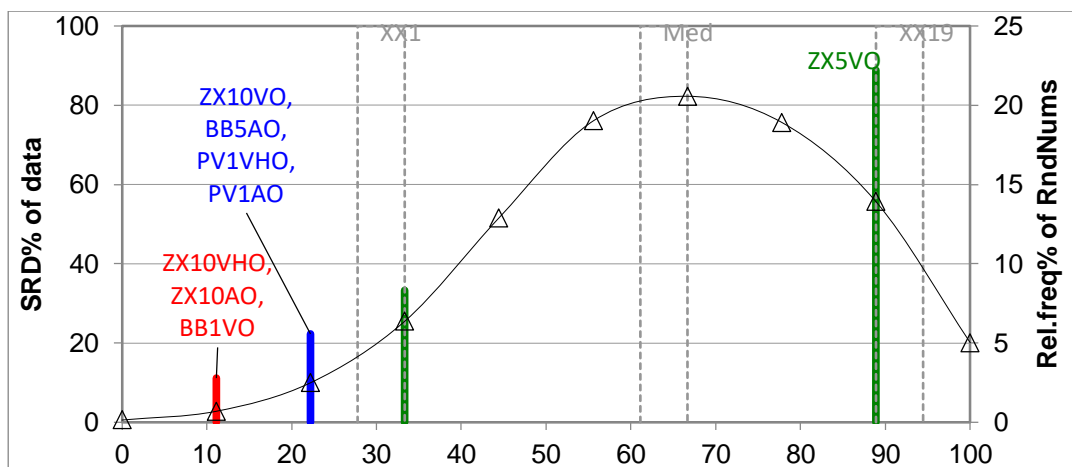
13. táblázat: Klaszterekbe sorolt talaj DNS-ráztatási módszerek SRD-rangsora

<i>Eredmények sorrendje</i>	<i>p %</i>	<i>Max SRD=18 SRDnorm</i>		
<i>Ráztatási mód</i>	<i>SRD</i>	<i>x < SRD > =x</i>		
ZX 10 VHO	2	0,14	0,83	11,1
ZX 10 AO	2	0,14	0,83	11,1
BB 1 VO	2	0,14	0,83	11,1
ZX 10 VO	4	0,84	3,31	22,2
BB 3 AO	4	0,84	3,31	22,2
PV 1 VHO	4	0,84	3,31	22,2
PV 1 AO	4	0,84	3,31	22,2
BB 5 VO	6	3,36	9,68	33,3
BB 5 VHO	6	3,36	9,68	33,3
XX1	6	3,36	9,68	-
BB3VO	8	9,77	22,5	44,4
FP3VO	8	9,77	22,5	44,4
ZX1VO	9	22,5	22,7	50,0
FP1VO	10	22,7	41,5	55,5
FP5VO	10	22,7	41,5	55,5
FP3VHO	10	22,7	41,5	55,5
FP3AO	10	22,7	41,5	55,5
PV1VO	10	22,7	41,	55,5
PV5VO	10	22,7	41,59	55,5
PV10VO	10	22,7	41,5	55,5
Q1	10	22,7	41,5	-
Med	12	41,7	62,1	-
Q3	14	62,2	81,0	-
ZX5VO	16	81,1	94,9	88,8
XX19	17	94,9	95,0	-

Megj.: BB=sejtmalom (Beadbeater), FP=FastPrep homogenizáló, PV=Pulsing Vortex, horizontális rázató, ZX=asztali vortex, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj

(Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza); 1, 3, 5, 10=rázatási időtartalmak (perc). A félkövérrel jelzett módszerek az eljárás szignifikánságát jelöli ($p=0,05$).

A **13. táblázatban** lévő XX1 az 5%-os, a Q1 az 25%-os, a Med az 50%-os, a Q3 a 75%-os, az XX19 a 95%-os percentilist mutatja. Mivel a különböző DNS-rázatási módokhoz tartozó számított SRDnorm érték kisebb, mint a véletlen értékelés eloszlásához tartozó (5%-os percentilishoz (XX1) tartozó) elméleti valószínűségi érték, ezért szignifikánsnak kell venni minden rázatási módszer ezen nukleinsav mennyiségi és minőségi mutatói alapján vett rangsorolását 5 %-os szignifikancia szinten. Az SRD-oszlopa mutatja az összegzett abszolút ragszámkülönbségeket (SRD-értékeket) az egyes rázatási módokra. A p% oszlop két valószínűségi értéke pedig az eloszlás diszkrét jellegéből kifolyólag, az egyik az 5%-os érték alatt, míg a másik felette van. A **(21. ábra)** szemlélteti a grafikusán ábrázolt eredményeket.



21. ábra. Az SRDnorm értékek alapján vett leghatékonyabb talaj DNS-izolálási módszerek rangsora

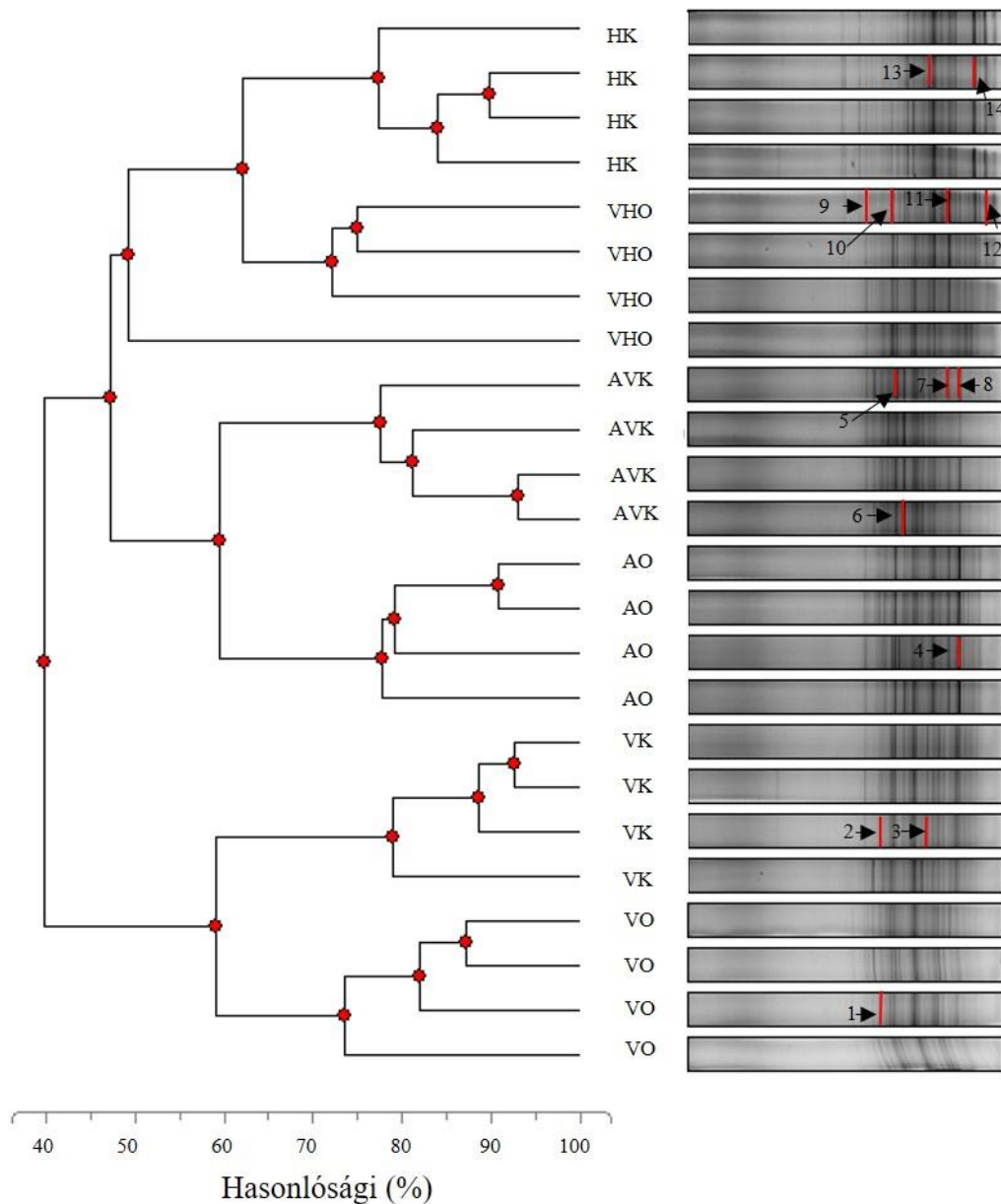
4.4.5. Talajmikrobiális-közösség kimutatása PCR- és nested-PCR reakcióval

A talajbaktériumokat nested-PCR-rel (univerzális és α -proteobaktérium) mutattam ki, a várt 500 bp-os PCR-termékeket kaptam (**M9. melléklet**) a tavaszi mintákra. A *nifH* gének esetében a keresett 457 bp-os terméket kaptam a fenti mintákra (**M10. melléklet**). Az egyes reakcióknál a negatív kontroll tiszta volt, így ezzel bizonyítottam, hogy nem történt esetlegesen bevitt szennyezés a PCR-elegybe. Az izolált nukleinsavak fehérje- és huminsavtartalma ugyan a referencia értéken alul maradt, de ez nem gátolta a PCR-reakciót.

4.4.6. Denaturáló gradiens gélelektroforézis (DGGE)

A DGGE gélmintázat alapján az α -proteobaktérium-közösségek elkülönülést mutatnak az eltérő talajtípus és a kétféle gazdálkodási mód alapján (**22. ábra**). Az első csoportot (40 % hasonlóság) a vályogtalajok, míg a másodikat (47 %) az agyag és a homoktalajok szolgáltatják. A legkisebb heterogenitással a vályog talaj rendelkezett, míg a legnagyobbal a VHO talaj. Az organikus és a konvencionális talajok közösségalkotói eltérő csoportokba különülnek 60-65 %-os hasonlósági szinten. A DGGE sávmintázatot tekintve a bakteriális diverzitási indexek egymástól szignifikánsan nem különböztek ($H' p=0,252$, $E' p=0,498$). De ennek ellenére a konvencionális gazdálkodású talajok rendelkeztek a legnagyobb bakteriális diverzitással, szemben az

organikus. A legdiverzebb talajtípussal a HK talaj rendelkezett ($H'=2,82$; $E=0,89$; $R=23$). A legkisebb diverzitást az AO adta ($H'=2,46$; $E=0,87$; $R=17$), azonban az AVK ennél magasabb értéket mutatott ($H'=2,65$; $E=0,87$; $R=20$). A vályog talaj közepes diverzitás indexekkel rendelkezett a VK-ra ($H'=2,68$; $E=0,89$; $R=19$) és a VO-ra ($H'=2,59$; $E=0,87$; $R=19$).



Megj.: O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza), Hasonlóság (%)=megegyező bázisok száma/a teljes átfedő szekvencia hossza. A gélből kivágott és bázissorrend elemzésnek alávetett csíkok vannak bejelölve nyilakkal. Számozás: 1-14. lsd. magyarázatát a 14. táblázatban.

22. ábra. Tavaszi mintavételből származó talajbaktérium-közösség dendrogram ábrája DGGE elválasztást követően

4.4.7. Szekvenálási eredmények

A DGGE sávmintázat közül összesen tizennégy jól elkülönülő erős sáv lett szekvenáltatva és kiértékelve. Megerősítést nyert, hogy a 16S rRNS génszakaszának szekvenciaelemzése alapján az azonosított legközelebbi rokon baktériumok mindegyike az α -proteobaktérium osztály képviselői közé tartozik. A kapott 16S rRNS szekvenciák az adatbázisban lévő ismert baktériumokkal $\geq 95,78$ %-os hasonlósági szinten egyezést mutattak. Ezek közül hat DGGE sávot faj szinten azonosítottam CHUN et al. (2018) által meghatározott 98,7 %-os határérték alapján (**14. táblázat**) (*Pseudovibrio denitrificans* (VO); *Devosia* sp., *Ancylobacter rudongensis* (VK); *Devosia insulae* (AVK); *Rhizobium* sp. (HK) az NCBI adatbázissal. 98,7 % alatt pedig a következő baktériumokat azonosítottam be az NCBI adatbázisban szereplő legközelebbi rokon baktériumokkal: *Azospirillum* sp. (AO), *Devosia lucknowensis*, *Azospirillum* sp., *Devosia* sp. (AVK), *Mesorhizobium* sp., *Rhizobium leguminosarum* (VHO). A VHO talajból két izolátumot rend szinten detektáltam: *Rhizobiales* és *Rhodospirillales*.

14. táblázat: A DGGE sávmintázatból izolált 16S rRNS génszakasz szekvenciájának alapján azonosított legközelebbi rokon baktériumok

Minta	sáv	Legközelebbi rokon baktérium	Hasonlóság (%)	Élőhely	Azonosító
VO	1	<i>Pseudovibrio denitrificans</i>	99	Tengeri szivacs	JF281743
VK	2	<i>Devosia</i> sp.	99	Erdőtálat rizoszféra	KC464823
	3	<i>Ancylobacter rudongensis</i>	99,51	<i>Spartina anglica</i> gyökere	AY056830
AO	4	<i>Azospirillum</i> sp.	95,78	Talaj	KT619165.1
AVK	5	<i>Devosia lucknowensis</i>	96	Talaj	NR132697.1
	6	<i>Devosia insulae</i>	99,52	Talaj	EF012357
	8	<i>Azospirillum</i> sp.	97,41	Talaj	JF340293.1
VHO	9	<i>Mesorhizobium</i> sp.	96	Gyökérgümő ^I	KJ000995
	10	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	96	Talaj	GU201843.1
	11	<i>Rhizobiales</i>	96,07	Talaj	AB257851.1
HK	13	<i>Rhizobium</i> sp.	99	Gyökérgümő ^{II}	KX097067
AVK	7	<i>Devosia</i> sp.	98	Talaj	FN600566.2
VHO	12	<i>Rhodospirillales</i>	98	Talaj	MG722008.1
HK	14	<i>Rhizobium</i> sp.	99	Gyökérgümő ^{II}	KX097067.1

Megj.: O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza). Hasonlóság (%)=megegyező bázisok száma/a teljes átfedő szekvencia hossza. ^I=*Rhynchosia aurea*, ^{II}=*Trifolium* sp.

4.5. Diskusszió

A különböző talajtípusok és gazdálkodási módok főbb talajkémiai paramétereit a talajokra vonatkoztatott ellátottsági kategóriákhoz viszonyítva azt láthatjuk, hogy a talajok sótartalom szerint a nem sós kategóriába (<2 mS/cm; <0,1 %) tartoznak. A mért értékek a két szélsőérték között mozogtak (max.: őszi AVK talaj 0,418±0,128 mS/cm, mely érték közel kétszerese volt az átlaghoz képest (0,205 mS/cm) (min.: tavaszi HK talaj (0,027±0,006 mS/cm) (**10. ábra**), A „nem sós” kategória a haszonnövények fejlődését nem gátolja, az öntözővíz nem okoz káros sófelhalmozódást a vizsgált talajokban (KÁTAI 2011). Habár az EC értéken belül szignifikáns különbséget mutattam ki az évszakok közt, a talajtípusok/kezelésmódok közt és a talajtípusok/kezelésmódok és az évszak interakciója között, ez a kategória besorolást nem módosította.

A $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ -értékek intervallumát tekintve a savanyútól (HK), a gyengén savanyún (VHO), a semlegesén át (AVK) a gyengén lúgos tartományig (AO, VK) mozogtak (KÁTAI, 2011) az alábbi intervallumon belül (max.: tavaszi VO talaj $7,93 \pm 0,14$; min.: tavasz HK $5,40 \pm 0,11$ (**11. ábra**). A vizsgált pH-értékek többsége szignifikánsan nagyobb volt az organikus talajok javára, azonban az értékek még a talajbaktériumok számára az optimális határértékeken belül voltak (JEFFERY et al. 2010). A nyíregyházi talajokon 2013-ban DEMETER et al. (2018) szintén savas pH-t detektált (pH_{KCl} 3,89-5,98 (HK-VHO)). Ezen adatok a mért eredményeimhez képest $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ (**11. ábra**) alacsonyabbak voltak, mely betudható a mérés módszerbeli különbségének, az eltérő évjáratnak (2013) és a növényzetnek (VHO olajretek, HK zab, repce). Az egyes kezelések pH-értéke változatlan volt a két évszakban. Az évszakok és a talajtípusok/kezelésmódok és az évszak interakciója között nem detektáltam szignifikáns eltérést, ezzel szemben az egyes évszakokon belül a talajtípusok/kezelésmódoknál igen. A konvencionális területeken kimutatott alacsonyabb pH-értékek a műtrágyák savanyító hatásának tudhatók be (GAZDAG et al. 2019a).

A nitrogénformák esetében a NO_3^- -N adatoknál és a NH_4^+ -N értékek (**12 I-II. ábra**) esetében is szignifikáns eltérést mutattam ki az évszakok közt, a talajtípusok/kezelésmódoknál, valamint a talajtípusok/kezelésmódok az évszak interakciója között. Az összes nitrogén (max.: őszi AO $0,219 \pm 0,009$ %, min.: tavaszi HK $0,045 \pm 0,016$ %) tekintetében (**12 III. ábra**) a fenti nitrogénformákhoz hasonlóan a két évszak között szignifikáns eltérést tapasztaltam az évszakoknál, a talajtípusok/kezelésmódoknál, viszont a talajtípusok/kezelésmódok és az évszak interakciója között nem volt ilyen eltérés. Eredményeimet alátámasztva GUNAPALA és SCOW (1998) organikus és 'low input' gazdálkodási módú paradicsomföldön vizsgálták a talajok mikrobiális biomasszáját és azt tapasztalták, hogy az organikus területen mért nitrogéntartalom szignifikánsan nagyobb volt a konvencionálishoz viszonyítva. A mikrobiológiai változók pozitívan korreláltak az organikus terület ásványi nitrogéntartalmával. GOSLING et al. (2010) organikus és konvencionális gazdálkodású talajokon hagyma AMF kolonizációt vizsgáltak, a talajfizikai és -kémiai tulajdonságokban nem tapasztaltak eltérést a két terület között, viszont nagyobb össznitrogén-tartalmat detektáltak az organikus területen a konvencionálishoz képest. Azonban a NO_3^- -N-tartalom a vályog- és a homoktalaj esetében mutatott szignifikáns eltérést a kétféle gazdálkodási mód között. Ez a megfigyelt tendencia valószínűleg annak tulajdonítható, hogy pillangós növények voltak vetve a mintavételi területeken (agyag- és homoktalaj), mely magyarázhatja ezt a különbséget. Az AO talaj szignifikánsan nagyobb humusz és össznitrogéntartalommal rendelkezett, mint az AVK, ami valószínűleg a beszántott lóhere zöldtrágya hatásának volt köszönhető. A tavaszi talajok esetében a talaj nitrogénformák a konvencionális gazdálkodási módnál nagyobbak voltak az organikushoz képest, ez a tendencia a műtrágya hatásának tulajdonítható. Ezzel ellentétben műtrágyát nem alkalmaztak a HK területen, itt kevesebb nitrátot detektáltam.

A kapott nitrogén eredmények a megfelelően kialakított vetésforgóknak köszönhetőek, mivel az AO és a VK kivételével mindegyik kísérleti területen pillangós növényt termesztettek (**M4.**), a belőlük származó nitrogénformák lassabban táródtak fel, ezzel folyamatos nitrogénellátást biztosítottak a termesztett növények számára, ami kielégítette a vetésforgó növényeinek nitrogénszükségletét. Az összes humusztartalmak az alábbi két szélsőérték között mozogtak (max.: őszi AO $4,07 \pm 0,30$ %, min.: tavaszi HK $0,717 \pm 0,130$ %), ahol az évszakok közt nem, ellenben az eltérő talajtípusok/ gazdálkodási módok, a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója között szignifikáns eltérés mutatkozott. A humusztartalomban csökkenő tendencia volt megfigyelhető a vályogon és az agyagon át a homokig bezárólag. Mind a három helyszín organikus területén szignifikánsan nagyobb volt a talajok humusztartalma a konvencionális területekhez viszonyítva. A konvencionális területeken mért alacsonyabb humusz-értékek valószínű oka a limitált szervesanyag-tartalom, mert ezeken a parcellákon nem volt zöldtrágyázás. Ebből kifolyólag kevesebb szervesanyag-dekompozíció ment végbe, ami csökkent mennyiségű nitrogén/humusz ellátást eredményezett a mikrobák számára (BIRKHOFER et al. 2008).

Szakirodalmi adatok alapján elmondható, hogy a pH, a szerves széntartalom, az össznitrogén és a nitrogénformák tekintetében más kutatócsoport is szignifikánsan nagyobb értékeket detektált a dolgozatomban vizsgált nyíregyházi VHO talajon a HK-hoz képest (DEMETER et al. 2018). Megerősítést nyert, hogy az organikus gazdálkodási mód pozitív hatással bír a talajminőségre és a termékenységre, ezáltal közvetett módon a talajmikroba aktivitásra és a közösségalkotók számára. Eredményeimet alátámasztva ARANDA et al. (2011) organikus és konvencionális gazdálkodási módból származó spanyol olívaültetvényen vizsgálta a talaj össznitrogén-tartalmát és a humusztartalmat 0-20 cm-es talajmélységben. Azt figyelték meg, hogy az organikus esetben a fenti paraméterek nagyobbak voltak a konvencionálishoz viszonyítva.

Mind a két évszakban az össznitrogén-, humusz- és a szén-értékek az agyagos talajtól a vályogon át a homokig csökkenő tendenciát mutatnak.

A talajok NPK ellátottsági határtekeit a MÉM NAK (1979) alapján határoztam meg mindkét évszakra. A kalkuláció alapján jó nitrogén-ellátottság besorolást kapott az AO, AVK, VO és a VK. Ehhez képest gyenge nitrogén-ellátottsággal jellemezhető a VHO, közepessel pedig a HK terület. A foszfor-ellátottság tekintetében igen jó ellátottsággal rendelkezik az AVK, VO, VK és a HK terület, jó besorolással jellemezhető a VHO talaj, míg közepessel az AO bír. A vizsgált talajok kálium-ellátottságát tekintve megállapítottam, hogy mindkét évszakban túlzott ellátottság jellemzi a VO és a VK (csak a tavaszi), igen jó besorolást kapott a VK (csak az őszi) és a HK, jó ellátottsággal rendelkezik az AVK és a VHO, míg közepessel az AO jellemezhető. MARINARY et al. (2006) eredményeimhez hasonlóan szintén szignifikánsan jobb talaj tápanyag-ellátottsági értékeket mértek a tavaszi organikus területek esetében, ami pozitív hatással van az organikus talaj mikrobák aktivitására. A kísérletet Olaszországban végezték el, hét évvel az organikus gazdálkodásra való átállás után. Baromfi komposztot és zöldtrágyát alkalmaztak az organikus esetében, a konvencionálisnál pedig N, P műtrágyát.

A talaj pH-értéke a mezo- és mikroelemek hasznosulásában is jelentős tényező (CHAPARRO et al. 2012). Mivel a savanyúbb homoktalajok (**11. ábra**) növelik a vas elem felvehetőségét, ez magyarázza azt az eredményt, hogy a homoktalajok (átlag ősz: 100 mg/kg; tavasz: 103 mg/kg) átlagos vastartalma közel megegyezett. A Mn, S és Cu esetében minden vizsgált paraméter szignifikáns eltérést mutatott, ez alól kivételt képzett a Fe (évszakok) a B és a Cu (talajtípusok/kezelésmódok és az évszak interakciója közt) elemek, ahol nem detektáltam szignifikáns eltérést (**14 I-VII. ábra**). Elemzésem alátámasztotta FAGERIA és ZIMMERMANN (1998) állítását, miszerint az alacsony talaj pH-érték (**11. ábra**) alacsony Ca és Mg, míg magas Zn, Mn és Fe szinteket von magával (**14 I-VII. ábra**). Eredményeim egyeztek ROMANIUK et al. (2011) elemzésével, akik azt találták, hogy az organikus gazdálkodású talajok nagyobb oldható Mg- és Ca-tartalommal, össznitrogén- és szervesszén-értékekkel bírnak. Eredményeimmel ellentétben az organikus területen kisebb oldható P- és K-tartalmat detektáltak.

A mikrobiológiai eredmények (**15 I-IV. ábra**) az organikus gazdálkodás talajmikrobákra gyakorolt kedvező hatásáról tanúskodnak, A csíraszámokat a talaj szántott rétegében vizsgáltam. A szervesanyag-lebontó, spóráképző mikrobák képesek a kedvezőtlen környezeti körülményekhez alkalmazkodni, spóraszámuk mindkét területen alacsony értéket mutatott. A fonalas gombák viszont már az összetett szervesanyagok lebontásában töltenek be fontos szerepet. Ezek élő csíraszám szignifikánsan nagyobb volt az organikus területeken a konvencionálishoz viszonyítva, míg az aktinomicéták (korábban sugárgombák) a humifikációs folyamatokban töltenek be kulcsfontosságú szerepet. A legtöbb alacsony csíraszám a savas homoktalajnál jelentkezett, mely valószínűleg az alacsony pH-érték (**15 I-IV. ábra**) gátló hatásának köszönhető, mivel csökkent a mikrobiális aktivitás (SAHOO et al. 2010). Értéküket tekintve azonban a tavaszi mintavételből kitenyésztett csíraszámok nagyságrendileg nagyobbak az ősziéknél (mivel az őszi mintavételből

származó mikrobák egy nyugvó állapottal, míg a tavasziak aktívabb szakasszal jellemezhetőek). Míg a fonalas gombák 1g talajra számított csíraszámával ősszel 10^4 , tavasszal 10^5 nagyságrendű, míg az actinomicétáké ősszel 10^7 , tavasszal 10^8 nagyságrendű volt (ez az alacsonyabb tendencia annak köszönhető, hogy a mikrogombák a nagyobb talajpórusokban és az aggregátumok felszínén élnek, szemben a baktériumokkal, amik a kisebb talajpórusokat kedvelik). Ezért a mikrogombák érzékenyebbek a környezeti hatásokra (GORDON et al. 2008). Abban az esetben, mikor a könnyen felvehető tápanyagok aránya fogyatkozni kezd (**13 I-IV. ábra**), a dekompozícióban jelentős szerepet vállaló actinobaktériumok válnak dominánssá az adott területen (BASTIDA et al. 2013). A nyíregyházi mintáknál erőteljesen érvényesültek a domborzati viszonyok, és a homokdombok változó fizikai- és kémiai tulajdonságai gyakoroltak jelentős hatást a mikrobák csíraszámára. A tavaszi mintavétel eredményei tendenciájukat tekintve megegyeznek az őszi mintavétel eredményeivel, de értékükben minden esetben szignifikáns eltérés tapasztalható az évszakok, a talajtípusok/kezelésmódok, valamint a talajtípusok/kezelésmódok és az évszak interakciója közt.

A talajminták FDA értékelése során megállapítottam, hogy a tavaszi értékek (átlag: 34,4 $\mu\text{gFl/g}$ talaj/óra) az őszinél (átlag: 34,2 $\mu\text{gFl/g}$ talaj/óra) magasabb, de nem szignifikáns szintű eltérést mutattak. Ez alól kivételt az AO talaj jelentett, ahol a két évszak között szignifikáns eltérést mértem, ahol ősszel az átlag értékekhez képest közel háromszoros nagyságrendbeli különbség mutatkozott (**16. ábra**). Ez a tendencia a jó vízgazdálkodásnak köszönhető, mely aktivizálhatta a mikrobákat, szemben a rosszabb vízgazdálkodású homoktalajokkal. A talajmikrobák enzimaktivitása többek közt függ az eltérő gazdálkodási módoktól és a környezeti tényezőktől is. Az organikus területen rendszerint beforgatott zöldtrágyák által a talajba jutó növényi maradványok jelentős mértékben növelik a mikrobák számára esszenciális szubsztrátokat, ezáltal nagyobb enzimaktivitást előidézve (WICK et al. 1998).

A vizsgált talajmintákból a kitenyészhető mikrobaszámokban nem voltak szignifikáns eltérések. Feltételezésem szerint a karcagi területen mért magas érték a hosszabb száraz őszi periódus után a mintavételt megelőző héten lehullott csapadéknak volt köszönhető, ami aktivizálhatta a mikrobákat. A konvencionális terület alacsony aktivitás-értéke feltételezhetően a magas műtrágyadózisok mikrobákra gyakorolt gátló hatásának tulajdonítható.

A tenyésztésen alapuló eljárásokkal nem lehet kimutatni a mikrobiális közösségen belül esetlegesen lejátszódó közösségi szintű átalakulásokat. Ez is alátámasztja korábban ismertetett molekuláris vizsgálati módszerek bevezetésének és fejlesztésének szükségességét.

A respirációs értékekről elmondható, hogy a BRESP a vizsgált talajok mindegyikénél nagyságrendileg alacsonyabb értékeket adott (max.: tavaszi AO: $0,814 \pm 0,202$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g}$ talaj/óra; min.: őszi AVK: $0,044 \pm 0,007$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g}$ talaj/óra) (**17 I. ábra**), mint a SIR (max.: tavaszi VK: $6,48 \pm 0,63$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g}$ talaj/óra; őszi VHO: $0,45 \pm 0,14$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g}$ talaj/óra) (**17 II. ábra**). A vizsgált rizoszféra mintákban lévő talajbaktérium-közösség metabolikus potenciálja hozzáadott glükózzal jelentősen aktivizálható volt. Általánosságban elmondható, hogy a tavaszi értékek mind a BRESP, mind pedig a SIR tekintetében szignifikánsan nagyobbak voltak, kivéve az AO talajt, ahol az őszi SIR-érték szignifikánsan nagyobb volt a tavaszinál (**17 II. ábra**). Az összesített BRESP- és SIR-értékek tekintetében szignifikáns eltérést tapasztaltam az évszakok, a talajtípusok/kezelésmódok, valamint a talajtípusok/kezelésmódok és az évszak interakciója között. A BRESP- és a SIR-értékek egymáshoz viszonyított értékei 4-12-szeres nagyságrendi eltérést mutatnak a SIR javára. GUNAPALA és munkatársai (1998) Kaliforniában vizsgálták a talaj mikrobiális-közösségét nyári és téli évszakban, organikus és konvencionális területen, ahol paradicsomot termesztettek. A talajokon SIR elemzést hajtottak végre és azt találták, hogy az organikus terület szignifikánsan nagyobb SIR értékekkel rendelkezik a konvencionális gazdálkodáshoz képest. Fließbach és munkatársai (2007) Svájcban szintén organikus (21 évvel az átállás után) és konvencionális gazdálkodásból származó mikroba-közösséget hasonlítottak össze,

ahol talajminőség indikátort (BRESP) vizsgáltak lóhere rizoszfératalajban. Arra a következtetésre jutottak, hogy a vizsgált BRESP értékeknél nem volt kimutatható eltérés az organikus és konvencionális gazdálkodási módok között.

A mikrorespirációs vizsgálat során kapott összesített katabolikus-aktivitás arról ad információt, hogy a vizsgált 23 szubsztrát közül a citrát szolgáltatta mindkét évszaknál a legmagasabb értékeket (max.: tavaszi AO: $2,01 \pm 0,31$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$, min.: őszi VO: $0,985 \pm 0,550$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$), ahol csak a talajtípusok esetében volt szignifikáns eltérés. Ehhez képest a lizin produkálta a legalacsonyabbat (max.: őszi VO: $0,648 \pm 0,185$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$; min.: tavaszi VHO: $0,501 \pm 0,033$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) (**18 I-II. ábra**). Utóbbinál szignifikáns eltérést tapasztaltam az évszakok, a talajtípusok/gazdálkodási módok, valamint a talajtípusok/gazdálkodási módok és az évszak interakciója közt. Eredményeim azt mutatják, hogy az organikus területen nagyobb katabolikus aktivitást mértem a konvencionálishoz képest (GAZDAG et al. 2018). Ezt támasztja alá GUNAPALA és SCOW (1998) kutatásai is, ahol a konvencionális talaj műtrágyát, míg az organikus terület zöld- és pulykatrágyát kapott. Ugyancsak ezzel egyező tendenciát detektáltak TAUTGES et al. (2016). A MicroRespTM-hez hasonló az EcoPlatesTM módszert használva azt állapították meg, hogy az organikus esetében szignifikánsan nagyobb volt a talaj szubsztráthasznosítása (búza, borsó vetésforgó mellett) a konvencionálishoz képest. MARTÍNEZ-GARCÍA et al. (2018) holland tartamkísérleteken belül organikus és konvencionális gazdálkodási módból származó talajokon rizst és zabot termesztettek, ahol homoktalaj mikrobiális-közösség katabolikus aktivitását mérték MicroRespTM módszerrel, 10 szubsztráttal. Azt figyelték meg, hogy az organikus területeken nagyobb az összes talajmikroba csoport abundanciája, valamint ez a gazdálkodási mód serkenti az összes talajmikroba katabolikus aktivitását. Esetükben a legnagyobb aktivitást a szacharóz szubsztrát indukálta.

Saját vizsgálataimban a **8. táblázat**ban jelölt szubsztrátnál jelentkezett szignifikáns eltérés az egyes évszakok esetében (Arg, Dhb, Ino, Man), a talajtípusok/kezelésmódok, az évszakok interakciója között (Glc, Man, Szuk), valamint a talajtípus/kezelésmódoknál (Ala, Arg, Aszp, Dhb, Fru) is. Szakirodalmi adatokkal megegyezően igazoltam, hogy a talajmikroba-közösség jelentős metabolikus potenciállal rendelkezik, ami szubsztrátokkal könnyen aktivizálható (GUNINA és KUZJAKOV 2015). CAMPBELL et al. (2003) is igazolta, hogy a fenti gyökérexudátum eredetű szénforrásoknak nagy szerepük van a talajökológiai folyamatokban. A szerves szénforrásokkal kezelt talaj a nitrogén gyors immobilizációját eredményezi laboratóriumi körülmények közt (GULYÁS és FÜLEKY 1994, SZILI-KOVÁCS et al. 2008).

A gázkromatográf (SIR) és a MikrorespTM technikával mért glükóz-indukált respiráció eredményei között 3,4-szeres eltérés mutatkozott a SIR javára (legmagasabb érték: tavaszi VK: $6,48 \pm 0,63$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$, a legalacsonyabb: őszi VHO: $0,45 \pm 0,14$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) szemben a mikrorespirációval (legmagasabb: tavaszi VO: $1,88 \pm 0,460$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$, a legalacsonyabb: őszi VO: $1,06 \pm 0,553$ $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) (SZILI-KOVÁCS 2004). Következésképpen a SIR-technika hatékonyabbnak bizonyult, ellenben a MikrorespTM-technika esetén a 23 szubsztrát-indukált aktivitás alapján átfogóbb képet kapunk a mikrobiális közösség aktivitásáról és mintázataról. A szubsztrátok sokfélesége a mikrobaközösség tagjainak számára nagyobb lehetőséggel szolgál potenciális tápanyagok tekintetében.

A főbb talajfizikai, -kémiai és mikrobiológiai paraméterek közti összefüggés-jellemzés alapján összegzésként megállapítottam, hogy a legjelentősebb szignifikáns eltérést a konvencionális és organikus gazdálkodásmódú talajok esetén összel a humusztartalom (%) és a SIR ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) közt ($r=0,937$), míg tavasszal a $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ és az AL-Na közt ($r=0,871$) detektáltam. A leggyengébb korrelációt pedig a citrát $\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$ katabolikus aktivitása esetében mértem, összel a $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ -vel ($r=-0,514$), míg tavasszal a BRESP ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) tartalommal korrelálva ($r=-0,462$). A fenti paraméterekre a multikritériumos összehasonlítás

eredményeként megállapítottam, hogy a két évszak közti korrelációs hasonlóság szignifikáns eltérést mutatott.

Eredményeim szakirodalmi adatokkal alátámasztva igazolták azt a tényt, hogy az általam vizsgált kezelések közül az organikus gazdálkodás (tavasz) fenntarthatóbb, szemben a konvencionális kezeléssel. Hiszen az itt detektált nagyobb mikrobiális aktivitás jobb talajminőséget, hatékonyabb tápanyagkörforgást és a haszonnövények megfelelőbb növekedését biztosítja (GE et al. 2013, CREAMER et al. 2016). KÁTAI (2011) szerint az ökológiai területekre jellemző a nagyobb mikrobiális biomassza (MARTÍNEZ-GARCÍA et al. 2018) és az intenzívebb talajlégzés. A megnövekedett enzimaktivitás és ATP-tartalom magyarázhatja azt a tényt, hogy az ökológiai gazdálkodási módnál az alacsony felvehető foszfortartalom ellenére nincs foszforhiány, mivel ezen talajok nagyobb mikrobiológiailag kötött foszforkészlettel bírnak, ezáltal nagyobb a szerves foszfor mineralizációs potenciáljuk.

Összességében a funkcionális mérésen alapuló mikrobiológiai vizsgálatok jól detektálják a gazdálkodási mód okozta változásokat a talajmikrobiota működőképességére. A funkcionális vizsgálatok eredményei nagyobb érzékenységet mutatnak a gazdálkodási mód hatásának tekintetében, mint a mikrobiota-közösség összetételét jellemző paraméterek. A funkcionális elemzések közül nagyobb indikációs érzékenységük van azoknak a vizsgálatoknak, amelyek a mikrobaközösség működőképességét átfogóan jellemzik, úgy mint az FDA – összes enzimaktivitás (baktériumok, gombák, algák), MicroRespTM – 23 szubsztrát (cukrok, aminosavak és fehérjék) katabolikus aktivitása – lehetőséget adva nagyobb számú mikrobiális taxon működésének indukálására.

A molekuláris elemzések kapcsán a Zymo Research kittel izolált DNS mennyiségi és minőségi paramétereiről (**19 I. ábra**) megállapítottam, hogy a koncentrációnál és a fehérjetartalomnál a talajtípusok/kezelésmódok és az évszak interakciója között, a huminsavtartalomnál pedig az évszakok közt nem volt szignifikáns eltérés. Bizonyítottam, hogy a tavaszi VO talaj rendelkezett a legnagyobb DNS koncentrációval, melyhez a mindkét évszakban mért legjobb fehérje- és huminsav-mutatók tartoztak (**19 III. ábra**). Az izolált DNS mennyiségi és minőségi teljesítmény mutatóit alapul véve az SRD-módszerrel hasonlítottam össze a két évszak adatait (**9. táblázat**). A **20. ábra** és a **10. táblázat** eredményei alapján látszik, hogy a legjobb DNS kihozatalt a VO talaj adta a többihez képest.

A DNS mennyiségi és minőségi mutatóit módszertani fejlesztéssel teszteltem a fent ismertetett leghatékonyabb VO talajtípuson (**11. táblázat**). Ehhez a leghatékonyabb és a legkevésbé hatékony paramétereket kerestem (3-féle rázatási időtartam, a 4-féle rázatóberendezés és a 2-féle fotométer). Eredményeim alapján a legsikeresebb rázatást a sejtalom készülék nyújtotta 3 perces rázatási idővel, ennél mind a nukleinsav koncentráció (TrayCell[®] mikrokvettával mért $51,5 \pm 23,0$ ng/ μ l), mind a minőségi paraméterek (NanoDropTM készülékkel detektált huminsav-érték $0,638 \pm 0,021$ 260/230 nm; NanoDropTM készülékkel mért fehérjetartalom $1,20 \pm 0,038$ 260/280 nm) is a legjobbnak bizonyultak. A fenti módszertani fejlesztés során kapott legjobb eredményemhez hasonló értékeket kaptak TANASE et al. (2015) is, akik talajból történő 5 DNS kivonási módszert teszteltek, melyek hatékonysága 1-75 μ g DNS/talaj koncentráció tartományban mozgott. A romániai kőolajjal szennyezett magas huminsavtartalmú agyagtalajon azt találták, hogy a korábbi SAGOVA et al. (2008) protokollja, proteináz-K tisztítási lépéssel kiegészítve eredményezte a legnagyobb DNS koncentráció értéket ($49,38 \pm 9,8$ μ g/g talaj (50 μ l-ben); fehérjetartalom: $1,52 \pm 0,02$ 260/280 nm), mely minta az alacsony huminsav-érték ($0,69 \pm 0,02$ 260/230 nm) ellenére is PCR eljárásra alkalmasnak bizonyult.

A talaj DNS-izolálási módszertan nukleinsav mennyiségi és minőségi mutatóinak több szempontot egyszerre figyelembe vevő komplex kiértékelése szintén SRD módszerrel történt (**10. táblázat**). Eredményeim azt igazolják, hogy az egyes rázatási módok csoportokba sorolhatók. A

legjobb rázatási módszernek a 10 perces vortexes ráztatás bizonyult az AO és a VHO talajjal (**12. táblázat**).

A nitrogénkörforgalomban szerepet játszó nitrogénkötő-baktériumok jelenlétét a *nifH* génnel sikeresen kimutattam (**M10. melléklet**) a mintákból. Megállapítottam, hogy a PCR-termékek intenzitása változó volt, mely a talaj heterogenitásával is magyarázható. A legintenzívebb sávokat összességében az organikus talajok adták (AO és VHO), utóbbi parcellánál virágzó borsó haszonnövény volt a mintavétel idején, az AO-nál somkóró volt beszántás előtti állapotában (**M10.**). Az izolált nukleinsav mutatóik is átlagos értékeket adtak. Az AO-nál a koncentráció $25,4 \pm 3,8$ ng/ μ l, a fehérjetartalom $1,04 \pm 0,06$ nm (ref.: $>1,8$; (260/280 nm)), míg a huminsavtartalom $0,575 \pm 0,051$ nm (ref.: >2 (260/230 nm)) volt.

POLY et al. (2001) eltérő gazdálkodási módokból származó talajmintákon vizsgálták a *nifH* gént T-RFLP módszerrel és azt állapították meg, hogy az eltérő gazdálkodási mód, a talajtípus, a talajkémiai paraméterek és a növényzet is befolyásolhatja a detektált fajok diverzitását. SINGH et al. (2009) Indiában eltérő talajtípusokon vizsgálta a *nifH* géneket és dendrogram alapján azt mutatták ki, hogy a klimatikus és a talajtani viszonyoknak megfelelően a vizsgált talajmikrobák elkülönülő csoportokat alkottak. MAO et al. (2011) az USA-ban kukorica és kölest termő területen vizsgálták a talajok nitrogénkötő-baktériumközösségét. *NifH* gén segítségével *Mesorhizobium*-ot detektáltak köles termőtalajból.

Kísérleteim során a 16S rRNS génszakaszra gyenge PCR-termékeket detektáltam az összes konvencionális talajtípusnál (AVK, HK, VK), ezen intenzitású csoporthoz tartozott az egyedüli organikus eredetű (VO) talaj is. Ezek közül a VO (beszántott zöldborsó és tavaszi kalászos) és a HK (szőszös bükköny) esetében volt pillangós növényzet a területen (**M4. melléklet**). A VO esetében látszik, hogy ez a talaj rendelkezett a legnagyobb DNS hozammal és tisztasági mutatókkal (**20. ábra**), ráadásul a mintázáskor kalászos és zöldborsó volt a területen, ennek ellenére intenzív sávot nem detektáltam. Ezt a tendenciát magyarázhatja a megfelelő csapadékutánpótlás hiánya, mivel Martonvásáron a 2011-es (évi csapadékösszeg 308,6 mm) és a 2012-es évben (évi csapadékösszeg 405,3 mm) is szárazságot mértek (MIKÓ et al. 2014, [https 3](https://3)), ami befolyásolhatta a mikrobák működését.

A három vizsgált konvencionális gazdálkodási módból csak a HK esetében alkalmaztak egyedüli zöldtrágya beszántást. A HK nukleinsav paraméterei (koncentráció: $25,3 \pm 3,78$ ng/ μ l; fehérje: $1,03 \pm 0,088$ (ref.: $>1,8$; 260/280 nm), huminsav: $0,578 \pm 0,025$ nm (ref.: >2 (260/230 nm)) a VO értékek alatt maradtak (**19. ábra**).

A gyenge intenzitású PCR-terméket eredményező pillangós területek nem a várt eredményt hozták. A halvány sáv oka lehet, hogy az izolált fagyasztott DNS-t hónapokig tároltam, illetve az optimalizálás során a nélkülözhetetlen ismételt kiolvasztás és újrafagyasztás sem előnyös. A túl nagy templát koncentráció is okozhat kevésbé hatékony amplifikációt.

Az α -proteobaktérium-közösség elemzése után azt tapasztaltam, hogy a legnagyobb a HK, míg a legkisebb heterogenitással az AO talaj rendelkezett. Az organikus és a konvencionális talajok közösségalkotói eltérő csoportokba különülnek (60-65 %) hasonlósági szinten. A DGGE sávmintázatot tekintve a bakteriális diverzitásindexek egymástól szignifikánsan nem különböztek ($H' p=0,252$, $E' p=0,498$). A konvencionális gazdálkodási módú talajok jelentősebb bakteriális diverzitást szolgáltatottak az organikussal szemben (**22. ábra, 14. táblázat**). Viszont konvencionális gazdálkodási módú talajok rendelkeztek a legnagyobb bakteriális diverzitással, szemben az organikussal. A legdiverzebb talajtípussal a HK ($H'=2,82$; $E=0,89$; $R23$) – ahonnan a pillangós növényekkel szimbiózisban élő *Rhizobium* sp.-t mutattam ki – és a VHO ($H'=2,78$; $E=0,86$; $R=25$) rendelkezett. A legkisebb diverzitást az AO adta ($H'=2,46$; $E=0,87$; $R=17$), azonban az AVK ennél magasabb értéket mutatott ($H'=2,65$; $E=0,87$; $R=20$). A vályogtalaj közepes diverzitásindexekkel rendelkezett a VK-ra ($H'=2,68$; $E=0,89$; $R=19$) és a VO-ra ($H'=2,59$; $E=0,87$; $R=19$) nézve.

PEACOCK et al. (2001) szerint a talaj könnyen felvehető széntartalma serkenti a Gram-negatív baktériumok aktivitását a termőföldben. Ezzel szemben azt tapasztaltam, hogy az összes széntartalom eredményeim (**12 V. ábra**) az agyagtól a homokig csökkenő tendenciát mutattak. Az általam kimutatott legmagasabb α -proteobaktériumközösség-diverzitásindexek viszont a legalacsonyabb széntartalmú homoktalajon voltak megfigyelhetők.

A DGGE eljárás során a PAA gélen eredményül kapott DGGE mintázattal bizonyítottam a talajmintákban jelen lévő α -proteobaktérium-közösségek jelenlétét és diverzitását (**22. ábra**), mely az eltérő talajtípus és gazdálkodási mód alapján csoportokba különült (vályogtalajok 40 %-os, agyag- és a homoktalajok 47 %-os hasonlósági szint). A dendrogram a talajmintákban előforduló α -proteobaktériumok diverzitásáról szolgáltatott információt. LOPES et al. (2011) a talajbaktériumok közösségi összetételét (16S rRNS gén alapján) az általunk is alkalmazott módon vizsgálták rizsföldön és hasonló következtetést vontak le a Gram-negatív talajbaktériumok jelenlétére vonatkozóan. Eredményeim azt igazolják, hogy a talajbaktérium-diverzitásindexek egymástól szignifikánsan nem különböznek az eltérő talajtípus és gazdálkodásmód esetében. LI et al. (2012) agyag textúrájú csernozjom talaj esetében elemezték az α -proteobaktériumok közösségi diverzitását és az általam kapott eredményekhez hasonló eredményre jutottak. MATSUSHITA et al. (2015), almaültetvényben az α -proteobaktérium-közösség diverzitásának (E') értéke szignifikánsan nagyobbnak bizonyult az organikus gazdálkodásmód esetében a konvencionálishoz viszonyítva.

A talajmintákban jelenlévő α -proteobaktérium-közösségek képviselői kulcsszerepet töltenek be a szervesanyag-dekompozícióban, a nitrogén mineralizációban, a PGPR baktériumokra jellemzően elősegítik a növényi növekedést.

Megállapítható, hogy a legtöbb esetben a talajtípusnak és a növényzetnek jelentősebb hatása van a talajbaktérium-közösség összetételére, mint az eltérő gazdálkodási módok, hiszen a vályog- és az agyagtalaj termékenyebb, nagyobb humuszkészlettel rendelkeznek, ezen felül kedvezőbb a területek vízgazdálkodása is.

Ezzel szemben a nyíregyházi homoktalaj a mikrobák számára kedvezőtlenebb feltételeket nyújt. Itt kevesebb a felvehető tápanyag (**13 I-IV. ábra**) és a humusztartalom (**12 IV. ábra**) DEMETER et al. 2018). Habár a homoktalajban mért kémiai paraméterek kedvezőtlenebb értékeket mutattak az agyag- és a vályogtalajhoz képest, mégis a legtöbb DGGE sávot és a legnagyobb bakteriális diverzitásindexet itt, a homoktalaj esetében tapasztaltam.

A nyíregyházi talajminták esetében az izolált DNS-ekben a minőségi ellenőrzéskor fotométerrel detektált huminsav aránya kevesebb. LOPES et al. (2011) szerint a homoktalaj nagyobb ($R=25$) értéket szolgáltatott a DGGE mintázat kiértékelése során, szemben a kötöttebb talajtípussal. A homoktalajból izolált *Rhizobium* sp. és *Mesorhizobium* sp. (MEHBOOB et al. 2013) nitrogénkötő-talajbaktériumok feltételezhetően a pillangós növényeknek volt köszönhető.

A karcagi agyagtalaj jó tápanyagszolgáltató képességű, ezáltal optimális feltételeket teremt a talajmikrobák számára. Innen mutattam ki a legtöbb (öt) α -proteobaktérium képviselőt - *Azospirillum* sp. (organikus gazdálkodásból, somkóro és köles növények mellett), míg *Devosia lucknowensis* (DUA, 2013), *Devosia insulae*, *Devosia* sp. (YOON et al. 2007), *Azospirillum* sp. (BASHAN, 1999) (konvencionális gazdálkodásból, borsó és búza vetésforgóból). Ezen PGPR baktériumok a mezőgazdaságban betöltött szerepük jelentős.

A vályogtalaj α -proteobaktérium diverzitása volt a legheterogénebb, a detektált baktériumfajok (kukorica és búza haszonnövények mellett) képesek nitrifikációra (O) és nitrogénkötésre (K) is. A VO talajból izolált fakultatív anaerob *Pseudovibrio denitrificans*-t (SHIEH et al. 2004) detektáltam, melynek fermentációban és denitrifikációban jelenős szerepet játszik. Ugyanezen talaj konvencionális parcelláiból a *Devosia* sp. (YOON et al. 2007) és az *Ancylobacter rudongensis* sp. nov. (XIN et al. 2004) baktériumokat mutattam ki. A *Devosia* sp. fajt a 16S rRNS génszakasz szekvenálásával korábban az alábbi kutatócsoportok mutatták ki talajból: ARUN et al. (2008) egy tajvani mezőgazdasági kutatóintézet talajából, TALIA et al. (2012) kutatócsoport argentin erdőtalajból és TOYOTA és KUNINAGA (2006) japán

konvencionális gazdálkodásmódú talajból. Az *Ancylobacter rudongensis*-t pedig eddig főként *Spartina anglica* gyökeréből mutatták ki (XIN et al. 2004).

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A talajminőség és talajegészség meghatározására nem állnak rendelkezésre egységes standard módszerek. A talajmikroorganizmusok biomasszája, genetikai diverzitása, aktivitása és ezek talajtermékenységre gyakorolt hatása, illetve a stresszfaktorokra adott válaszok fontos tulajdonságok a talajminőség értékelése során.

Hazánkban alapvetően hiányoznak az eltérő talajtípusok és gazdálkodási módok bevonásával végzett összehasonlító komplex mikrobiológiai vizsgálatok.

A talajbioták biomasszája, genetikai diverzitása és aktivitása mind hozzájárul a talajok produktivitásához, a talajminőségéhez. Emiatt a talajmikroba-közösségek vizsgálatára az eddig bevont egy-két paraméter helyett több szempont együttes figyelembevételével, muktikritériumos megközelítéssel kívántam átfogó elemzést nyújtani a klasszikus státusz (főbb talajfizikai- és kémiai paraméterek) és funkcionális vizsgálatok (enzimaktivitás, respiráció, genetikai- és funkcionális diverzitás) segítségével.

Jelen doktori értekezés hiánypótló, hiszen a talajmikrobiológiai (indikátorváltozók) és talajfizikai, -kémiai paraméterek monitoring rendszerben való alkalmazásában az eredmények értelmezéséhez egy jól kalibrált multikritériumos referenciabázist hoztam létre három talajtípus organikus és konvencionális gazdálkodási területein egy kibővített változókészlettel (extended minimum data set (MDS)).

A szakirodalmakból ismert, hogy talajból való nukleinsav izolálása igen nehézkes, még a modern kitekkel is kihívást jelent a molekuláris PCR-reakcióhoz szükséges DNS biztosítása. Hazai viszonylatban elsőként végeztem multikritériumos módszertani (SRD – rangszám különbségek összege) fejlesztést talajból történő DNS-izolálásra, a módszer optimalizálása során a talajból kivont DNSmennyiségi és minőségi paramétereit javítottam.

Doktori témám keretében komplexebb képet kapunk a biotikus- és az antropogén tényezőknek a talaj mikroorganizmusok közösségeinek összetételére és funkcionalitására gyakorolt hatásairól. Mivel a talajbaktérium-populációk az egészséges élelmiszertermelésben is hosszútávú hatásokkal bírnak, ezért kulcsfontosságú a mezőgazdasági talajműveléssel összefüggő szakterületnek a kutatása.

A jelen doktori értekezés gyakorlati jelentősége az, hogy a fenti multikritériumos elemzéssel a mennyiségi és minőségi információn túl átfogó elemzést nyújtottam a talajmikroba-közösségek rizoszférában betöltött funkcióiról, teljesítménymutatóiról. Ezen eredmények további vizsgálatok alapjait képezhetik, valamint segítséget nyújthatnak monitoring rendszerek számára indikátorok kiválasztásának tekintetében. Az eltérő gazdálkodási módok a talajok elkülönítésére alkalmasak.

Jelen doktori értekezéssel szeretném javasolni a Magyarországi Talajvédelmi Információs és Monitoring Rendszernek (TIM), hogy fontolja meg a mikrobiális vizsgálatok körét kulcsindikátorokra specifikus mutatókkal és funkcionális diverzitásvizsgálattal is kibővíteni. Javasolom a TIM által is alkalmazott CO₂-produkció mérés kibővítését MicroRespTM módszerrel az alábbi paraméterek mellett:

- mintavétel: tavaszi évszakban (a talajbaktériumok aktivitása miatt)
- 0-25 cm talajmélység (rizoszféra vizsgálata)
- organikus és konvencionális gazdálkodási módok monitorozása esetében 3 évente is elegendő lenne az analízis, annak érdekében, hogy a gazdálkodási mód mikroba-közösségre kifejtett hatása kimutatható legyen

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Értekezésemben komplex módon elsőként vizsgáltam három hazai talajtípus (Karcag – agyag-, agyagos vályogtalaj; Martonvásár – vályogtalaj; Nyíregyháza – homoktalaj) organikus és konvencionális gazdálkodású tartamkísérletein a talajmikroba-közösség összetételét és működőképességét klasszikus státusz- és funkcionális vizsgálatokkal, figyelembe véve a szezonális hatásokat is, melynek keretében multikritériumos referenciabázist hoztam létre.

2. Kísérleteimben szignifikánsan nagyobb ($p \leq 0,05$) értékeket detektáltam az organikus talaj-gazdálkodásnál a konvencionálishoz képest az eltérő talajtípusok és művelési módok tekintetében a főbb talajkémiai és mikrobiológiai paramétereiknél: összes nitrogén (%), humusztartalom (%), ammónium-laktát-oldható Ca-tartalom (mg/kg), fluoreszcens diacetát hidrolízis ($\mu\text{gFI/g}$ talaj/óra), a kitenyészhető *Bacillus* sp., mikrogomba, spórás baktérium csíraszámok ($\log\text{CFU/g}$ száraz talaj), szubsztrát-indukált respiráció-érték ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g}$ talaj/óra), mikrorespiráció (MicroRespTM) ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g}$ talaj/óra) és a főbb mezo- és mikroelemek esetében (Mg, B, Cu, Zn (mg/kg)). Ezáltal bebizonyítottam, hogy az organikus művelésmód pozitív hatással bír a talajminőségre és a termékenységre, így közvetett módon a talajmikroba aktivitásra és a közösségalkotók számára.

(GAZDAG et al. *Microbes and Environments*, 34 (3) 234-243. p., IF=2,47, Q1)

3. Módszertani fejlesztést végeztem a talajspecifikus DNS-izolálás során a kivont DNS mennyiségi és minőségi paramétereinek javítására. Elsőként elemeztem a fent nevezett DNS-kivonásra vonatkozóan teljesítménymutatókat, több szempontot egyszerre figyelembe vevő komplex értékeléssel (SRD – rangszám különbségek összege). A talajtípus/rázatókészülék/rázatási idő kombinációjában a 10 perces vortexes rázatás bizonyult a leghatékonyabbnak az organikus agyag- és homokos vályogtalaj esetében.

4. A fenti talajok jellemzésére az általam alkalmazott indikátorok érzékenységének tekintetében jelentős különbségek adódtak. A talajok mikrobaközösségeinek funkcionális vizsgálatai jól detektálják a gazdálkodási mód okozta változásokat, – különös tekintettel a mikrorespirációs (MicroRespTM) eljárásra – az organikus és konvencionális gazdálkodású talajok között, a mikrobaközösségek lebontó aktivitásának mintázat-elemzése alapján.

(GAZDAG et al. *Microbes and Environments*, 34 (3) 234-243. p., IF=2,47, Q1)

5. A vizsgált talajokban jelenlévő α -proteobaktérium-közösségek molekuláris ujjlenyomat módszerrel (DGGE) történő vizsgálatai alapján igazoltam, hogy az organikus és a konvencionális talajok közösségalkotói eltérő csoportokba különülnek (60-65 % hasonlósági szinten). A 16S rRNS génszakaszok szekvenálásának alapján, az azonosított legközelebbi rokon baktériumok mindegyike az α -proteobaktérium osztály képviselői közé tartozott. A kimutatott baktériumok közül hatot sikerült faj szinten is azonosítanom a CHUN et al. (2018) által meghatározott 98,7 %-os 16S rDNS hasonlósági határérték alapján (*Pseudovibrio denitrificans* (VO); *Devosia* sp., *Ancylobacter rudongensis* (VK); *Devosia insulae* (AVK); *Rhizobium* sp. (HK)). Megállapítottam,

hogy az eltérő talajtípus és a növényzet jelentősebb hatással bírt az α -proteobaktérium közösségek összetételére/struktúrájára, mint az eltérő gazdálkodási módok.

(GAZDAG et al. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 69 (2), 147-154. p., IF=0,81, Q2)

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A talajmikroba-közösség kulcstényező a talajok agrárökoszisztéma szolgáltatásaiban, mivel hatással van a minőségi és mennyiségi élelmiszertermelésre, a termesztett növények vitalitására, valamint az üvegházhatású gázok emissziójára. A talajmikrobiota kulcsszerepet játszik a földi élet alapjául szolgáló biogeokémiai ciklusok (szén, nitrogén, foszfor) működésében. A talajok egészségének fenntartása érdekében különösen fontos megfelelő hangsúlyt fektetni az adott mezőgazdasági területre speciálisan illesztett, az ottani lehetőségekre szabott mezőgazdasági művelési mód megválasztására, figyelembe véve a talaj típusát, főbb fizikai- és kémiai paramétereit, a mikroklímát, stb.

Hazánkban alapvetően hiányoznak az eltérő talajtípusok és gazdálkodási módok bevonásával végzett összehasonlító komplex mikrobiológiai vizsgálatok. A talajmikrobiológiai, talajfizikai és -kémiai paraméterek monitoring rendszerben való alkalmazásában az eredmények értelmezéséhez egy jól kalibrált referenciabázisra van szükség.

A talajbiológiai indikátorváltozók kiválasztása kulcsfontosságú, melynek vizsgálatára terjedt el az ún. csökkentett változókészlet (minimum data set (MDS)) alkalmazása a talajminőség kiértékelésében.

Doktori kutatásom fő célja volt komplex módon vizsgálni (ún. extended minimum data set megközelítéssel) 3 hazai talajtípus organikus és konvencionális gazdálkodású tartamkísérletein a talajmikroba-közösség összetételét és működőképességét klasszikus státusz- és funkcionális vizsgálatokkal.

Kísérleteimmel igazoltam, hogy szignifikánsan nagyobb ($p \leq 0,05$) értékeket mutat az organikus gazdálkodási mód a konvencionálishoz képest az eltérő évszakok, talajtípusok és gazdálkodási módok tekintetében a főbb talajkémiai- és mikrobiológiai paramétereknél: összN (%), humusztartalom (%), AL-Ca-tartalom (mg/kg), FDA ($\mu\text{gFl/g talaj/óra}$), a kitenyészthető *Bacillus* sp., mikrogomba, spórás baktérium csíraszámok ($\log\text{CFU/g száraz talaj}$), SIR-érték ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$), MicroRespTM ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) és a főbb mezo- és mikroelemek esetében (Mg, B, Cu, Zn (mg/kg)).

Ezáltal az irodalmi adatokat megerősítve eredményeimmel bebizonyítottam, hogy az organikus gazdálkodás pozitív hatással bír a talajminőségre és a termékenységre, ezáltal a talajmikroba-aktivitásra és a közösségalkotók számára. Tendenciáját tekintve mindkét évszakban a karcagi agyagos (organikus), agyagos-vályog (konvencionális) és a martonvásári vályog talajnál (organikus és konvencionális) detektáltam magasabb értékeket, szemben a nyíregyházi homokos vályog (organikus) és homoktalajjal (konvencionális).

Megállapítottam, hogy a legtöbb esetben a talajtípusnak és a növényzetnek jelentősebb hatása van a talajbaktérium-közösség összetételére, mint az eltérő gazdálkodási módoknak, hiszen a vályog- és az agyagtalajok termékenyebbek és nagyobb humuszkészlettel rendelkeznek, ezen felül a területek vízgazdálkodása is kedvezőbbnek bizonyul.

Eredményeimmel bebizonyítottam, hogy a főbb talajfizikai, -kémiai és mikrobiológiai paraméterek közti korrelációk szerint (Pearson-féle korrelációs együttható értékkel), az összefüggés-jellemzés alapján ősszel a legerősebb korreláció a humusztartalom (%) és a SIR ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g talaj/óra}$) közt ($r=0,937$), míg tavasszal a $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ és az AL-Na közt ($r=0,871$) mutatkozott. Ezen belül az ún. RV koefficiens segítségével összehasonlítást végeztem el a fenti paraméterekre, mely során az őszi és a tavaszi változók közti korrelációs hasonlósága szignifikáns volt ($p < 0,001$). A leggyengébb korrelációt pedig a citrát szubsztrátra adott respirációs válasz esetében mutattam ki, ami ősszel a $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ ($r=-0,514$), míg tavasszal az AL- P_2O_5 -tartalom korrelációjában jelentkezett ($r=-0,778$).

A vályogtalajon az organikus gazdálkodási mód hatására szignifikánsan ($p \leq 0,05$) növekszik a talajmikrobák száma (CFU) és aktivitása (FDA, respiráció), a nagyobb számú és

aktívabb mikrobiális közösség a talajok meghatározó elemeként járulhatnak hozzá az ökológiai egyensúly fenntartásához.

A talaj DNS-kivonás és a ráépülő mikrobiális-közösségi analízis módszertanának az adott ökológiai körülményekhez való adaptálása elengedhetetlen az ökológiai gazdálkodás kutatási hátterének megalapozásához. Multikritériumos módszertani fejlesztéssel a talajból történő DNS-izolálást, a kapott nukleinsav mennyiségi a minőségi paramétereit javítottam. Eredményeim szerint a vályogtalajból (organikus gazdálkodási mód, tavaszi mintavétel) izolált minta adta a legerősebb nukleinsav kihozatalt (DNS koncentráció: $34,3 \pm 11,1$ ng/ μ l; fehérjetartalom: $1,11 \pm 0,14$ 260/280 nm, ref.: $>1,8$; 260/280 nm; huminsavtartalom: $0,663 \pm 0,096$ 260/230 nm (ref.: >2 ; 260/230 nm) a többi talajtípushoz képest ($p \leq 0,05$).

Elsőként elemeztem a nukleinsav teljesítménymutatókat több szempontot egyszerre figyelembe vevő komplex értékeléssel (SRD-rangsorszám különbségek összege). A talajtípus/rázatókészülék/rázatósi idő kombinációjában. A 10 perces vortexes rázatás bizonyult a leghatékonyabbnak az organikus agyag- és homokos vályogtalaj esetében.

A fenti területen elsőként mutattam ki, hogy a genetikai közösségi ujjlenyomat a talajtípus és a gazdálkodási mód szerint elkülönülő csoportokra oszlik. A talajból történő DNS-kivonást követő szekvenálás eredményeként a fenti területeken elsőként detektáltam az α -proteobaktériumok kimutatására alkalmazott specifikus primerpár segítségével a következő baktériumokat: faj szinten azonosítottam CHUN et al. (2018) által meghatározott 98,7 %-os határérték alapján (*Pseudovibrio denitrificans* (vályogtalajon organikus gazdálkodás mellett); *Devosia* sp., *Ancylobacter rudongensis* (vályogtalajon konvencionális gazdálkodás mellett); *Deviosa insulae* (agyagos vályog talajon, konvencionális gazdálkodásból); *Rhizobium* sp. (homoktalajon, konvencionális gazdálkodásból) az NCBI adatbázissal. Ezek mindegyike a nitrogénkörforgalom kulcsindikátorai. Ezek a PGPR baktériumfajok fontos szerepet töltenek be a szervesanyag-dekompozícióban és a nitrogén- mineralizációban. A nitrogénkötő-baktériumok jelenlétét a *nifH* gén kimutatásával is igazoltam. A diverzitás indexek egymástól szignifikánsan nem különböztek, de a legnagyobb diverzitási indexet (H' =Shannon-Wiener-diverzitás index; E=eveness egyenletesség; R=richness index) a konvencionális művelésű homoktalajnál (Nyíregyháza) ($H'=2,82$; E=0,89; R=23) és az organikus eredetű homokos vályogtalajnál (Nyíregyháza) ($H'=2,78$; E=0,86; R=25) detektáltam. Ezzel szemben a legkisebb diverzitást az organikus vályogtalaj (Karcag) adta ($H'=2,46$; E=0,87; R=17).

Összességében a jelen doktori értekezés felhívja a figyelmet arra, hogy a fenti multikritériumos elemzés nélkülözhetetlen a talajmikroba-közösségek rizoszférában betöltött szerepének (funkciók, teljesítménymutatók), illetve az adott gazdálkodási mód fenntarthatóságának mélyreható megismerésében. A fentiek fontos referencia adatokat szolgáltathatnak a talajminőség, talajtermékenység értékelésében, valamint a degradációs folyamatok indikálásában. Továbbá a sokszempontos elemzés rávilágít arra is, hogy a talajok mikrobiális közösségének jellemzésére használt mutatók érzékenységekben jelentős eltérések lehetnek és a változások detektálására elengedhetetlen a megfelelően érzékeny indikátorok kiválasztása, együttes alkalmazása. A doktori munkám során alkalmazott funkcionális vizsgálatok között - tudomásom szerint hazánkban egyedül az Agrártudományi Kutatóközpont Talajtani és Agrokémiai Intézetben alkalmazott - mikrorespirációs (MicroRespTM) módszer alkalmas a mikrobaközösségek lebontó aktivitásának mintázata alapján az organikus és konvencionális gazdálkodású területek elkülönítésére.

8. SUMMARY

Soil microbe community is a key factor in the soil agro-ecosystem as it affects quality and quantity of food production, the vitality of cultivated plants and greenhouse gas emission. Soil microbiota plays a main role in biogeochemical cycles like carbon, nitrogen and phosphorus cycles. In order to maintain a healthy soil it is particularly important to place proper emphasis on the choice of the farming method adapted to the specific agricultural area, focusing on its potential, taking into account the soil type and the main physical and chemical parameters, the microclimate, etc.

Basically in Hungary there are no comparative and complex studies on soil microbial communities of different soil types and cultivation methods. For the application of soil microbiological, physical and chemical parameters in a monitoring system, a well-calibrated reference base is required for the interpretation of the results.

Selection of soil biology indicator variables is the kingpin of a so-called extended minimum data set approach (MDS) in the evaluation of soil quality.

The main goal of my PhD research was to examine the composition and functionality of soil microbe community in a complex way (with MDS approach) with classical status and functional tests on the organic and conventional cultivation of 3 soil types.

During my research I proved that regarding to soil types and cultivation method organic soil cultivation has significantly higher ($p \leq 0,05$) values of soil chemical and microbiological parameters compared to the conventional cultivation for different seasons: total N (%), humus content (%), AL-Ca-content (mg/kg), FDA ($\mu\text{gFl/g soil/hour}$), microbiologically cultivable *Bacillus* sp., micro fungi, heterotrophic bacterium, spore bacterium ($\log\text{CFU/g dry soil}$), SIR-content ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g soil/hour}$), MicroRespTM ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g soil/hour}$) and the main meso- and micro elements (Mg, B, Cu, Zn (mg/kg)).

Based on scientific data I proved that organic cultivation has a positive effect on the soil quality and fertility, thereby the activity and the quantity of soil microbes. Considering the tendency higher values were observed for clayey (organic), clay-loam (conventional) (Karcag) and loam (organic and conventional) soil (Martonvásár), compared to sandy loam (organic) and sandy soil (conventional) (Nyíregyháza).

In most cases the soil type and vegetation have a more significant effect on the composition of the soil bacteria community than the different cultivation methods, because loam and clay soils have more fertile, higher humus content and the water management of these areas is also more favorable.

My results have proved that based on the correlations between the physical, chemical and microbiological parameters the strongest correlation (with the Pearson correlation coefficient value) were found in the humus content (%), which correlated with the SIR content ($\mu\text{g CO}_2\text{-C/g soil/hour}$), in autumn ($r=0,937$) and in the $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ and the AL-Na (mg/kg) in spring also ($r=0,871$). Using the RV coefficient, I compared the above parameters, where the correlation between the autumn and spring variables was significant ($p \leq 0,001$). The lowest correlation was found for citrate substrate with $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ ($r=-0,514$) in autumn and with AL- P_2O_5 (mg/kg) in spring ($r=-0,778$).

Soil microbes parameters (CFU, FDA, respiration) increased significantly ($p \leq 0,05$) on the loam soil which contributes to the maintenance of the ecological balance considerably.

Adapting the methodology of soil DNA extraction to evaluate the microbiological community analysis is essential for the research background of organic farming. My multicriterial methodology development results have proved that compared to other soil types ($p \leq 0,05$), the best nucleic acid quality and quantity parameters were from the loam soil (organic management, spring) (DNA concentration: $34,3 \pm 11,1 \text{ ng}/\mu\text{l}$; protein content: $1,11 \pm 0,14 \text{ 260/280 nm}$, ref.: humic acid content: $0,663 \pm 0,096 \text{ 260/230 nm}$ (ref.: $> 2; 260/230 \text{ nm}$))

I analyzed the parameters of the DNA efficiency originated from the tested soils with complex assessment that takes several aspects into account (sum of SRD rankings). Considering soil type, shaker type and the shaking time the 10-minute vortex shaking was the most effective for organic clay and sandy loam soil. In this area the genetic community fingerprint is divided into distinct groups according to soil type and cultivation mode.

Sequencing the DNA isolated from soil samples, α -proteobacteria isolates were identified to species rank 98,7 % (CHUN et al. 2018) using NCBI database - (*Pseudovibrio denitrificans* (VO); *Devosia* sp., *Ancylobacter rudongensis* (VK); *Deviosa insulae* (AVK); *Rhizobium* sp. (HK). These species were detected which are the key indicators of the nitrogen cycle. They play an important role in organic decomposition and nitrogen mineralization. Nitrogen fixing bacteria was successfully detected by the presence of nifH gene. The diversity index did not show significant differences, but the highest was showed by the sand soil (conventional) (Nyíregyháza) ($H' = 2,82$; $E = 0,89$; $R = 23$) and the loamy-sandy soil (organic) (Nyíregyháza) ($H' = 2,78$; $E = 0,86$; $R = 25$). In contrast, the smallest diversity was obtained by the loam soil (organic) (Karcag) ($H' = 2,46$; $E = 0,87$; $R = 17$).

My results draws attention to the fact that the above-mentioned multicriteria analysis is essential for understanding the role of soil microbial communities of the rhizosphere and it is necessary to understand the sustainability of this management method. These statements may provide important reference data for the assessment of soil quality, soil fertility and degradation processes. Furthermore the multicriteria analysis also highlights that there may be significant differences in the sensitivity of the indicators used to characterize the microbial community of soil. Selection of indicators with proper sensitivity is essential to detect microbial changes in different soil types. Among the functional studies, the MicroRespTM method – according to my knowledge this method is applied only by the Hungarian Academy of Sciences, Institute of Soil Science and Agrochemistry - is suitable for separating organic and conventional areas based on the pattern of degradation activity of microbial communities.

9. MELLÉKLETEK

M1. Irodalomjegyzék

- 1) ADAM, G., DUNCAN, H. (2001): Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33 (7-8) 943-951. p.
doi: 10.1016/S0038-0717(00)00244-3
- 2) AGÓCS, B., CHONA, E., GALAMBOS, A., HEGYMEGI, P., JUHÁSZ, Á., JUNG, I., KARY, L., KESZTHELYI, K., KISS, A., KOVÁCS, V., LUCSKAI, A., REZNEKI, R., ROZSIK, P., SZTAHURA, E., VÁRSZEGI, S. (2015): Ökológiai gazdálkodás – Kézikönyv a támogatási kérelem benyújtásához. In: REZNEK, R., SZTAHURA, E. (Szerk.). Budapest: Nemzeti Agrárgazdasági Kamara, Crew Kft.
- 3) ALLISON, S. D., MARTINY, J. B. H. (2008): Resistance, resilience and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105 (Supplement 1) 11512-11519. p.
doi: 10.1073/pnas.0801925105
- 4) ANANYEVA, N. D., SUSYAN, E. A., CHERNOVA, O. V., WIRTH, S. (2008): Microbial respiration activities of soils from different climatic regions of European Russia. *European Journal of Soil Biology*, 44 (2) 147-157. p.
doi: 10.1016/j.ejsobi.2007.05.002
- 5) ANTON, A., ANTAL, M., BICZÓK, GY. (1990): Effect of C-sources and urea on the carbohydrate hydrolysing enzyme activities of different soils. *Agrokémia és Talajtan*, 39 404-408. p.
- 6) ARANDA, V., AYORA-CAÑADA, M. J., DOMÍNGUEZ-VIDAL, A., MARTÍN-GARCÍA, J. M., CALERO, J., DELGADO, R., VERDEJO, T., GONZÁLEZ-VILA, F. J. (2011): Effect of soil type and management (organic vs. conventional) on soil organic matter quality in olive groves in a semi-arid environment in Sierra Mágina Natural Park (S Spain). *Geoderma*, 164 (1-2) 54-63. p.
doi: 10.1016/j.geoderma.2011.05.010
- 7) ARORA, N. K. (2013): *Plant microbe symbiosis: fundamentals and advances*. 320. New Delhi: Springer.
doi.org/10.1007/978-81-322-1287-4_16
- 8) ARSHAD, M. A., COEN, G. M., (1992): Characterization of soil quality: physical and chemical criteria. *American Journal of Alternative Agriculture*, 7 (1-2) 25-31. p.
doi: 10.1017/S0889189300004410
- 9) ARSHAD, M. A., MARTIN, S. (2002): Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 88 (2) 153-160. p.
doi: 10.1016/S0167-8809(01)00252-3
- 10) ARUN, A. B., SCHUMANN, P., CHU, H-I., TAN, C-C., CHEN, W-M., LAI, W-A., KÄMPFER, P., SHEN, F-T., REKHA, P. D., HUNG, M-H., CHOU, J-H., YOUNG, C-C. (2008): *Pseudoxanthobacter soli* gen. nov., sp. nov., a nitrogen-fixing alphaproteobacterium isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 58 1571–1575. p.
doi: 10.1099/ijs.0.65206-0
- 11) ATKINSON, D., BADDELEY J. A., GOICOECHEA N., GREEN, J., SÁNCHEZ-DÍAZ, M., WATSON, C. A. (2002): Arbuscular mycorrhizal fungi in low input agriculture. 211-222 p. In: GIANINAZZI, S., SCHÜEPP, H., BAREA, J. M., HASELWANDTER, K.

- (Eds.): *Mycorrhizal Technology in Agriculture – From genes to bioproducts*. Basel: Birkhäuser, 296 p.
doi:10.1007/978-3-0348-8117-3_17
- 12) BARANYAI, F., FEKETE, A., KOVÁCS, I. (1987): A magyarországi talajtápanyag-vizsgálatok eredményei. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 189 p.
 - 13) BARDÓCZ, ZS., VARGA, A. (2016): Bio-nemcsak etet, táplál is. Budapest. Greenpeace Magyarország Egyesület.
 - 14) BASHAN, Y. (1999): Interactions of *Azospirillum* spp. in soils: A Review. *Biology and Fertility of Soils*, 29 (3) 246-256. P.
 - 15) BASTIDA, F., TORRES, I. F., HERNÁNDEZ, T., BOMBACH, P., RICHNOW, H. H., GARCÍA, C. (2013): Can the labile carbon contribute to carbon immobilization in semiarid soils? Priming effects and microbial community dynamics. *Soil Biology and Biochemistry*, 57 892-902. p.
doi: 10.1016/j.soilbio.2012.10.037
 - 16) BELÁK, Á., KISKÓ, G., KOVÁCS M., MARÁZ, A., MOHÁCSINÉ FARKAS, CS., POMÁZI, A. (2011): Gyors és molekuláris biológiai módszerek alkalmazása élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálatára - Gyakorlati kézikönyv. Budapest: Nemzeti Tankönyvkiadó Zrt.
 - 17) BERTRAND, H., POLY, F., VAN, V. T., LOMBARD, N., NALIN, R., VOGEL, T. M., SIMONET, P. (2005): High molecular weight DNA recovery from soils prerequisite for biotechnological metagenomic library construction. *Journal of Microbiological Methods*, 62 (1) 1-11. p.
doi: 10.1016/j.mimet.2005.01.003
 - 18) BERZSENYI, Z. (2009): Az ötven éves martonvásári tartamkísérletek jelentősége a növénytermesztés fejlesztésében. 37-49. p. In: BERZSENYI, Z., ÁRENDÁS, T. (Szerk.): *Tartamkísérletek jelentősége a növénytermesztés fejlesztésében*. Martonvásár: Jubileumi tudományos konferencia. 312 p. Martonvásár, 2009. október 15.
ISBN:978-963-8351-36-4
 - 19) BIRKHOFER, K., BEZEMER, T. M., BLOEM, J., BONKOWSKI, M., CHRISTENSEN, S., DUBOIS, D., EKELUND, F., FLIEßBACH, A., GUNST, L., HEDLUND, K., MÄDER, P., MIKOLA, J., ROBIN, C., SETÄLÄ, H., TATIN-FROUX, F., VAN der PUTTEN, W. H., SCHEU, S. (2008): Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: Implications for soil quality, biological control and productivity. *Soil Biology and Biochemistry*, 40 (9) 2297-2308. p.
doi: 10.1016/j.soilbio.2008.05.007
 - 20) BÜRGMANN, H., PESARO, M., WIDMER, F., ZEYER, J. (2001): A strategy for optimizing quality and quantity of DNA extracted from soil. *Journal of Microbiological Methods*, 45 (1) 7-20. p.
doi: 10.1016/S0167-7012(01)00213-5
 - 21) BIRÓ, B. (2017a): Biológiai talajművelés. Termésmenővelők, biotrágyák a természet rendje szerint. 1. rész: A talaj, mint „láthatatlan” ökoszisztéma. *Agárágazat*, 18 (1) 96-101. p.
 - 22) BIRÓ, B. (2017b): Biológiai talajművelés. Termésmenővelők, biotrágyák a természet rendje szerint. 7. rész: Mikrobiális sokféleség és élő talaj a lábunk alatt. *Agárágazat, Talajélet*, 18 (6) 70-73. p.
 - 23) BIRÓ, B. (2017c): Biológiai talajművelés. Termésmenővelők, biotrágyák a természet rendje szerint. 6. rész: A talajegészség fontossága. *Agárágazat*, 18 (7) 72-74. p.
 - 24) BIRÓ, B., ANTON, A. (2003): Génmódosított mikrobiális oltóanyagok és növények alkalmazásának európai jogszabályai. *Agrokémia és Talajtan*, 52 (3-4) 487-492. p.
doi: 10.1556/Agrokem.52.2003.3-4.17
 - 25) BIRÓ, B., POSTA, K., FÜZY, A., KÁDÁR, I., NÉMETH, T. (2005): Mycorrhizal functioning as part of the survival mechanisms of barley (*Hordeum vulgare* L.) at long-term heavy metal stress. *Acta Biologica Szegediensis*, 49 (1-2) 65-67. p.

- 26) BIRÓ, B., SZILI-KOVÁCS, T., ANTON, A. (2010): A rekultivációtól a remediációig. *Agrokémia és Talajtan*, 59 (2) 409-422. p.
doi: 10.1556/Agrokem.59.2010.2.18
- 27) BOLYE, F., ACS, S. (2016): *Ökomódszerek szántóföldön*. Budapest: Greenpeace Magyarország Egyesület.
- 28) BORSODI, A. (2013): A nitrogén körforgalma. In: MÁRIALIGETI, K. (Szerk.): *Bevezetés a prokarióták világába*. Budapest: Eötvös Loránd Tudományegyetem. Egyetemi jegyzet. 236-244. p.
- 29) BORSODI A. (Szerk.) (2018): *Klasszikus és molekuláris mikrobiológiai laboratóriumi gyakorlatok, elektronikus jegyzet*, Budapest: Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Biológiai Intézet, Mikrobiológiai Tanszék. 277 p.
ISBN: 978-963-489-064-5
- 30) BUZÁS, I. (Szerk.) (1988): *Talaj- és agrokémiai vizsgálati módszerkönyv 2. A talajok fizikai-kémiai és kémiai vizsgálati módszerei*. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 242 p.
ISBN: 9632326571
- 31) BUZÁS, I. (Szerk.) (1993): *Talaj- és agrokémiai vizsgálati módszerkönyv 1. A talaj fizikai, vízgazdálkodási és ásványtani vizsgálata*. Budapest: Inda 4231 Kiadó. 357 p.
ISBN: 963-234-036-1
- 32) 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. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (6) 3593-3599. p.
doi: 10.1128/AEM.69.6.3593-3599.2003
- 33) CENTERI, CS., PATAKI, R. (2003): Hazai talajerodálhatósági értékek meghatározásának fontossága a talajveszteség tolerancia értékek tükrében. *Tájökológiai Lapok*, 1 (2) 181-192. p.
- 34) CHAPARRO, J. M., SHEFLIN, A. M., MANTER, D. K., VIVANCO, J. M. (2012): Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biology and Fertility of Soils*. 48 (5) 489-499. p.
doi: 10.1007/s00374-012-0691-4
- 35) CHUN, J., OVEN, A., VENTOSA, A., CHRISTENSEN, H., ARAHAL, D. R., da COSTA, M. S., ROONEY, A. P., YI, H., XU, X-W., de MEYER, S., TRUJILLON, E. (2018): *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. 68 461-466. p.
- 36) CHUN-JUAN, B., ZHEN-LOU, C., JUN, W., DONG, Z. (2013): Quantitative Assessment of Soil Health Under Different Planting Patterns and Soil Types. *Pedosphere*. 23 (2) 194–204. p.
doi: 10.1016/S1002-0160(13)60007-7
- 37) CLARK, M. S., HORWATH, W. R., SHENNAN, C., SCOW, K. M. (1998): Changes in soil chemical properties resulting from organic and low-input farming practices. *Agronomy Journal*, 90 (5) 662-671. p.
doi: 10.2134/agronj1998.00021962009000050016
- 38) CREAMER, R., STONE, D., KUIPER, I. BERRY, P., (2016): Measuring respiration profiles of soil microbial communities across Europe using MicroRespTM method. *Applied Soil Ecology*, 97 36-43. p.
doi: 10.1016/j.apsoil.2015.08.004
- 39) CSATHÓ, P., NÉMETH T., KÁDÁR I., ÁRENDÁS T., RADIMSZKY L. (2002): *Környezetkímélő növénytaplálás*. Gödöllő: Szent István Egyetem, Környezet és Tájgazdálkodás.
- 40) CSIKÓS, Á. (2015): *Fajazonosítás élelmiszerekből PCR SSCP metodika fejlesztésével*, doktori értekezés, Debreceni Egyetem, Debrecen.

- 41) DAUPHIN, L. A., MOSER, B. D., BOWEN, M. D. (2009): Evaluation of five commercial nucleic acid extraction kits for their ability to inactivate *Bacillus anthracis* spores and comparison of DNA yields from spores and spiked environmental samples. *Journal of Microbiological Methods*, 76 (1) 30-37. p.
doi: 10.1016/j.mimet.2008.09.004.
- 42) DAVET, P. (2004): *Microbial ecology of the soil and plant growth*. Boca Raton: CRC Press. 408 p.
doi: 10.1201/9781482280128
- 43) DEÁK, T. (Szerk.) (2006): *Élelmiszer-mikrobiológia*. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 319 p.
ISBN 978-963-286-525-6
- 44) DELMONT, T. O., ROBE, P., CECILLON, S., CLARK, I. M., CONSTANCIAS, F., SIMONET, P., HIRSCH, P. R., VOGEL, T. M. (2011): Accessing the soil metagenome for studies of microbial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 77 (4) 1315-1324. p.
doi: 10.1128/AEM.01526-10.
- 45) DEMETER, I., MAKÁDI, M., TOMÓCSIK, A., ARANYOS, T. J., MICHÉLI, E., POSTA, K. (2018): Chemical and microbiological properties of Hungarian sandy soils under different management practices. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16 (3) 3473-3488. p.
doi: 10.15666/aer/1603_34733488
- 46) DOBROVOL'SKAYA, T. G., GOLOVCHENKO, A. V., PANKRATOV, T. A., LYSAK, L. V., ZVYAGINTSEV, D. G. (2009): Assessment of the bacterial diversity in soils: Evolution of approaches and methods. *Eurasian Soil Science*, 42 (10) 1138-1147. p.
doi: 10.1134/S1064229309100081
- 47) DORAN, J. W., PARKIN, T. B., (1994): Defining and assessing soil quality. 1-21. p. In: DORAN, J. W., COLEMAN, D. C., BEZDICEK, D. F., STEWART, B. A. (Eds.): *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Madison: Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. 244 p.
doi: 10.2136/sssaspecpub35.c1
- 48) DORAN, J. W., SAFLEY, M. (1997): Defining and assessing soil health and sustainable productivity. 1-28. p. In: PANKHURST, C., DOUBE, B. M., GUPTA, V. V. S. R. (Eds.): *Biological Indicators of Soil Health*. New York: CAB International, 437 p.
- 49) DOWNIE, J. A. (2010): The roles of extracellular proteins, polysaccharides and signals in the interactions of rhizobia with legume roots. *FEMS Microbiology Reviews*, 34 (2) 150-170. p.
doi: 10.1111/j.1574-6976.2009.00205.x.
- 50) DUA, A., MALHOTRA, Y., SAXENA, A., KHAN, F., LAL, R. (2013): *Devosia lucknowensis* sp. nov., a bacterium isolated from hexachlorocyclohexane (HCH) contaminated pond soil. *Journal of Microbiology*, 50 (5) 689-694. P.
doi: 10.1007/s12275-013-2705-9
- 51) ELFSTRAND, S., BÅTH, B., MÅRTENSSON, A. (2007): Influence of various forms of green manure amendment on soil microbial community composition, enzyme activity and nutrient levels in leek. *Applied Soil Ecology*, 36 (1) 70-82. p.
doi: 10.1016/j.apsoil.2006.11.001
- 52) EGNÉR, H., RIEHM, H., DOMINGO, W. R. (1960): Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung de Nährstoffzustandes der Böden. II. Chemische Extraktionsmethoden zur Phosphor- und Kaliumbestimmung. *Kungliga Lantbrukshögskolans Annaler*, 26 199-215. p.
- 53) FAGERIA, N. K., ZIMMERMANN, F. J. P. (1998): Influence of pH on growth and nutrient uptake by crop species in an oxisol. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 29 (17-18) 2675-2682. p.

- doi: 10.1080/00103629809370142
- 54) FILIP, Z., (2002): International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 88 (2) 169-174. p.
doi: 10.1016/S0167-8809(01)00254-7
- 55) FITZPATRICK, K. A., KERSH, G. J., MASSUNG, R. F. (2010): Practical method for extraction of PCR-quality DNA from environmental soil samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 76 (13) 4571-4573. p.
doi: 10.1128/AEM.02825-09
- 56) FLIEßBACH, A., OBERHOLZER, H. R., GUNST, L., MÄDER, P. (2007): Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 118 (1-4) 273-284. p.
doi: 10.1016/j.agee.2006.05.022
- 57) FODOR, Z., KOLLÁTH, K., CSONKA, T. (2013): Beszámoló 2012. év éghajlatáról és szélsőséges időjárási eseményeiről. A Kormány 277/2005. (XII. 20.) Korm. Rendelete az Országos Meteorológiai Szolgálatról 2. § (1) e) pontja alapján. Országos Meteorológiai Szolgálat. 2013.
- 58) FÜLEKY, GY. (1999): Tápanyag-gazdálkodás. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 714 p.
- 59) GANGWAR, RAVI. KUMAR., MAKÁDI, MARIANNA., FUCHS, MÁRTA., CSORBA, ÁDÁM., MICHÉLI, ERIKA., DEMETER, IBOLYA., TÁNCICS, ANDRÁS., SZEGI, TAMÁS. (2019): Talajmikrobiológiai paraméterek változása szántóként és rétként hasznosított réti szolonyec talajokban. *Agrokémia és Talajtan*, 68 (1) 155-175. p.
doi: 10.1556/0088.2019.00024
- 60) GARBISU, C., ALKORTA, I., EPELDE, L. (2011): Assessment of soil quality using microbial properties and attributes of ecological relevance. *Applied Soil Ecology*, 49 (1) 1-4. p.
doi: 10.1016/j.apsoil.2013.10.003
- 61) GARG, N. (2007): Symbiotic nitrogen fixation in legume nodules: process and signaling. A review. *Argonomy for Sustainable Development*, 27 (1) 59-68. p.
doi: 10.1007/978-90-481-2666-8_32
- 62) GARRITY, G. M., BELL, J. A., LILBURN, T. (2015): *Proteobacteria* phyl. nov. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. 1-1.
- 63) GAZDAG, O., KÖDÖBÖCZ, L., SZILI-KOVÁCS, T., MURÁNYI, A. (2015): Characterization of the efficiency of soybean inoculation. *Agrokémia és Talajtan*, 64 (2) 453-465. p.
doi: 10.1556/0088.2015.64.2.11
- 64) GAZDAG, O., TAKÁCS, T., KÖDÖBÖCZ, L., MUCSI, M., SZILI-KOVÁCS, T. 2018. Soil metabolic activity profiles of the organic and conventional land use at Martonvásár. *Columella: Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 5 (1) 27-35. p.
doi: 10.18380/SZIE.COLUM.2018.5.1.27
- 65) GAZDAG, O., TAKÁCS, T., KÖDÖBÖCZ, L., KRETT, G., SZILI-KOVÁCS, T. (2019a): *Alphaproteobacteria* communities depend more on soil types than land managements. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil & Plant Science*, 69 (2) 147-154. p.
doi: 10.1080/09064710.2018.1520289
- 66) GAZDAG, O., KOVÁCS, R., PARÁDI, I., FÜZY, A., KÖDÖBÖCZ, L., MUCSI, M., SZILI-KOVÁCS T., INUBUSHI, K., TAKÁCS, T. (2019b): Density and diversity of microbial symbionts under organic and conventional agricultural management. *Microbes and Environment*, 34 (3) 234-243. p.
doi: 10.1264/jsme 2.ME18138.
- 67) GE, T., CHEN, X., YUAN, H., LI, B., ZHU, H., PENG, P., LI, K., JONES, D. L., 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. p.
doi: 10.1016/j.ejsobi.2013.07.005
- 68) GIL-SOTRES, F., TRASAR-CEPEDA, C., LEIRÓS, M. C., SEOANE, S. (2005): Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 37 (5) 877-887. p.
doi: 10.1016/j.soilbio.2004.10.003
- 69) GOBERNA, M., VERDÚ, M. (2018): Phylogenetic-scale disparities in the soil microbial diversity–ecosystem functioning relationship. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 12 (9) 2152–2162. p.
doi: 10.1038/s41396-018-0162-5
- 70) GOMES, N. C. M., HEUER, H., SCHÖNFELD, J., COSTA, R., MENDONÇA-HAGLER, L., SMALLA, K. (2001): Bacterial diversity of the rhizosphere of maize (*Zea mays*) grown in tropical soil studied by temperature gradient gel electrophoresis. *Plant and Soil*, 232 (1-2) 167-180. p.
doi: 10.1023/A:1010350406708
- 71) GORDON, H., HAYGARTH, P. M., BARDGETT, R. D. (2008): Drying and rewetting effects on soil microbial community composition and nutrient leaching. *Soil Biology and Biochemistry*, 40 (2) 302-311. p.
doi: 10.1016/j.soilbio.2007.08.008
- 72) GOSLING, P., HODGE, A., GOODLASS, G., BENDING, G. D. (2006): Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystem & Environment*, 113 (1-4) 17-35. p.
doi: 10.1016/j.agee.2005.09.009
- 73) GOSLING, P., OZAKI, A., JONES, J., TURNER, M., RAYNS, F., BENDING, G.D. (2010): Organic management of tilled agricultural soils results in a rapid increase in colonisation potential and spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi. *Agriculture, Ecosystem & Environment*, 139 (1-2) 273-279. p.
doi: 10.1016/j.agee.2010.08.013
- 74) GULYÁS, F., LÁSZTITY, B., SZEGI, J., KÁDÁR, I. 1984. Cellulose decomposition in chernozem soil as affected by intensive fertilization. 95-106. p. In: SZEGI, J. (Szerk.): *Soil Biology and Conservation of the Biosphere*. Budapest: Akadémiai Kiadó. 901 p. ISBN 9630537001, 9789630537001
- 75) GULYÁS, F., FÜLEKY, GY. (1994): C- and N-transformation dynamics in the soil. *Die Bodenkultur*, 45 313–318. p.
- 76) GUNAPALA, N., SCOW, K. M. (1998): Dynamics of soil microbial biomass and activity in conventional and organic farming systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 30 (6) 805-816. p.
doi: 10.1016/S0038-0717(97)00162-4
- 77) GUNINA, A., KUZYAKOV, Y. (2015): Sugars in soil and sweets for microorganisms: Review of origin, content, composition and fate. *Soil Biology and Biochemistry*, 90 87-100. p.
doi: 10.1016/j.soilbio.2015.07.021
- 78) HACKL, E., ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S., BORDOSSY L., SESSITSCH, A. (2004): Comparison of diversities and compositions of bacterial populations inhabiting natural forest soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (9) 5057-5065. p.
doi: 10.1128/AEM.70.9.5057-5065.2004
- 79) HAJÓSNÉ NOVÁK, M. (1999): Genetikai variabilitás a növénynevelésben. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 142. p. ISBN: 9639121665

- 80) HELMECZI, B. (2005): Mezőgazdasági mikrobiológia. Debrecen: Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Mezőgazdaságtudományi Kar, Talajtani és Mikrobiológiai Tanszék. 456 p.
ISBN: 9638439033
- 81) HESZKY, L., FÉSŰS, L., HORNOK, L. (2005): Mezőgazdasági biotechnológia. Budapest: Agroinform Kiadó. 366 p.
ISBN: 9635028377
- 82) HILL, G. T., MITKOWSKI, N. A., ALDRICH-WOLFE, L., EMELE, L. R., JURKONIE, D. D., FICKE, A., MALDONADO-RAMIREZ, S., LYNCH, S. T., NELSON, E. B. (2000): Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology*, 15 (1) 25-36. p.
doi: 10.1016/S0929-1393(00)00069-X
- 83) HORNOK, L. (2006): Mezőgazdasági és ipari mikrobiológia. Gödöllő: Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar. 124 p.
- 84) IBM CORP. RELEASED (2017): IBM SPSS Statistics for Windows, Version, 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- 85) IUSS WORKING GROUP WRB. (2015): World Reference Base for Soil Resources 2014. update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports. 106 FAO, Rome: Italy.”
- 86) JEFFERY, S., GARDI, C., JONES, A., MONTANARELLA, L., MARMO, L., MIKO, L., RITZ, K., PERES, G., RÖMBKE, J., VAN der PUTTEN, W. H. (2010): European atlas of soil biodiversity. 332. p. In: LOVELAND, P. (Ed.): *European Journal of Soil Science*. Hoboken: John Wiley and Sons. 333 p.
doi: 10.1111/j.1365-2389.2010.01335.x
- 87) JOHANSSON, J. F., PAUL, L. R., FINLAY, R. D. (2004): Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology*, 48 (1) 1-13. p.
doi: 10.1016/j.femsec.2003.11.012
- 88) KARI, A., NAGYMÁTÉ, ZS., ROMSICS, CS., VAJNA, B., KUTASI, J., PUSPÁN, I., KÁRPÁTI, É., KOVÁCS, R., MÁRIALIGETI, K. (2019): Monitoring of soil microbial inoculants and their impact on maize (*Zea mays* L.) rhizosphere using T-RFLP molecular fingerprint method. *Applied Soil Ecology*, 138 233-244. p.
doi: 10.1016/j.apsoil.2019.03.010
- 89) KARLEN, D. L., AMDREWS, S. S., WEINHOLD, B. J., DORAN, J.W. (2003): Soil quality: Humankind's foundation for survival. *Journal of Soil and Water Conservation*, 58 (4) 171-179. p.
- 90) KÁDÁR, I. (1992): A növénytáplálás alapelvei és módszerei. Budapest: Magyar Tudományos Akadémia Talajtani és Agrokémiái Kutató Intézete. 398 p.
- 91) KÁDÁR, I., JOACHIM, K., HARRACH, T., RADICS, L., PÉCHY, K. (2003): A szója (*Glycine max*. L. Merr.) műtrágyázása karbonátos csernozjom talajon. *Növénytermelés*, 52 (1) 61-74. p.
- 92) KÁTAI, J. (2011): Talajökológia, Debreceni Egyetem, Nyugat-Magyarországi Egyetem, Pannon Egyetem.
- 93) KERSTERS, K., De Vos, P., GILLIS, M., SWINGS, J., VANDAMME, P., STACKEBRANDT, E. (2006): Introduction to the Proteobacteria. The prokaryotes: volume 5: Proteobacteria: alpha and beta subclasses. 3-37. p.
- 94) KHAN, A. A., JILANI, G., AKHTAR, M. S., NAQVI, S. M. S., RASHEED, M. (2009): Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J agric biol sci*. 1(1) 48-58. p.
- 95) KIDD, J., MANNING, P., SIMKIN, J., PEACOCK, S., STOCKDALE, E. (2017): Impacts of 120 years of fertilizer addition on a temperate grassland ecosystem. *Public Library of Science ONE*, 12 (3) e0174632.

- doi: 10.1371/journal.pone.0174632.
- 96) KIM, K. H., KABIR, E., JAHAN, S. A. (2017): Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the Total Environment*, 575 525-535. p.
doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.009.
- 97) KISS, E. (1999): *Növényi molekuláris genetika I.* Gödöllő: SZIE nyomda. 118 p.
- 98) KLOPPER, J. W., SCRHOTH, M. N. (1981): Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, 71 (6) 642-644. p.
doi: 10.1094/Phyto-71-642
- 99) KOCSIS, T. J. (2018): *Bioszén és bioeffektor kombinációk hatása homoktalajok biológiai tulajdonságaira*, doktori értekezés, Szent István Egyetem, Budapest.
- 100) KOLUMBÁN, G., LANTOS, T., TIRCZKA, I. (2017): *Az ökológiai gazdálkodás alapjai.* Szent István Egyetemi Kiadó Nonprofit Kft. Gödöllő.
- 101) KÖDÖBÖCZ, L., BIRÓ, B., BAYOUMI, H. E. A. F., KECSKÉS, M. (2007): Activation of native *Rhizobium* population with composted and digested wastes on two alfalfa varieties. *Cereal Research Communications*, 35 (2) 657-660. p.
doi: 10.1556/CRC.35.2007.2.123
- 102) KÖDÖBÖCZ, L., MURÁNYI, A. (2012): A DNS talajmintából való kivonásának módszertani áttekintése. *Agrokémia és Talajtan*, 61 (1) 227-234. p.
doi: 10.1556/Agrokem.60.2012.1.16
- 103) KÖDÖBÖCZ, L., GAZDAG, O., FÜZY, A., MURÁNYI, A., TAKÁCS, T. (2013): Szimbionta mikrobák jellemzése és diverzitása organikus és nagyüzemi talajművelési módoknál. In: Janda, T. (Szerk.): *II. ATK Tudományos Nap: Velünk Élő Tudomány* (A Magyar Tudomány Ünnepe alkalmából). 273 p. Konferencia helye, ideje: Martonvásár, Magyarország, 2013.11.08. Martonvásár: MTA Agrártudományi Kutatóközpont, 2013. 278-281. p. (ISBN:978-963-8351-41-8)
- 104) LAKANEN, E., ERVIÖ, R. (1971): A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soils. *Acta Agralia Fennica*, 123 223-232. p.
- 105) LAKAY, F. M., BOTHA, A., PRIOR, B. A. (2007): Comparative analysis of environmental DNA extraction and purification methods from different humic acid-rich soils. *Journal of Applied Microbiology*, 102 (1) 265-273. p.
doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03052.x
- 106) LAMMERTS van BUEREN, E. T., JONES, S. S., TAMM, L., MURPHY, K. M., MYERS, J. R., LEIFERT, C., MESSMER, M. M. (2011): The need to breed crop varieties suitable for organic farming, using wheat, tomato and broccoli as examples: A review. *NJAS — Wageningen Journal of Life Sciences*, 58 (3-4) 193-205. p.
doi: 10.1016/j.njas.2010.04.001
- 107) LARSON, W. E., PIERCE, F. J., (1994): The dynamics of soil quality as a measure of sustainable management. 37-51. p. In: DORAN, J. W., COLEMAN, D. C., BEZDICEK, D. F., STEWART, B. A. (Eds.): *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Madison: Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. 244 p.
doi: 10.2136/sssaspepub35.c3
- 108) LAZCANO, C., GÓMEZ-BRANDÓN, M., REVILLA, P., DOMÍNGUEZ, J. (2013): Short-term effects of organic and inorganic fertilizers on soil microbial community structure and function. *Biol Fertil Soils*. 49 (6) 723-733. p.
doi: 10.1007/s00374-012-0761-7
- 109) van LEEUWEN, J. P., DJUKIC, I., BLOEM, J., LEHTINEN, T., HEMERIK, L., de RUITER, P. C., LAIR, G. J. (2017): Effects of land use on soil microbial biomass, activity and community structure at different soil depths in the Danube floodplain. *European Journal of Soil Biology*, 79 14-20. p.
doi: 10.1016/j.ejsobi.2017.02.001

- 110) LI, G., CHEN, J., SUN, Z., TAN, M. (2007): Establishing a minimum dataset for soil quality assessment based on soil properties and land-use changes. *Acta Ecologica Sinica*, 27 (7) 2715-2724. p
doi: 10.1016/S1872-2032(07)60059-6
- 111) LI, R., KHAFIPOUR, E., KRAUSE, D. O., ENTZ, M. H., de KIEVIT, T. R., FERNANDO, W. D. (2012): Pyrosequencing reveals the influence of organic and conventional farming systems on bacterial communities. *Public Library of Science ONE*, 7 (12) e51897. p.
doi: 10.1371/journal.pone.0051897
- 112) LOPES, A. R., FARIA, C., PRIETO-FERNÁNDEZ, Á., TRASAR-CEPEDA, C., MANAIA, C. M., NUNES, O. C. (2011): Comparative study of the microbial diversity of bulk paddy soil of two rice fields subjected to organic and conventional farming. *Soil Biology and Biochemistry*, 43 (1) 115-125. p.
doi: 10.1016/j.soilbio.2010.09.021
- 113) LUGTENBERG, B. (2015): Life of microbes in the rhizosphere. 7-15. p. In: LUGTENBERG, B. (Ed.): *Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture*. Cham: Springer. 448 p.
doi: 10.1007/978-3-319-08575-3
- 114) LYNCH, J. M., BENEDETTI, A., INSAM, H., NUTI, M. P., SMALLA, K., TORSVIK, V., NANNIPIERI, P. (2004): Microbial diversity in soil: ecological theories, the contribution of molecular techniques and the impact of transgenic plants and transgenic microorganisms. *Biology and Fertility of Soils*, 40 (6) 363-385. p.
doi: 10.1007/s00374-004-0784-9
- 115) MADARÁSZ, B., JAKAB, G., TÓTH, A. (2018): Facing to real sustainability – conservation agricultural practices around the world. *Environmental Science and Pollution Research*, 25 (2) 975-976. p.
doi: 10.1007/s11356-017-1040-9
- 116) MAKÁDI, M. (2010): *Ásványi és szerves adalékanyagok hatása a nyírségi homoktalajok mikrobiológiai tulajdonságaira*, doktori értekezés, Szent István Egyetem, Gödöllő.
- 117) MAO, Y., YANNARELL, A. C., MACKIE, R. I. (2011): Changes in N-transforming archaea and bacteria in soil during the establishment of bioenergy crops. *Public Library of Science ONE*, 6 (9) e24750. p.
doi: 10.1371/journal.pone.0024750
- 118) MARCHESI, J. R., SATO, T., WEIGHTMAN, A. J., MARTIN, T. A., FRY, J. C., HIOM, S. J., DIMOCK, D., WADE, W. G. (1998): Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (2) 795-799. p.
- 119) MARINARI, S., MANCINELLI, R., CAMPIGLIA, E., GREGO, S. (2006): Chemical and biological indicators of soil quality in organic and conventional farming systems in Central Italy. *Ecol. Indic.* 6 701–711. p.
doi: 10.1016/j.ecolind.2005.08.029
- 120) MARTÍNEZ-GARCÍA, L. B., KORTHALS, G., BRUSSAARD, L., JØRGENSEN, H. B., DE DEYN, G. B. (2018): Organic management and cover crop species steer soil microbial community structure and functionality along with soil organic matter properties. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 263 7-17. p.
doi: 10.1016/j.agee.2018.04.018
- 121) MATSUSHITA, Y., BAO, Z., KUROSE, D., OKADA, H., TAKEMOTO, S., SAWADA, A., NAGASE, H., TAKANO, M., MURAKAMI, H., KOITABASHI, M., YOSHIDA, S., SAITO, M., SANO, T., TSUSHIMA, S. (2015): Community structure, diversity and species dominance of bacteria, fungi and nematodes from naturally and conventionally farmed soil: a case study on Japanese apple orchards. *Organic Agriculture*, 5 (1) 11-28. p.
doi: 10.1007/s13165-015-0096-4

- 122) MÁTHÉ, P., FÜLEKY, G., ANTON, A. (1994): Effect of carbon- and phosphorus-content on the phosphomonoesterase activity in soil. *Acta Biologica Hungarica*, 45 (1) 81-85. p.
- 123) McCAIG, A. E., GLOVER, L. A., PROSSER, J. I. (1999): Molecular analysis of bacterial community structure and diversity in unimproved and improved upland grass pastures. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (4) 1721-1730. p.
- 124) McCAIG, A. E., GLOVER, L. A., PROSSER, J. I. (2001): Numerical analysis of grassland bacterial community structure under different land management regimens by using 16S ribosomal DNA sequence data and denaturing gradient gel electrophoresis banding patterns. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (10) 4554-4559. p.
doi: 10.1128/aem.67.10.4554-4559.2001
- 125) MEHBOOB, I., NAVEED, M., ZAHIR, Z. A., SESSITSCH, A. (2013): Potential of rhizosphere bacteria for improving *Rhizobium*-legume symbiosis. 305-349. p. In: ARORA, N. K. (Ed.): *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances*. New Delhi: Springer, 459 p.
doi: 10.1007/978-81-322-1287-4_12
- 126) MIKÓ, P., LÖSCHENBERGER, F., HILTBRUNNER, J., AEBI, R., MEGYERI, M., KOVÁCS, G., MOLNÁR-LÁNG, M., VIDA, GY., RAKSZEGLI, M. (2014): Comparison of bread wheat varieties with different breeding origin under organic and low input management. *Euphytica*, 199 (1-2) 69-80. p.
doi: 10.1007/s10681-014-1171-8
- 127) MÉMNAK. (1979): Műtrágyázási irányelvek és a műtrágyázás üzemi számítási módszere. (Szerk.: Buzás, I. és Fekete, A.) Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- 128) MÓRING, A., FODOR, Z., KOLLÁTH, K., CSONKA, T. (2012): Beszámoló 2011. év éghajlatáról és szélsőséges időjárási eseményeiről. A Kormány 277/2005. (XII. 20.) Korm. Rendelete az Országos Meteorológiai Szolgálatról 2. § (1) e) pontja alapján. Országos Meteorológiai Szolgálat. 2012.
- 129) MUCSI, M., CSONTOS, P., BORSODI, A., KRETT G., GAZDAG O., SZILI-KOVÁCS, T. (2017): A mikrorespirációs (MikroRespTM) módszer alkalmazása apajpusztai szikes talajok mikrobaközösségeinek katabolikus aktivitás mintázatának vizsgálatára. *Agrokémia és Talajtan*, 66 (1) 165-179. p.
doi: 10.1556/0088.2017.66.1.10
- 130) MULLIS, K. B., FALOONA, F. A. (1987): Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155 335-350. p.
doi: 10.1016/0076-6879(87)55023-6
- 131) MUMY, K. L., FINDLAY, R. H. (2004): Convenient determination of DNA extraction efficiency using an external DNA recovery standard and quantitative-competitive PCR. *Journal of Microbiological Methods*, 57 (2) 259-268. p.
doi: 10.1016/j.mimet.2004.01.013
- 132) NÉMETH, T. (2014): Szennyvizek, iszapok, komposztok, szerves trágyák a talajtermékenység szolgálatában. *Agrokémia és Talajtan*, 63 (2) 427-428. p.
doi: 10.1007/s00088-014-0020
- 133) NIELSEN, M.N., WINDING, A. (2002): Microorganisms as indicators of soil health. NERI Technical Report No. 388. Roskilde: Ministry of the Environment, National Environmental Research Institute. 84 p.
ISBN: 87-7772-658-8
- 134) NIEMI, R. M., HEISKANEN, I., WALLENIUS, K., LINDSTRÖM, K. (2001): Extraction and purification of DNA in rhizosphere soil samples for PCR-DGGE analysis of bacterial consortia. *Journal of Microbiological Methods*, 45 (3) 155-165. p.
doi: 10.1016/S0167-7012(01)00253-6
- 135) NORTCLIFF, S., (2002): Standardisation of soil quality attributes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 88 (2) 161-168. p.

- doi: 10.1016/S0167-8809(01)00253-5
- 136) NÜSSLEIN, K., TIEDJE, J. M. (1998): Characterization of the dominant and rare members of a young Hawaiian soil bacterial community with small-subunit ribosomal DNA amplified from DNA fractionated on the basis of its guanine and cytosine composition. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (4) 1283-1289. p.
- 137) OLDAL, B. (2006): *Rhizoszféra baktériumok és magasabb rendű növények interakcióinak ökológiai értékelése*, doktori értekezés, Szent István Egyetem, Gödöllő.
- 138) OLDROYD, G. (2007): Root-nodule symbiosis: Molecular basis of nodule formation. *Encyclopedia of Life Sciences*.
doi: 10.1002/9780470015902.a0020128
- 139) OLDROYD, G. E., DOWNIE, J. A. (2008): Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. *Annual Review of Plant Biology*, 59 519-546. p.
doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092839
- 140) OSZTOICS, E., MAGYAR, M., RAJKAINÉ VÉGH, K., CSILLAG, J., TAKÁCS, T., CSATHÓ, P. (2002): A nyersfoszfát, mint közvetlen P-trágya alkalmazásának feltételei és agronómiai hatása. *Agrokémia és Talajtan*, 51 (3-4) 505-543. p.
doi: 10.1556/Agrokem.51.2002.3-4.16
- 141) PARÁDI, I. (2013): Növényi szimbiózisok élettana. 349-370. p. In: BRATEK, Z., FODOR, F., KIRÁLY, I., NYITRAI, P., PARÁDI, I., RÁCZ, I., RUDNÓY, SZ., SÁRVÁRI, É., SOLTI, Á., SZIGETI, Z., TAMÁS, L. (Szerk.): *A növényi anyagcsere élettana*. Budapest: Eötvös Loránd Tudományegyetem, 379 p.
- 142) PÁLVÖLGYI, A., (2009): *A kapszuláris poliszacharid bioszintézis és a 16-3 bakteriofág receptor Sinorhizobium meliloti 41 baktériumban*, doktori értekezés, Pécsi Tudományegyetem, Pécs.
- 143) PEACOCK, A. D., MACNAUGHTON, S. J., CANTU, J. M., DALE, V. H., WHITE, D. C. (2001): Soil microbial biomass and community composition along an anthropogenic disturbance gradient within a long-leaf pine habitat. *Ecological Indicators*, 1 (2) 113-121. p.
doi: 10.1016/S1470-160X(01)00013-9
- 144) PETRIC, I., PHILIPPOT, L., ABBATE, C., BISPO, A., CHESNOT, T., HALLIN, S., LAVAL, K., LEBEAU, T., LEMANCEAU, P., LEYVAL, C., LINDSTÖRM, K., PANDARD, P., ROMERO, E., SARR, A., SCHLOTTER, M., SIMONET, P., SMALLA, K., WILKE, B.-M., MARTIN-LAURENT, F. (2011): Inter-laboratory evaluation of the ISO standard 11063 "Soil quality – Method to directly extract DNA from soil samples". *Journal of Microbiological Methods*, 84 (3) 454-460. p.
doi: 10.1016/j.mimet.2011.01.016
- 145) PICARD, C., PONSONNET, C., PAGET, E., NESME, X., SIMONET, P. (1992): Detection and enumeration of bacteria in soil by direct DNA extraction and polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (9) 2717-2722. p.
- 146) PLASSART, P., TERRAT, S., THOMSON, B., GRIFFITHS, R., DEQUIEDT, S., LELIEVRE, M., REGNIER, T., NOWAK, V., BAILEY, M., LEMANCEAU, P., BISPO, A., CHABBI, A., MARON, P. A., MOUGEL, C., RANJARD, L. (2012): Evaluation of the ISO Standard 11063 DNA extraction procedure for assessing soil microbial abundance and community structure. *Public Library of Science ONE*, 7 (9) e44279. p.
doi: 10.1371/journal.pone.0044279
- 147) POLY, F., MONROZIER, L. J., BALLY, R. (2001): Improvement in the RFLP procedure for studying the diversity of nifH genes in communities of nitrogen fixers in soil. *Research in Microbiology*, 152 (1) 95-103. p.
doi: 10.1016/S0923-2508(00)01172-4
- 148) RADICS, L. (2001): *Ökológiai gazdálkodás*. Budapest: Dinasztia-Ház Rt. 316 p. ISBN 963-657-329-8.

- 149) RADICS, L. (2018): *Ökológiai gazdálkodás dióhéjban*. Budapest: Agroinform Kiadó. 379 p.
ISBN: 978-615-5666-20-9
- 150) RAICH, J. W., SCHLESINGER, W. H. (1992): The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus B*, 44 (2) 81-99. p.
doi: 10.1034/j.1600-0889.1992.t01-1-00001.x
- 151) RAVENSBERG, W. J. (2015): Commercialisation of microbes: Present situation and future prospects. 309-317. p. In: LUGTENBERG, B. (Ed.): *Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture*. Cham: Springer. 448 p.
doi: 10.1007/978-3-319-08575-3_32
- 152) REEVE, J. R., HOAGLAND, L. A., VILLALBA, J. J., CARR, P. M., ATUCHA, A., CAMBARDELLA, C., DAVIS, D. R., DELATE, K. (2016): Chapter Six - Organic farming, soil health, and food quality: Considering possible links. *Advances in Agronomy*, 137 319-367. p.
doi: 10.1016/bs.agron.2015.12.003
- 153) RICHES, D., PORTER, I. J., OLIVER, D. P., BRAMLEY, R.G.V., RAWNSLEY, B., EDWARDS, J., WHITE, R.E. (2013): Review: soil biological properties as indicators of soil quality in Australian viticulture. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19 (3) 311-323. p.
doi: 10.1111/ajgw.12034
- 154) RIEDER, Á., MADARÁSZ, B., SZABÓ, J. A., ZACHÁRY, D., VANCSIK, A., RINGER, M., SZALAI, Z., JAKAB, G. (2018): Soil organic matter alteration velocity due to land-use change: a case study under conservation agriculture. *Sustainability*, 10 (4) 1-11. p.
doi: 10.3390/su10040943
- 155) ROELFSEMA, J. H., PETERS, D. J. M. (2005): Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE). 79-86. p. In: WALKER, J. M., RAPLEY, R. (Eds.): *Molecular Biomethods Handbook*. Totowa: Humana Press, Inc. 644 p.
doi: 10.1385/1-59259-870-6:079
- 156) ROMANIUK, R., GIUFFRÉ, L., COSTANTINI, A., NANNIPIERI, P. (2011): Assessment of soil microbial diversity measurements as indicators of soil functioning in organic and conventional horticulture systems. *Ecological Indicators*, 11 (5) 1345-1353. p.
doi: 10.1016/j.ecolind.2011.02.008
- 157) ROWELL, M. J. (1995): Colorimetric Method for CO₂ Measurement in Soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 27 (3) 373-375. p.
- 158) RÖSCH, C., MERGEL, A., BOTHE, H. (2002): Biodiversity of denitrifying and dinitrogen-fixing bacteria in an acid forest soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (8) 3818-3829. p.
doi: 10.1128/AEM.68.8.3818-3829.2002
- 159) SAGOVA-MARECKOVA, M., CERMAK, L., NOVOTNA, J., PLHACKOVA, K., FORSTOVA, J., KOPECKY, J. (2008): Innovative methods for soil DNA purification tested in soils with widely differing characteristics. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (9) 2902-2907. p.
doi: 10.1128/AEM.02161-07
- 160) SAHOO, P. K., BHATTACHARYYA, P., TRIPATHY, S., EQUENUDDIN, S. M., PANIGRAHI, M. K. (2010): Influence of different forms of acidities on soil microbiological properties and enzyme activities at an acid mine drainage contaminated site. *Journal of Hazardous Materials*, 179 (1-3) 966-975. p.
doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.03.099
- 161) SAIKI, R. K., SCHARF, S., FALOONA, F., MULLIS, K., HORN, G. T., ERLICH, H. A., ARNHEIM, A. (1985): Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 230 (4732) 1350-1354. p.

- doi: 10.1126/science.2999980
- 162) SANGER, F., NICKLEN, S., COULSON, A. R. (1977): DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74 (12) 5463-5467. p.
doi: 10.1073/pnas.74.12.5463
- 163) SANTOYO, G., HERNÁNDEZ-PACHECO, C., HERNÁNDEZ-SALMERÓN, J., HERNÁNDEZ-LEÓN, R. (2017): The role of abiotic factors modulating the plant-microbe-soil interactions: toward sustainable agriculture. A review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 15 (1) 1-15. p.
doi: 10.5424/sjar/2017151-9990
- 164) SCHLESINGER, W. H., ANDREWS, J. A. (2000): Soil respiration and the global carbon cycle. *Biogeochemistry*, 48 (1) 7-20. p.
doi: 10.1023/A:1006247623877
- 165) SCHLOTTER, M., DILLY, O., MUNCH, J. C. (2003): Indicators for evaluating soil quality. *Agriculture, Ecosystem & Environment*, 98 (1-3) 255-262. p.
doi: 10.1016/S0167-8809(03)00085-9
- 166) SCHNÜRER, J., ROSSWALL, T. (1982): Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in the soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology*, 43 (6) 1256-1261. p.
- 167) SEMENOV, M., BLAGODATSKAYA, E., STEPANOV, A., KUZYAKOV, Y. (2018): DNA-based determination of soil microbial biomass in alkaline and carbonaceous soils of semi-arid climate. *Journal of Arid Environments*, 150 54-61. p.
doi: 10.1016/j.jaridenv.2017.11.013
- 168) SINGH, C., SONI, R., JAIN, S., ROY, S., GOEL, R. (2009): Diversification of nitrogen fixing bacterial community using nifH gene as a biomarker in different geographical soils of Western Indian Himalayas. *Journal of Environmental Biology*, 31 (5) 553-556. p.
- 169) SIPOS, R., SZÉKELY, A. J., PALATINSZKY, M., RÉVÉSZ, S., MÁRIALIGETI, K., NIKOLAUSZ, M. (2007): Effect of primer mismatch, annealing temperature and PCR cycle number on 16S rRNA gene - targeting bacterial community analysis. *FEMS Microbiology Ecology*, 60 (2) 341-350. p.
doi: 10.1111/j.1574-6941.2007.00283.x
- 170) SHIEH, W. Y., LIN, Y. T., JEAN, W. D. (2004): *Pseudovibrio denitrificans* gen. nov., sp. nov., a marine, facultatively anaerobic, fermentative bacterium capable of denitrification. *Int J Syst Evol Microbiol.* 54 2307–2312. p.
doi: 10.1099/ijs.0.63107-0
- 171) SHUKLA, M. K., LAL, R., EBINGER, M., (2006): Determining soil quality indicators by factor analysis. *Soil and Tillage Research*, 87 (2) 194-204. p.
doi: 10.1016/j.still.2005.03.011
- 172) SOLIMAN, T., YANG, S. Y., YAMAZAKI, T., JENKE-KODAMA, H. (2017): Profiling soil microbial communities with next-generation sequencing: the influence of DNA kits election and technician technical expertise. *PeerJ*, 5 e4178. p.
10.7717/peerj.4178.
- 173) STEFANOVITS, P. (1972): Talajtan. Budapest: Mezőgazda Kiadó.
- 174) STEFANOVITS, P., FILEP, GY., FÜLEKY, GY. (1999): Talajtan. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 470 p.
- 175) STINNER, W., MÖLLER, K., LEITHOLD, G. (2008): Effects of biogas digestion of clover/grass-leys, cover crops and crop residues on nitrogen cycle and crop yield in organic stockless farming systems. *European Journal of Agronomy*, 29 (2-3) 125-134. p.
doi: 10.1016/j.eja.2008.04.006
- 176) SZABÓ, I. M. (1992): Az általános talajtan biológiai alapjai. Budapest: Magyar Mezőgazdasági Kiadó Kft. 406 p.
ISBN: 9789639713055

- 177) SZABÓ, A (2008a): Bevezetés a mezőgazdasági mikrobiológiába. Debrecen: Debreceni Egyetem Agrár- és Műszaki Tudományok Centruma. Mezőgazdaságtudományi Kar. Élelmiszertudományi, Minőségbiztosítási és Mikrobiológiai Intézet. 288 p.
- 178) SZABÓ, I. M. (2008b): Az általános talajtan biológiai alapjai. Budapest: Mundus Magyar Egyetemi Kiadó. 406 p.
ISBN: 9789639713055
- 179) SZABÓ, A. (2018): A biogazdálkodás története és tendenciái. Országgyűlés hivatala, Közgyűjteményi és Közművelődési Igazgatóság.
[https://www.parlament.hu/documents/10181/1763272/Elemz%
od%
Keresőprogram: Google.
Kulcsszavak: 2018 biogazdálkodás elemzés. Lekérdezés időpontja: 2019.03. 03.](https://www.parlament.hu/documents/10181/1763272/Elemz%c3%a9s_2018_Biogazdalkod%c3%a1s.pdf/efbe988d-5f9f-af3b-1654-ec4e1f90531d)
- 180) SZEGI, J. (1979): Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek. Budapest: Mezőgazda kiadó. 310 p.
ISBN: 9632300815
- 181) SZÉCSI, Á., KÁDÁR, I., SZÁNTÓ, M. (1989): Endomikorrhiza gombák izolálása kukorica alól csernozjom talajon. *Agrokémia és Talajtan*, 38 429-440. p.
- 182) SZILI-KOVÁCS, T., SZEGI, J. (1992): Néhány magyarországi talaj mikrobiális biomassza C-tartalmának meghatározása kloroform fumigációs és szubsztrát-indukált respirációs módszerrel. *Agrokémia és Talajtan*, 41 227-240. p.
- 183) SZILI-KOVÁCS, T. (2004): Szubsztrát-indukált respiráció a talajban. *Agrokémia és Talajtan*, 53 (1-2) 195-214. p.
doi: 10.1556/Agrokem.53.2004.1-2.14
- 184) SZILI-KOVÁCS, T., TÖRÖK, K. (2005): Szénforráskezelés hatása a talaj mikrobiális aktivitására és biomasszájára felhagyott homoki szántókon. *Agrokémia és Talajtan*, 54 (1-2) 149-162. p.
doi: 10.1556/Agrokem.54.2005.1-2.11
- 185) SZILI-KOVÁCS, T., SZABÓ, R., HALASSY, M., TÖRÖK, K. (2008): Homokpusztagyeppek természetvédelmi restaurációja a talaj-nitrogén immobilizációjával. 3. Mikrobiális biomassza C és N, ásványi N értékek alakulása 2000-2002 évek között. *Agrokémia és Talajtan*, 57 (1) 133-146. p.
doi: 10.1556/Agrokem.57.2008.1.11
- 186) SZILI-KOVÁCS, T., ZSUPOSNÉ, O. Á., KÁTAI, J., VILLÁNYI, I., TAKÁCS, T. (2009): Talajbiológiai és talajkémiai változók közötti összefüggések néhány tartamkísérlet talajában. *Agrokémia és Talajtan*, 58 (2) 309-324. p.
doi: 10.1556/Agrokem.58.2009.2.11
- 187) SZILI-KOVÁCS, T., KÁTAI, J., TAKÁCS, T. (2011): Mikrobiológiai indikátorok alkalmazása a talajminőség értékelésében. 1. Módszerek. *Agrokémia és Talajtan*, 60 (1) 273-286. p.
doi: 10.1556/Agrokem.60.2011.1.20
- 188) SZILI-KOVÁCS, T., BÁRÁNY, Á., FÜZY, A., TAKÁCS, T., KRETT, G., KOVÁCS, R., BORSODI, A. (2017): Mikrobiális anyagcsere aktivitás-mintázat és mikorrhiza gomba kolonizáció elemzése három szikes tó melletti talaj rizoszférában. *Agrokémia és Talajtan*, 66 (1) 149-164.
doi: 10.1556/0088.2017.66.1.9
- 189) TALIA, P., SEDE, S. M., CAMPOS, E., RORIG, M., PRINCIPI, D., TOSTO, D., HOPP, H. E., GRASSO, D., CATALDI, A. (2012): Biodiversity characterization of cellulolytic bacteria present on native Chaco soil by comparison of ribosomal RNA genes. *Research in Microbiology*. 163 (3) 221-232. p.
doi: 10.1016/j.resmic.2011.12.001
- 190) TANASE, A. M., MEREUTA, I., CHICIUDEAN, I., IONESCU, R., MILEA, L., CORNEA, C. P., VASSU, T., STOICA, I. (2015): Comparison of total DNA extraction

- methods for microbial community form polluted soil. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 6 616-622. p.
doi: 10.1016/j.aaspro.2015.08.102
- 191) TAUTGES, N. E., SULLIVAN, T. S., REARDON, C. L., BURKE, I. C. (2016): Soil microbial diversity and activity linked to crop yield and quality in a dryland organic wheat production system. *Applied Soil Ecology*, 108 258-268. p.
doi: 10.1016/j.apsoil.2016.09.003
- 192) TÉCHER, D., MARTINEZ-CHOIS, C., D'INNOCENZO, M., LAVAL-GILLY, P., BENNASROUNE, A., FOUCAUD, L., FALLA, J. (2010): Novel perspectives to purify genomic DNA from high humic acid content and contaminated soils. *Separation and Purification Technology*, 75 (1) 81-86. p.
doi: 10.1016/j.seppur.2010.07.014
- 193) TEMESVÁRI, T. (2019): KSH, Módszertani dokumentáció, szakstatisztikák. https2://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_eves/i_ua001b.html. Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: ksh biogazdálkodás. Lekérdezés időpontja: 2019.03. 03.
- 194) TORSVIK, V., ØVERÅS, L. (2002): Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 5 (3) 240-245. p.
doi: 10.1016/S1369-5274(02)00324-7
- 195) TOYOTA, K., KUNINAGA, S. (2006): Comparison of soil microbial community between soils amended with or without farmyard manure. *Applied Soil Ecology*. (33) 39-48. p.
doi: 10.1016/j.apsoil.2005.09.002
- 196) TÖWE, S., WALLISCH, S., BANNERT, A., FISCHER, D., HAI, B., HAESLER, F., KLEINEIDAM, K., SCHLOTER, M. (2011): Improved protocol for the simultaneous extraction and column-based separation of DNA and RNA from different soils. *Journal of Microbiological Methods*, 84 (3) 406-412. p.
doi: 10.1016/j.mimet.2010.12.028
- 197) TSAI, S.-H., SELVAM, A. D. G., CHANG, Y.-P., YANG, S.-S. (2009): Soil bacterial community composition across different topographic sites characterized by 16S rRNS gene clones in the Fushan forest of Taiwan. *Botanical Studies*, 50 (1) 57-68. p.
- 198) TSUSHIMA, S., MATSUSHITA, Y. (2010): Technical report on the PCR-DGGE analysis of bacterial and fungal soil communities Ver. 3.3. Tsukuba: National Institute for Agro-Environmental Sciences. 22 p.
- 199) TYURIN, I. V. (1937): *Organicseszkoe vescuesztvo pocsvü. Szelhozgiz. Moszkva.*
- 200) VÁRALLYAI, L. (2006): *A talajvédelmi információ monitoring rendszer (TIM) pont minták mérési eredményeinek kiterjeszhetősége*, doktori értekezés, Debreceni Egyetem, Debrecen.
- 201) VÁRALLYAY, GY. (1994a): Harmonization of Soil Conservation Systems. 11-16. p. In: *FAO/ECE International workshop on harmonization of soil conservation monitoring systems*. Budapest: RISSAC. (Budapest, 14-17. September. 1993.)
- 202) VÁRALLYAY, GY. (1994b): Soil database for long-term field experiments and sustainable land use. *Agrokémia és Talajtan*, 43 (3-4) 269-290. p.
- 203) VÁRALLYAY, GY. (2004): Talaj az agroökoszisztémák alap-eleme. "Agro-21" Füzetek, 37 33-49. p.
- 204) VÁRALLYAY, GY., MAKÓ, A., HERMANN, T., (2009): Az Országos Műtrágyázási Tartamkísérletek (OMTK) helyeinek talajtani jellemzése.
- 205) VÁRALLYAY, GY. (2014): A talaj vízgazdálkodása és a környezet. MTA ATK Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet. Budapest
- 206) VILLÁNYI, I., FÜZY, A., ANGERER, I., BIRÓ, B. (2006): Total catabolic enzyme activity of microbial communities by fluorescein diacetate analysis (FDA) method. 441-442. p. In: JONES, D. L. (Szerk.): *Handbook of methods used in rhizosphere research. Understanding and modelling plant-soil interactions in the rhizosphere environment*. Birmensdorf: Swiss Federal Research Institute. 536 p.

ISBN: 3905621355

- 207) VINCENT, Q., AUCLERC, A., BEGUIRISTAIN, T., LEYVAL, C. (2018): Assessment of derelict soil quality: Abiotic, biotic and functional approaches. *Science of The Total Environment*, 613-614 990-1002. p.
doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.118
- 208) VOGEL, H.-J., BARTKE, S., DAEDLOW, K., HELMING, K., KÖGEL-KNABNER, I., LANG, B., RABOT, E., RUSSELL, D., STÖBEL, B., WELLER, U., WIESMEIER, M., WOLLSCHLÄGER, U. (2018): A systemic approach for modeling soil functions. *SOIL*, 4 83-92. p.
doi: 10.5194/soil-4-83-2018
- 209) WAGNER, A. O., PRAEG, N., REITSCHULER, C., ILLMER, P. (2015): Effect of DNA extraction procedure, repeated extraction and ethidium monoazide (EMA)/propidium monoazide (PMA) treatment on overall DNA yield and impact on microbial fingerprints for bacteria, fungi and archaea in a reference soil. *Applied Soil Ecology*, 93 56-64. p.
doi: 10.1016/j.apsoil.2015.04.005
- 210) WANG, D., YANG, S., TANG, F., ZHU, H. (2012): Symbiosis specificity in the legume: rhizobial mutualism. *Cellular Microbiology*, 14 (3) 334-342. p.
doi: 10.1111/j.1462-5822.2011.01736.x
- 211) WELLINGTON, E. M., BERRY, A., KRSEK, M. (2003): Resolving functional diversity in relation to microbial community structure in soil: exploiting genomics and stable isotope probing. *Current Opinion in Microbiology*, 6 (3) 295-301. p.
doi: 10.1016/S1369-5274(03)00066-3
- 212) 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.
doi: 10.1016/0167-7012(86)90012-6
- 213) WHITE, D. C. (1994): Is there anything else you need to understand about the microbiota that cannot be derived from analysis of nucleic acids? *Microbial Ecology*. 28 (2) 163-166. p.
doi: 10.1007/BF00166805
- 214) WHITEHOUSE, C. A., HOTTEL, H. E. (2007): Comparison of five commercial DNA extraction kits for the recovery of *Francisella tularensis* DNA from spiked soil samples. *Molecular and Cellular Probes*, 21 (2) 92-96. p.
doi: 10.1016/j.mcp.2006.08.003
- 215) WICK, B., KÜHNE, R. F., VLEK, P. L. G. (1998): Soil microbiological parameters as indicators of soil quality under improved fallow management system in south-western Nigeria. *Plant and Soil*, 202 (1) 97-107. p.
doi: 10.1023/A:1004305615397
- 216) WILLER, H., YUSSEFI, M. (2000): *Organic Agriculture Worldwide – Statistics and Future Prospects*, Foundation Ecology & Agriculture, Germany.
- 217) WILLER, H., LERNOUD, J. (2018): *FiBL & IFOAM – Organics International, The World of Organic Agricultural Statistics & Emerging Trends*, International Trade Centre.
- 218) WILLIAMSON, K. E., KAN, J., POLSON, S. W., WILLIAMSON, S. J. (2011): Optimizing the indirect extraction of prokaryotic DNA from soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 43 (4) 736-748. p.
doi: 10.1016/j.soilbio.2010.04.017
- 219) WUNDERLICH, L. (2014): *Molekuláris biológiai technikák*. Budapest: Typotex Kiadó. 231 p.
ISBN: 978-963-279-172-2.
- 220) XIN, Y. H., ZHOU, Y. G., ZHOU, H. L., CHEN, W. X. (2004): *Ancylobacter rudongensis* sp. nov., isolated from roots of *Spartina anglica*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54 (2) 385-388. p.

- doi: 10.1099/ijs.0.02466-0
- 221) YANG, J., KLOPPER, J. W., RYU, C. M. (2009): Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in plant science*. 14 (1) 1-4. p.
doi: 10.1016/j.tplants.2008.10.004
- 222) YEATES, C., GILLINGS, M. R., DAVISON, A. D., ALTAVILLA, N., VEAL, D. A. (1998): Methods for microbial DNA extraction from soil for PCR amplification. *Biological Procedures Online*, 1 40-47. p.
doi: 10.1251/bpo6
- 223) YOON, J. H., KANG, S. J., PARK, S., OH, T. K. (2007): *Devosia insulae* sp. nov., isolated from soil and emended description of the genus *Devosia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57 (6) 1310-1314. p.
doi: 10.1099/ijs.0.65028-0

Szabványok

- 1) MSZ 08-0205:1978. A talaj fizikai és vízgazdálkodási tulajdonságainak vizsgálata.
- 2) MSZ 08-0206-2:1978. A talaj egyes kémiai tulajdonságainak a vizsgálata. Laboratóriumi vizsgálatok.
- 3) MSZ 08-0458-80:1980. Az összes nitrogéntartalom meghatározása.
- 4) MSZ 20135:1999. A talaj oldható tápelemtartalmának meghatározása.
- 5) MSZ 21470-50:2006. Környezetvédelmi talajvizsgálatok. Az összes és az oldható toxikus elem-, a nehézfém- és a króm (VI) tartalom meghatározása.

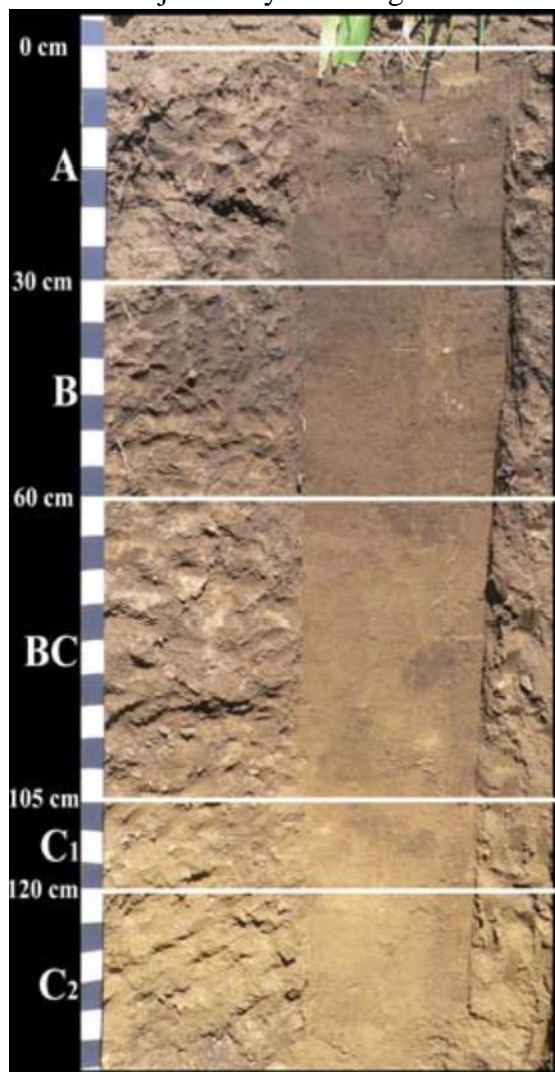
Törvények és rendeletek

- 1) A termőföldről szóló 1994. évi LV. törvény
- 2) 1995. évi LIII. törvény a környezet védelmének általános szabályairól
- 3) 2007. évi CXXIX. törvény a termőföld védelméről
- 4) 34/2013. (V. 14.) VM rendelet a mezőgazdasági termékek és élelmiszerek ökológiai gazdálkodási követelmények szerinti tanúsításáról, előállításáról, forgalmazásáról, jelöléséről és ellenőrzésének eljárásrendjéről
- 5) 2018/848 Az Európai Parlament és a Tanács (EU) 2018. május 30-i rendelete az ökológiai termelésről és az ökológiai termékek jelöléséről, valamint a 834/2007/EK tanácsi rendelet hatályon kívül helyezéséről
- 6) 834/2007/EK a Tanács 2007. június 28-i rendelete az ökológiai termelésről és az ökológiai termékek címkézéséről
- 7) 889/2008/EK a bizottság rendelete (2008. szeptember 5.) az ökológiai termelés, a címkézés és az ellenőrzés tekintetében az ökológiai termelésről és az ökológiai termékek címkézéséről szóló 834/2007/EK rendelet részletes végrehajtási szabályainak megállapításáról

Internetes hivatkozások

- 1) <https://www.bio-gene.com.cn/eProView.asp?id=834>. Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: INGENY phorU DGGE system. Lekérdezés időpontja: 2019.02.08.
- 2) <https://knight.kit.bme.hu/CRRN/>. Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: SRD software. Lekérdezés időpontja: 2019.04.07.
- 3) <https://metnet.hu>. Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: Martonvásár időjárás 2011 2012. Lekérdezés időpontja: 2019.05.07.

- 4) [https4.:https://www.google.com/maps](https://www.google.com/maps). Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: é. sz. 47° 16' 47'', k. h. 20° 53' 12'', é. sz. 47° 18' 38'', k. h. 18° 46' 45'', é. sz. 47° 58' 48'', k. h. 21° 40' 33''. Lekérdezés időpontja: 2019.01.07.
- 5) [https5.:http://www.merckmillipore.com/HU/hu/product/Nutrient-agar,MDA_CHEM-105450](https://www.merckmillipore.com/HU/hu/product/Nutrient-agar,MDA_CHEM-105450). Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: merck millipore Nutrient Agar. Lekérdezés időpontja: 2019.01.05
- 6) [https6.:http://www.merckmillipore.com/HU/hu/product/Rose-Bengal-Chloramphenicol-Agar-%28RBC%29,MDA_CHEM-100467](https://www.merckmillipore.com/HU/hu/product/Rose-Bengal-Chloramphenicol-Agar-%28RBC%29,MDA_CHEM-100467). Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: merck millipore Rose-Bengal Chloramphenicol Agar. Lekérdezés időpontja: 2019.01.05.
- 7) [https7.:http://himedialabs.com/TD/M490.pdf](https://himedialabs.com/TD/M490.pdf). Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: himedialabs actinomycete isolation agar. Lekérdezés időpontja: 2019.01.05.

M2A. Talajszelvény – Karcag

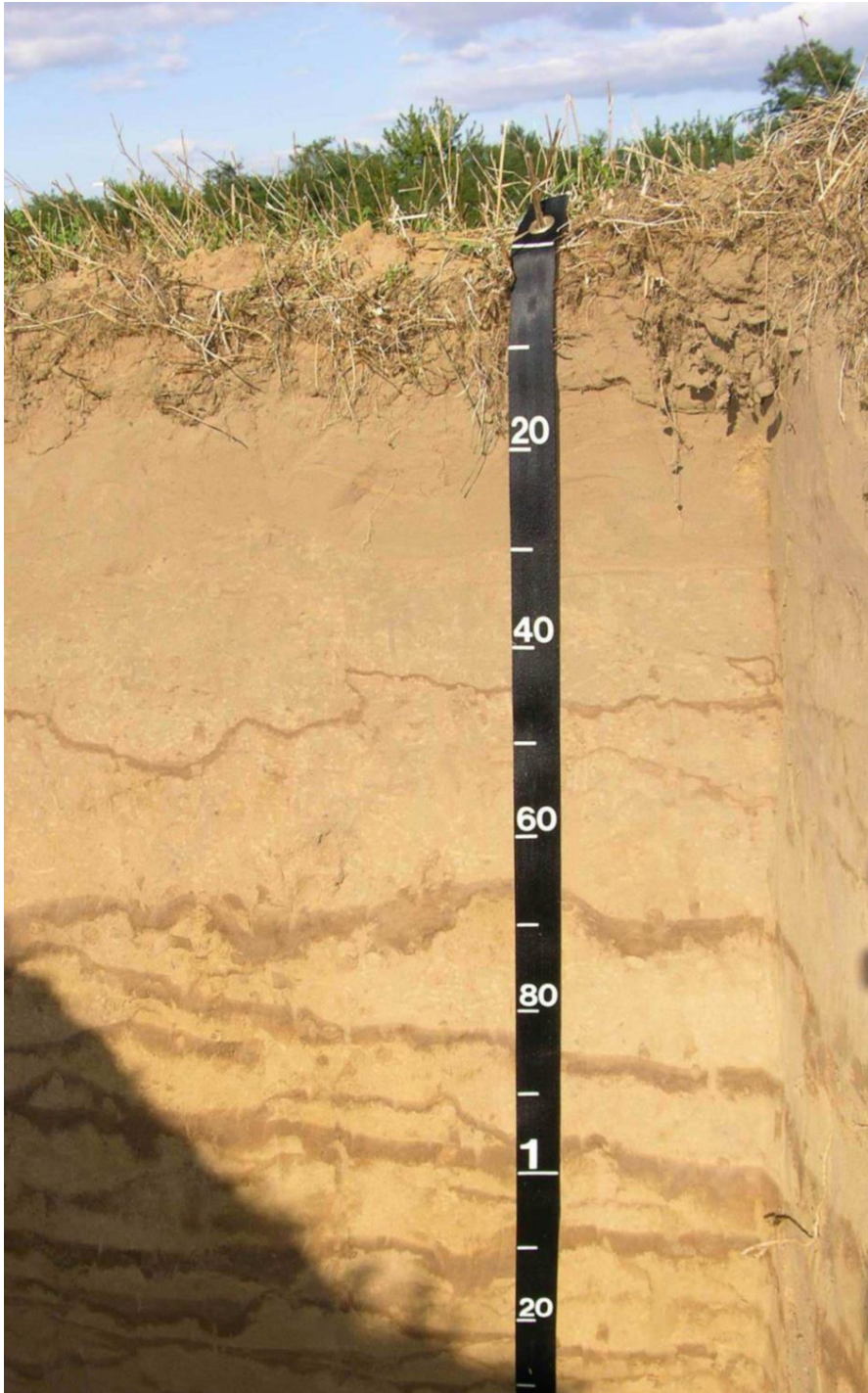
(Forrás: VÁRALLYAY et al. 2009)

M2B. Talajszelvény – Martonvásár

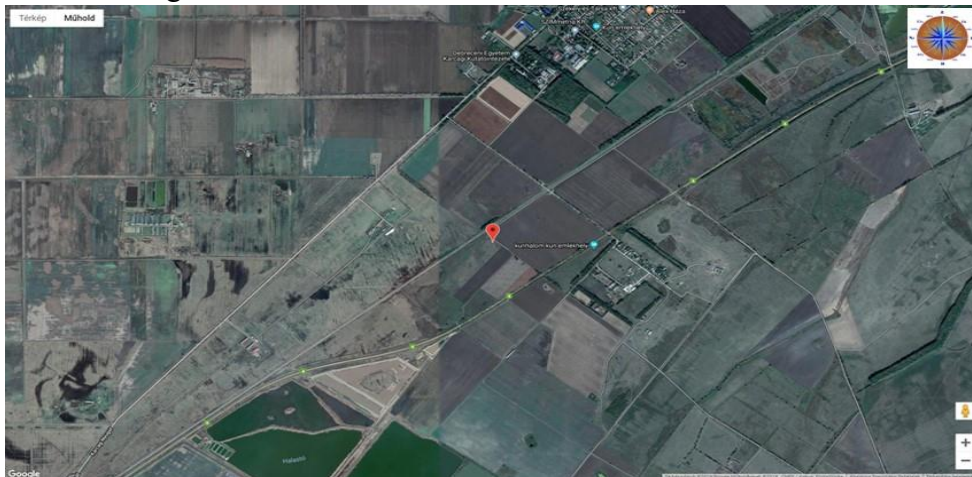
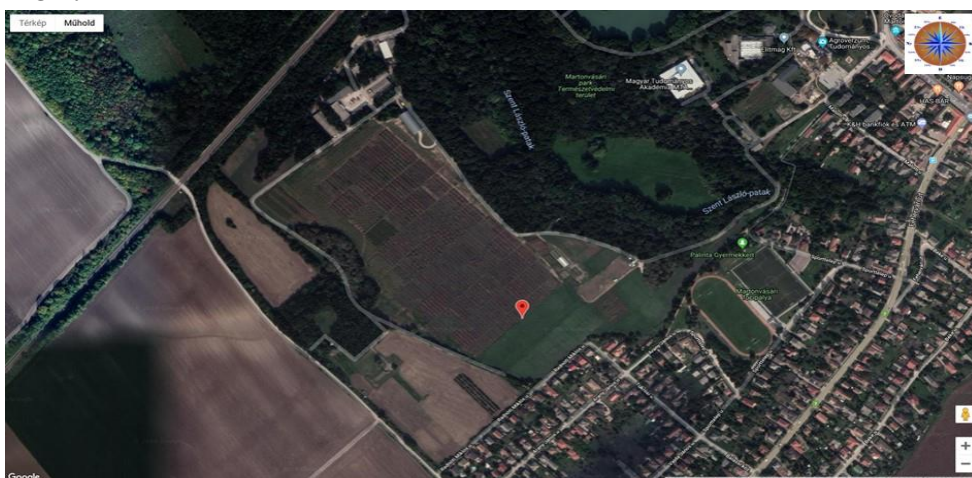


(Fotó: SZILI-KOVÁCS, 2017)

M2C. Talajszelvény – Nyíregyháza



(Forrás: MAKÁDI, 2010)

M3A. Karcagi kísérleti terület**M3B. Martonvásári kísérleti terület****M3C. Nyíregyházi kísérleti terület**

(A térképek forrásai: <http> 4)

M4. 2009-es és a 2012-es évek közti vetemények az organikus és konvencionális gazdálkodási módból származó eltérő talajtípussal rendelkező területeken

Gazdálkodási mód	Kijuttatás	2009	2010	2011	2012
termesztett növény, műtrágyadózis					
VO		kukorica	olajretek ¹	őszi búza, zöldborsó ¹	kalászos gabona
VK		tavaszi búza	kukorica	tavaszi búza	kukorica
	^a őszi:	60 kg/ha N	60 kg/ha N	0 kg/ha N	60 kg/ha N
		60 kg/ha P ₂ O ₅	60 kg/ha P ₂ O ₅	10 kg/ha P ₂ O ₅	60 kg/ha P ₂ O ₅
		60 kg/ha K ₂ O	60 kg/ha K ₂ O	24 kg/ha K ₂ O	60 kg/ha K ₂ O
	tavaszi:	40-60 kg/ha N	40-60 kg/ha N	40-60 kg/ha N	40-60 kg/ha N
AO		őszi búza	cirok	somkóró	somkóró ¹ , köles ¹
AVK		kukorica	cirok	borsó, cirok, őszi búza	búza
	^b őszi:	75 kg/ha N	75 kg/ha N	75 kg/ha N	75 kg/ha N
		120 kg/ha P ₂ O ₅	120 kg/ha P ₂ O ₅	120 kg/ha P ₂ O ₅	120 kg/ha P ₂ O ₅
		200 kg/ha K ₂ O	200 kg/ha K ₂ O	100 kg/ha K ₂ O	100 kg/ha K ₂ O
	tavaszi:	75 kg/ha N	75 kg/ha N	75 kg/ha N	75 kg/ha N
VHO		rozs	rozs	tönkölybúza, lucerna	pohánka, borsó
HK		szőlős bükköny	napraforgó	rozs	rozs, szőlős bükköny ¹
	^a őszi:	0 kg/ha N	0 kg/ha N	20 kg/ha N	20 kg/ha N
		30 kg/ha P ₂ O ₅	30 kg/ha P ₂ O ₅	30 kg/ha P ₂ O ₅	30 kg/ha P ₂ O ₅
		40 kg/ha K ₂ O	70 kg/ha K ₂ O	40 kg/ha K ₂ O	70 kg/ha K ₂ O
	tavaszi:	30 kg/ha N	40 kg/ha N	40 kg/ha N	40 kg/ha N

(Megj.: organikus=O, konvencionális=K, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza). ^a=komplex NPK műtrágya 15-15-15 % aktív hatóanyaggal. 15 % N +10 % ammónium-nitrogén +5 % urea N; 15 % P₂O₅:P-tartalom 6,2 %; 15 % K₂O:K-tartalom 12,5 %; N-műtrágya (kalcium-ammónium-nitrát) összetevői: 27 % N, 5 % Ca (7 % kalcium-oxid) és 3 % Mg (5 % magnézium-oxid). ^b=az NPK műtrágya 34 % ammónium-nitrátot (75 kg/ha N hatóanyag összel és tavasszal is), 18 % szuperfoszfátot (120 kg/ha P hatóanyag) és 60 % kálisót (100 kg/ha K hatóanyag) tartalmazott. Az organikus területen nem alkalmaztak műtrágyát, a termesztett növényeket beszántották, illetve zöldtrágyaként hasznosították=¹).

M5. A felhasznált táptalajok összetétele

Nutrient agar (Merck Millipore, Németország), 20,0 g / liter: Pepton 5,00 g, húskivonat 3,00 g, agar 12,0 g, desztillált víz 1000 ml, pH=7,0 (http 5).

Bengál rózsa agar (Merck Millipore, Németország), 32,3 g / liter: pepton 5,00 g, glükóz 10,0 g, kálium-dihidrogén-foszfát 1,00 g, magnézium-szulfát 0,500 g, bengál rózsa 0,050 g, kloramfenikol 0,100 g, agar-agar 15,5 g, pH=7,2 (http 6).

Actinomycetes agar (HiMedia Laboratories, India): nátrium kazein 2,00 g, L-Aszparagin 0,100 g, nátrium-propionát 4,00 g, dikálium-foszfát 0,500 g, magnézium-szulfát 0,100 g, vas-szulfát 0,001 g, agar 15,0 g, pH=8,1 (http 7).

M6A. A MikroRespirációsTM méréshez alkalmazott szubsztrátok elhelyezkedése a deepwell pléten

<i>Deepwell plét (Talajminták (n=4/szubsztrát))</i>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Tre	Tre	Tre	Tre	Gal	Gal	Gal	Gal	DV	DV	DV	DV
B	Fru	Fru	Fru	Fru	Glc	Glc	Glc	Glc	Ara	Ara	Ara	Ara
C	Szuk	Szuk	Szuk	Szuk	Mal	Mal	Mal	Mal	Cit	Cit	Cit	Cit
D	Glut	Glut	Glut	Glut	Liz	Liz	Liz	Liz	Ala	Ala	Ala	Ala
E	Gls	Gls	Gls	Gls	Dhb	Dhb	Dhb	Dhb	Arg	Arg	Arg	Arg
F	Mat	Mat	Mat	Mat	Xil	Xil	Xil	Xil	Ino	Ino	Ino	Ino
G	Ram	Ram	Ram	Ram	Szor	Szor	Szor	Szor	Man	Man	Man	Man
H	Aszk	Aszk	Aszk	Aszk	Glü	Glü	Glü	Glü	Aszp	Aszp	Aszp	Aszp

Megj.: Gal=galaktóz; Tre=trehalóz; Ara=arabinóz; Glc=glükóz; Fru=fruktóz; Mal=almasav; Szuk=Na-szukcinát; Ala=alanin; Glut=glutamin; Arg=arginin; Dhb=3,4-dihidroxi-benzoész; Glc=glutaminsav; Ino=mio-inozitol; Xil=xilóz; Mat=mannitol; Man=mannóz; Szor=szorbitol; Ram=ramnóz; Asp=asparagin-monohidrát; Glü=D-glükonsav-káliumsója, Cit=ctrát, Liz=lizin, Aszk=aszorbinsav.

M6B. A MikroRespirációsTM méréshez alkalmazott szubsztrátok elhelyezkedése a detektor pléten

<i>Indikátor gélt tartalmazó detektor plét, (n=4/szubsztrát)</i>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	DV	DV	DV	DV	Gal	Gal	Gal	Gal	Tre	Tre	Tre	Tre
B	Ara	Ara	Ara	Ara	Glc	Glc	Glc	Glc	Fru	Fru	Fru	Fru
C	Cit	Cit	Cit	Cit	Mal	Mal	Mal	Mal	Szuk	Szuk	Szuk	Szuk
D	Ala	Ala	Ala	Ala	Liz	Liz	Liz	Liz	Glut	Glut	Glut	Glut
E	Arg	Arg	Arg	Arg	Dhb	Dhb	Dhb	Dhb	Gls	Gls	Gls	Gls
F	Ino	Ino	Ino	Ino	Xil	Xil	Xil	Xil	Mat	Mat	Mat	Mat
G	Man	Man	Man	Man	Szor	Szor	Szor	Szor	Ram	Ram	Ram	Ram
H	Aszp	Aszp	Aszp	Aszp	Glü	Glü	Glü	Glü	Aszk	Aszk	Aszk	Aszk

Megj.: Gal=galaktóz; Tre=trehalóz; Ara=arabinóz; Glc=glükóz; Fru=fruktóz; Mal=almasav; Szuk=Na-szukcinát; Ala=alanin; Glut=glutamin; Arg=arginin; Dhb=3,4-dihidroxi-benzoésav; Glc=glutaminsav; Ino=mio-inozitol; Xil=xilóz; Mat=mannitol; Man=mannóz; Szor=szorbitol; Ram=ramnóz; Aszp=aszparagin-monohidrát; Glü=D-glükonsav-káliumsója, Cit=ctrát, Liz=lizin, Aszk=aszkorbinsav.

M7A. Az eltérő talajtípussal és gazdálkodási móddal rendelkező főbb talaj fizikai-, kémiai- és mikrobiológiai paraméterek jellemző értékeinek a páronkénti kapcsolata (Pearson-féle korrelációs együtthatók) összszel

Ösz	EC	pH _{H2O}	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ -N	összN	H	C	AL-Ca	AL-K ₂ O	AL-Na	AL-P ₂ O ₅	FDA	CFUHet	CFUSpor	CFUMG	BRESP	SIR	Mal	Cit	Fru
EC	—	0,610	0,695	0,362	0,560	0,590	0,590	0,715	0,715	0,456	0,419	0,170	0,627	0,387	0,315	0,390	0,578	-0,330	-0,107	0,660
pH _{H2O}	< 0,000	—	0,458	0,180	0,436	0,300	0,303	0,842	0,722	0,498	0,598	0,099	0,641	0,022	0,661	-0,206	0,297	-0,171	-0,514	0,495
NH ₄ ⁺ -N	< 0,000	< 0,000	—	0,205	0,526	0,470	0,464	0,603	0,615	0,333	0,376	0,190	0,443	0,256	0,368	0,288	0,491	-0,115	-0,220	0,544
NO ₃ ⁻ -N	0,002	0,129	0,084	—	-0,211	-0,283	-0,283	0,196	0,199	-0,462	0,419	-0,309	0,051	-0,262	-0,037	-0,049	-0,282	-0,101	-0,068	-0,003
összN	< 0,000	0,000	< 0,000	0,076	—	0,919	0,918	0,677	0,549	0,765	-0,023	0,728	0,674	0,656	0,537	0,471	0,875	0,059	-0,283	0,838
H	< 0,000	0,011	< 0,000	0,016	< 0,000	—	0,999	0,520	0,449	0,788	-0,147	0,673	0,586	0,794	0,335	0,628	0,937	-0,079	-0,070	0,775
C	< 0,000	0,010	< 0,000	0,016	< 0,000	< 0,000	—	0,521	0,449	0,787	-0,146	0,672	0,585	0,795	0,334	0,628	0,937	-0,078	-0,069	0,774
AL-Ca	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,099	< 0,000	< 0,000	< 0,000	—	0,815	0,536	0,538	0,303	0,737	0,266	0,708	0,033	0,526	-0,035	-0,481	0,671
AL-K ₂ O	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,094	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	—	0,436	0,720	0,322	0,640	0,196	0,747	0,039	0,430	0,091	-0,472	0,507
AL-Na	< 0,000	< 0,000	0,004	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,000	—	-0,076	0,518	0,554	0,625	0,453	0,237	0,788	-0,151	-0,188	0,622
AL-P ₂ O ₅	0,000	< 0,000	0,001	0,000	0,850	0,218	0,220	< 0,000	< 0,000	0,527	—	-0,109	0,316	-0,327	0,530	-0,308	-0,148	0,146	-0,429	0,048
FDA	0,154	0,407	0,110	0,009	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,010	0,006	< 0,000	0,362	—	0,319	0,548	0,452	0,378	0,631	0,378	-0,204	0,551
CFUHet	< 0,000	< 0,000	0,000	0,672	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,007	0,007	—	0,345	0,480	0,201	0,547	-0,078	-0,405	0,672
CFUSpor	0,001	0,851	0,030	0,027	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,024	0,099	< 0,000	0,005	< 0,000	0,003	—	0,033	0,683	0,816	-0,144	0,148	0,601
CFUMG	0,007	< 0,000	0,002	0,756	< 0,000	0,004	0,004	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,786	—	-0,258	0,319	0,307	-0,618	0,386
BRESP	0,001	0,082	0,014	0,684	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,780	0,745	0,045	0,009	0,001	0,091	< 0,000	0,029	—	0,667	-0,043	0,288	0,503
SIR	< 0,000	0,012	< 0,000	0,017	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,000	< 0,000	0,214	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,007	< 0,000	—	-0,088	-0,085	0,795
Mal	0,005	0,150	0,337	0,396	0,619	0,508	0,516	0,768	0,447	0,204	0,222	0,001	0,514	0,225	0,009	0,719	0,464	—	-0,329	-0,128
Cit	0,369	< 0,000	0,063	0,570	0,016	0,561	0,566	< 0,000	< 0,000	0,114	0,000	0,086	0,000	0,214	< 0,000	0,015	0,479	0,005	—	-0,339
Fru	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,982	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,690	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,001	< 0,000	< 0,000	0,282	0,004	—

Megj.: EC=elektromos konduktivitás, összN=összes nitrogén H=humusz C=szén, AL=ammónium-laktát oldószerrel kivont elemek, FDA= fluoreszcenin -diacetát hidrolízis, CFU=csíraszámok, Het=heterotrófok, Spor=spóráképzők, MG=mikrogombák, BRESP=alaprespiráció, SIR=szubsztrát-indukált respiráció, Mal=almasav, Cit=citrát, Fru=fruktóz, félkövér betűtípussal kiemelt értékek=az összefüggés (≤0,05) szignifikáns.

M7B. Az eltérő talajtípussal és gazdálkodási móddal rendelkező főbb talaj fizikai-, kémiai- és mikrobiológiai paraméterek jellemző értékeinek a páronkénti kapcsolata (Pearson-féle korrelációs együtthatók) tavasszal

Tavaszi	EC	pH _{H2O}	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ -N	összN	H	C	AL-Ca	AL-K ₂ O	AL-Na	AL-P ₂ O ₅	FDA	CFUHet	CFUSpor	CFUMG	BRESP	SIR	Mal	Cit	Fru
EC	-	0,648	0,715	0,816	0,571	0,512	0,430	0,840	0,874	0,586	0,536	0,274	0,290	0,464	0,554	-0,036	0,594	-0,014	-0,235	0,247
pH _{H2O}	< 0,000	-	0,329	0,475	0,766	0,524	0,651	0,773	0,560	0,871	0,134	0,477	0,339	0,751	0,611	-0,057	0,595	0,446	0,016	0,350
NH ₄ ⁺ -N	< 0,000	0,005	-	0,782	0,442	0,626	0,528	0,515	0,666	0,456	0,181	0,331	0,450	0,319	0,425	-0,018	0,604	0,026	-0,064	0,356
NO ₃ ⁻ -N	< 0,000	< 0,000	< 0,000	-	0,426	0,500	0,429	0,594	0,700	0,476	0,257	0,101	0,197	0,335	0,415	-0,259	0,408	-0,149	0,073	0,028
összN	< 0,000	< 0,000	0,000	0,000	-	0,828	0,870	0,737	0,595	0,804	0,138	0,772	0,570	0,842	0,641	0,080	0,746	0,593	-0,040	0,556
H	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	-	0,903	0,589	0,567	0,633	0,073	0,741	0,668	0,729	0,464	0,159	0,783	0,524	0,003	0,598
C	0,000	< 0,000	< 0,000	0,000	< 0,000	< 0,000	-	0,542	0,429	0,784	-0,161	0,796	0,635	0,806	0,588	-0,006	0,713	0,655	0,226	0,556
AL-Ca	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	-	0,824	0,669	0,523	0,463	0,362	0,639	0,567	0,136	0,718	0,256	-0,284	0,402
AL-K ₂ O	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,000	< 0,000	-	0,506	0,659	0,310	0,361	0,400	0,508	-0,005	0,625	0,010	-0,399	0,326
AL-Na	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	-	-0,057	0,576	0,465	0,775	0,692	-0,145	0,610	0,521	0,152	0,370
AL-P ₂ O ₅	< 0,000	0,260	0,127	0,030	0,248	0,540	0,176	< 0,000	< 0,000	0,637	-	0,009	0,007	-0,019	0,113	0,286	0,292	-0,265	-0,778	0,181
FDA	0,020	< 0,000	0,005	0,396	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,008	< 0,000	0,940	-	0,650	0,736	0,434	0,306	0,759	0,746	-0,122	0,766
CFUHet	0,014	0,004	< 0,000	0,097	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,002	0,002	< 0,000	0,954	< 0,000	-	0,560	0,257	0,180	0,642	0,542	-0,009	0,601
CFUSpor	< 0,000	< 0,000	0,007	0,004	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,001	< 0,000	0,873	< 0,000	< 0,000	-	0,559	0,208	0,768	0,735	0,092	0,586
CFUMG	< 0,000	< 0,000	0,000	0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,345	0,000	0,029	< 0,000	-	-0,168	0,432	0,281	0,017	0,314
BRESP	0,762	0,637	0,878	0,028	0,505	0,183	0,961	0,254	0,965	0,223	0,015	0,009	0,131	0,079	0,159	-	0,483	0,323	-0,462	0,555
SIR	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,013	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,000	< 0,000	-	0,636	-0,279	0,793
Mal	0,905	0,000	0,829	0,210	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,031	0,936	< 0,000	0,025	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,017	0,006	< 0,000	-	0,104	0,643
Cit	0,047	0,897	0,591	0,543	0,736	0,979	0,057	0,016	0,001	0,201	< 0,000	0,308	0,938	0,439	0,890	< 0,000	0,018	0,386	-	-0,366
Fru	0,037	0,003	0,002	0,814	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,001	0,005	0,001	0,127	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,007	< 0,000	< 0,000	< 0,000	0,002	-

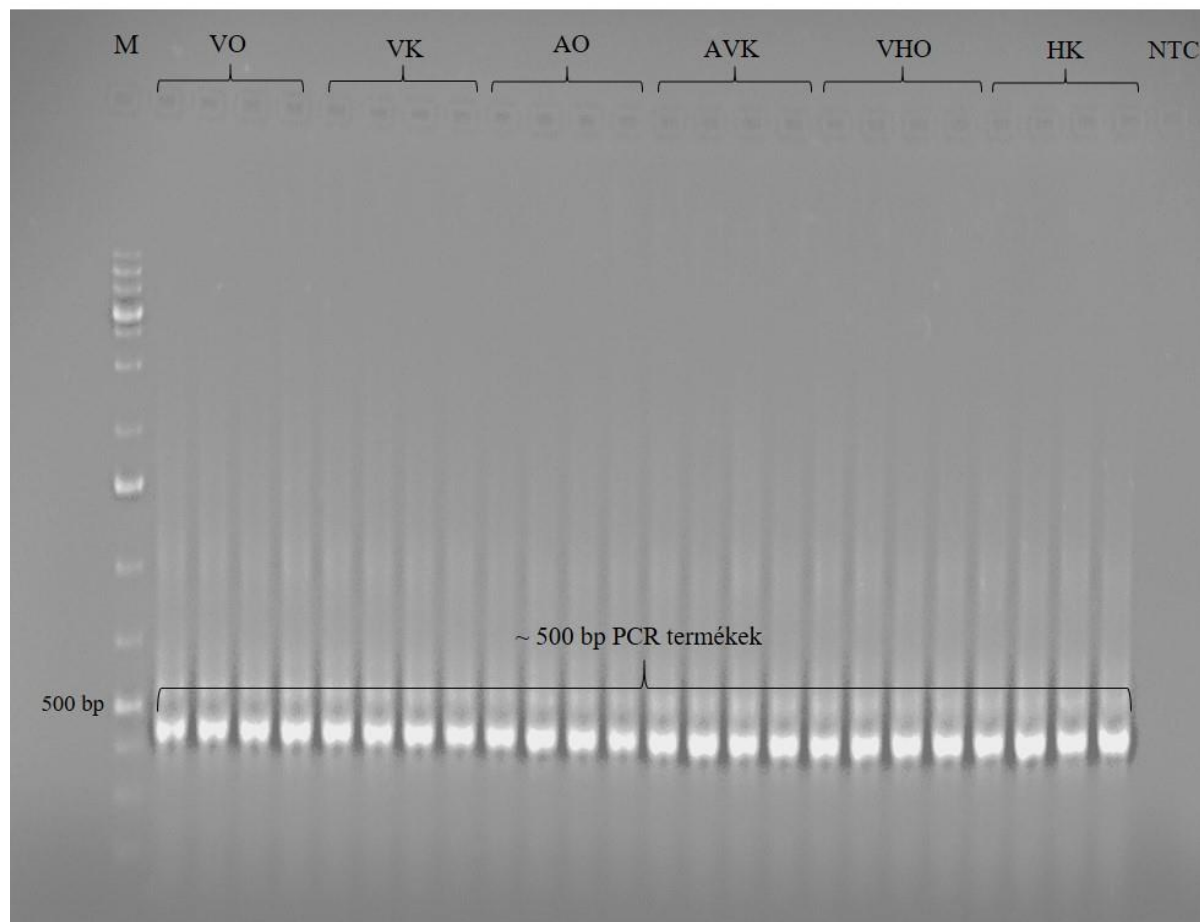
Megj.: EC=elektromos konduktivitás, összN=összes nitrogén H=humusz C=szén, AL=ammónium-laktát oldószerrel kivont elemek, FDA= fluoescenin -diacetát hidrolízis, CFU=csíraszámok, Het=heterotrófok, Spor=spóráképzők, MG=mikrogombák, BRESP=alaprespiráció, SIR=szubsztrát-indukált respiráció, Mal=almasav, Cit=citrát, Fru=fruktóz, félkövér betűtípussal kiemelt értékek=az összefüggés (≤0,05) szignifikáns.

M8. Az SRD-elemzéshez a bemenő adatok (az egyes rázató berendezések, a rázatási időtartamok és a talajtípus található, a sorokban az izolált nukleinsavak mennyiségi és minőségi mutatói) mátrixa négyzetgyökös transzformációt, normalizációt követően

Talaj DNS mutatók	Rázási módszerek																			Max		
	ZX	ZX	ZX	ZX	ZX	BB	BB	BB	BB	BB	FP	FP	FP	FP	FP	PV	PV	PV	PV		PV	
	VO			AO	VHO	VO			VHO			VO			VHO	AO	VO				VHO	AO
	1	5	10	10	10	1	3	5	3	3	1	3	5	3	3	1	5	10	1		1	
CCTr	4,67	4,56	5,09	8,03	6,86	6,77	7,18	5,43	6,54	6,42	5,46	5,76	5,94	6,63	6,93	3,79	3,29	3,38	7,58	7,27	8,03	
HSTr	4,67	4,62	4,78	5,77	6,00	6,39	0,73	6,91	1,04	6,49	0,54	0,61	0,59	1,04	1,04	0,41	0,38	0,41	1,05	1,05	6,91	
FEHTr	4,67	4,64	4,69	4,98	5,20	5,55	1,03	5,63	1,03	5,14	0,97	1,03	1,02	0,72	1,03	0,81	0,77	0,78	1,04	1,04	5,63	
CCNa	4,67	4,66	4,67	4,75	4,84	5,02	4,60	4,95	4,33	4,72	5,68	5,64	5,95	6,08	6,50	4,85	4,58	4,50	2,75	3,86	6,50	
HSNa	4,67	4,66	4,66	4,68	4,72	4,79	0,80	4,84	4,73	4,66	0,68	0,70	0,71	1,33	1,18	0,68	0,64	0,68	0,83	0,67	4,84	
FEHNa	4,67	4,67	4,67	4,67	4,68	1,04	4,23	4,27	0,98	4,13	1,07	1,07	1,08	1,28	1,28	0,99	0,98	1,01	0,92	0,97	4,68	

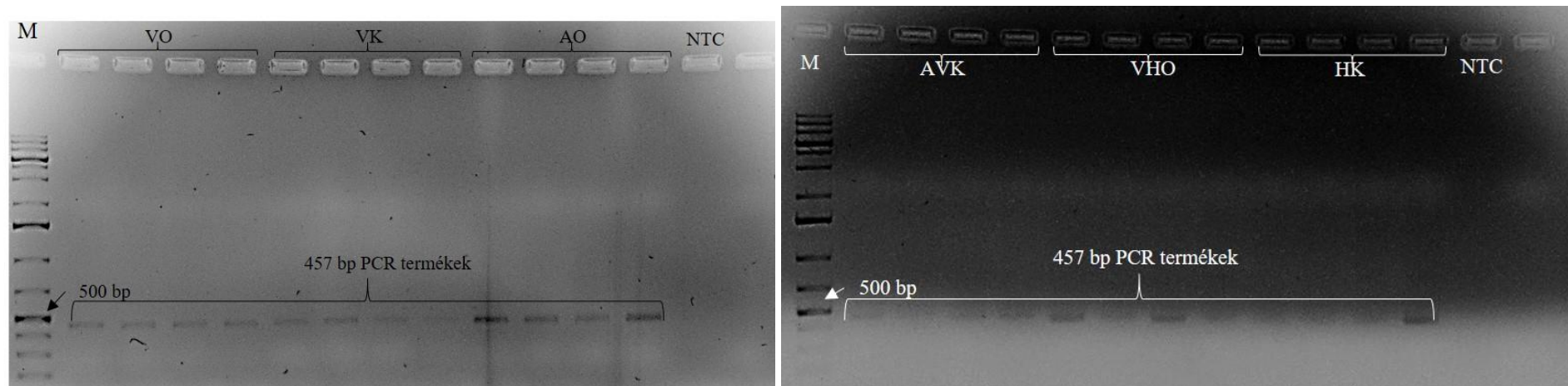
Megj.: CC=DNS koncentráció, HS=huminsavtartalom, FEH=fehérjetartalom, O=organikus talajművelésmód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza), Tr=TrayCell[®] mikroküvetével mért értékek, Na=NanoDropTM készülékkel kimutatott DNS paraméterek. 1, 3, 5, 10=rázási percek.

A referencia oszlop a Max értéket/az elméletileg legjobb értéket mutatja. A vizsgált egyes rázatóberendezések, a rázatási időtartamok és a talajtípusok minőségi mutatói teljesítménye alapján az elméletileg legjobb rázatási módszer értékeit mutatja a referencia oszlop (félkövér betűtípussal jelölve (Max)).

M9. A talajbaktériumok univerzális és α -proteobaktériumokra specifikus nested-PCR-termékeinek gélképe

Megj.: M=marker, DNS létra, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza), NTC=negatív kontroll.

M10. A talajbaktériumok nifH génes PCR-termékeinek gélképe



Megj.: M=marker, DNS létra, O=organikus gazdálkodási mód, K=konvencionális gazdálkodási mód, A=agyagtalaj (Karcag), AV=agyagos vályogtalaj (Karcag), V=vályogtalaj (Martonvásár), VH=vályogos homoktalaj (Nyíregyháza), H=homoktalaj (Nyíregyháza), NTC=negatív kontroll.

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Hálásan köszönöm témavezetőimnek, Imréné dr. Takács Tündének, tudományos főmunkatárs, (PhD), Agrártudományi Kutatóközpont, Talajtani és Agrokémiai Intézet, Talajbiológiai Osztályról és Dr. Szili-Kovács Tibornak, tudományos főmunkatárs, Osztályvezetőnek, (PhD), az Agrártudományi Kutatóközpont, Talajtani és Agrokémiai Intézet, Talajbiológiai Osztályról, valamint volt témavezetőmnek, Dr. Ködöböcz Lászlónak, akik megteremtették a kutatási feltételeket, szakmai tudásukkal és hasznos tanácsaikkal támogatták az értekezést.

Köszönettel tartozom az Agrártudományi Kutatóközpont, Talajtani és Agrokémiai Intézet laboránsaiknak, akik megteremtették a kutatáshoz szükséges laboratóriumi feltételeket és segítettek a munkámat, illetve köszönöm minden Intézeti kollégának a segítő támogatását.

Köszönet illeti Dr. Táncsics András (PhD, habil) tudományos főmunkatárs, Szent István Egyetem, Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar, Mikrobiális ökológia kutatócsoport, Regionális Egyetemi Tudásközpont, aki a nifH gének vizsgálatában nyújtott önzetlen segítségéért valamint a műszerek és a vegyszerek rendelkezésre bocsátásáért.

Hálával tartozom Dr. Krett Gergelynek (PhD), tudományos munkatárs az Ökológiai Kutatóközpont, DKI, Környezetkémiai és Növényökológiai Osztály, aki a DGGE kísérlet közös megvalósításával, szakértelmével és a laboratóriumi háttér biztosításával segített.

Külön köszönettel tartozom a statisztikai elemzésekben nyújtott segítségért dr. Sipos Lászlónak, a Szent István Egyetem Élelmiszertudományi Kar Árukezelési és Érzékszervi Minősítési Tanszék docensének, egyetemi tanársegédjének és dr. Bernhardt Botondnak, az Agrártudományi Kutatóközpont, Talajtani és Agrokémiai Intézet, Talajkémiai és Anyagforgalmi Osztály, tudományos segédmunkatársnak.

Hálásan köszönöm Dr. Csathó Péternek (PhD, DSc) az Agrártudományi Kutatóközpont, Talajtani és Agrokémiai Intézet Talajkémiai és Anyagforgalmi Osztály tudományos tanácsadójának a tápelemtartalmak elemzésében nyújtott önzetlen segítségét.

Köszönöm a mintavételi helyekről illetve a tartamkísérletekről megküldött háttérinformációkat Dr. Makádi Mariannának (PhD) a Debreceni Egyetem Agrár Kutatóintézetek és Tangazdaság Nyíregyházi kutatóintézet, Talajbiológia és Talajhasznosítási osztály tudományos főmunkatársa és osztályvezetője, Dr. Czibalmos Róbertnek (PhD) a DE AKIT Karcagi Kutatóintézet tudományos főmunkatársának és Dr. Mikó Péternek az MTA Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézet Kalászos Gabona Nemesítési Osztály tudományos főmunkatársának, mely adatok a dolgozat alapját képezik.

Köszönöm az együttműködést - a molekuláris módszertani fejlesztésben a műszerek rendelkezésre bocsátásáért - az MTA ATK Növényvédelmi Intézet munkatársainak.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni a családomnak és a barátaimnak, hogy végig támogattak a doktori képzés során.

Jelen munka a Széchenyi 2020 program, Magyarország Kormánya és az Európai Regionális Fejlesztési Alap támogatásával a "Talajbiom kutató transzdiszciplináris kiválósági központ létrehozása a fenntartható talajerőforrás biztosítása érdekében" (GINOP-2.3.2-15-2016-00056), az "Interdiszciplináris Kutatóműhely Létrehozása a Klímaadaptív és Fenntartható Mezőgazdaságért" (GINOP-2.3.2-15-2016-00028) és „A talajmikrobiota diverzitása organikus és intenzív gazdálkodási módoknál” című posztdoktori kutatási (ÖMKi) (2011-2013) témapályázat keretében valósult meg.