

**MIKROBIÁLIS TALAJOLTÓANYAGOK MŰKÖDŐKÉPESSÉGÉT
BEFOLYÁSOLÓ KÖRNYEZETI TÉNYEZŐK VIZSGÁLATA**

DOI:10.18136/PE.2018.677

PANNON EGYETEM FESZTETICS DOKTORI ISKOLA

**2018
KESZTHELY**

**MIKROBIÁLIS TALAJJOLTÓANYAGOK MŰKÖDŐKÉPESSÉGÉT
BEFOLYÁSOLÓ KÖRNYEZETI TÉNYEZŐK VIZSGÁLATA**

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében készült a Pannon Egyetem

Festetics Doktori Iskolája keretében

Környezettudomány tudományágban

Írta: Wass-Matics Heléna

Témavezetők: Dr. Anda Angéla, Dr. Biró Borbála

Elfogadásra javaslom (igen/nem)

témavezető

Elfogadásra javaslom (igen/nem)

témavezető

A jelölt a doktori szigorlaton-ot ért el.

Veszprém/Keszthely,

a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom:

Bíráló neve:.....igen/nem

bíráló

Bíráló neve:.....igen/nem

bíráló

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján.....%-ot ért el.

Veszprém/Keszthely,

a Bíráló Bizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

Veszprém/Keszthely,

az EDHT elnöke

TARTALOMJEGYZÉK

1. Kivonatok.....	1
1.1. Magyar nyelvű kivonat.....	1
1.2. Abstract in english.....	2
1.3. Deutschsprachige Zusammenfassung	2
2. Bevezetés, célkitűzések.....	3
3. Irodalmi áttekintés.....	5
3.1. A talajoltóanyagok története	5
3.1.1. Első generációs oltóanyagok	5
3.1.2. Másod- és harmadgenerációs oltóanyagok	6
3.2. A talajoltóanyagok hatásai a növényekre	8
3.2.1. A tápanyag ellátottság javítása	10
3.2.2. Védelem a növényi kórokozók és a növekedést gátló mikroorganizmusok ellen 11	
3.2.3. Közvetlen növekedés-serkentés	13
3.3. A talajoltást befolyásoló környezeti tényezők	14
3.3.1. Biotikus környezeti tényezők.....	15
3.3.2. Abiotikus környezeti tényezők.....	15
3.3.3. Antropogén hatás és nehézfémek a talajban	18
3.5. Fitoremediáció és talajoltás remediációs céllal	23
4. Anyag és módszer	24
4.1. Kísérleti helyszínek bemutatása.....	24
4.1.1. A biológiailag effektív oltóanyagok vizsgálata	24
4.1.2. Nehézfém stressz vizsgálata	26
4.2. Kezelések, kísérleti növények	28
4.2.1. Biológiailag effektív oltóanyagok vizsgálata tenyészedényben	28
4.2.2. Biológiailag effektív oltóanyagok vizsgálata szabadföldön	29
4.2.3. Oltóanyagok vizsgálata nehézfém stressz esetén laboratóriumban ...	31
4.2.4. Oltóanyagok vizsgálata nehézfém stressz esetén szabadföldön.....	33
4.3. Vizsgálati módszerek	34
4.3.1. Biológiailag effektív oltóanyagok vizsgálata tenyészedényben és szabadföldön.....	34
4.3.2. Oltóanyagok vizsgálata nehézfém stressz laboratóriumi tesztelésénél	37
4.3.3. Oltóanyagok vizsgálata nehézfém stressz esetén szabadföldön.....	37
4.4. Statisztikai kiértékelés	41
5. Eredmények és értékelésük	42

5.1. Biológiaiilag effektív oltóanyagok vizsgálata tenyészedenyes kísérletben ..	42
5.1.1. Biológiaiilag effektív oltóanyagok hatása a paradicsom vegetatív és generatív részeire tenyészedenyesben	42
5.1.2. Biológiaiilag effektív oltóanyagok hatása a paradicsombogyók beltartalmi tulajdonságaira.....	45
5.2. Biológiaiilag effektív oltóanyagok vizsgálata szabadföldi kísérletben.....	49
5.2.1. Biológiaiilag effektív oltóanyagok hatása a paradicsombogyók beltartalmi tulajdonságaira	50
5.3. Biológiaiilag effektív oltóanyagok vizsgálati eredményeinek értékelése	53
5.4. Oltóanyagok vizsgálata nehézfém stressz esetén	57
5.4.1. Nehézfémek hatásának laboratóriumi vizsgálati eredményei.....	57
5.5. A nehézfém stressz vizsgálata liziméteres szabadföldi kísérletben	63
5.5.1. A mangán kezelések hatása	63
5.5.2. Az idő befolyásoló hatása	70
5.5.3. A mikorrhiza gombával történő oltás hatása	71
5.6. Mn toleráns törzsek izolálása és azonosítása.....	75
6. Következtetések	79
7. Összefoglalás	81
8. Új tudományos eredmények	83
9. New scientific achivements.....	84
10. Irodalmi hivatkozások.....	85
11. Köszönetnyilvánítás.....	102
12. Mellékletek	103

1. KIVONATOK

1.1. MAGYAR NYELVŰ KIVONAT

A kutatás célja egyes környezeti tényezőknek a kereskedelmi forgalomban kapható mikrobiológiai talajoltóanyagokra gyakorolt hatásának vizsgálata volt. Ezek során tanulmányoztuk a talajok fizikai, kémiai és mikrobiológiai tulajdonságait, valamint a paradicsom (*Solanum lycopersicon* Mill. 'Mobil') tesztnövény termésének mennyiségi, minőségi alakulását ökológiai gazdálkodási körülmények között. Az Európai Unió által támogatott Biofactor (www.biofactor.info) projekt keretében a kölcsönhatásokat tenyészedény és szabadföldi kísérletekben követtük nyomon. A biológiailag effektív (BE) kereskedelmi oltóanyagok, (BE1: *Trichoderma harzianum*, BE2: *Pseudomonas sp.*, BE3: *Bacillus amyloliquefaciens*) mellett hazai termékeket BR1, BR2 (Biorex) és MTD (Azoter) is vizsgáltunk. A talajban a növények számára könnyen felvehető foszfor ellátottsága alacsony volt, ezért könnyen felvehető tripla-szuperfoszfát (TSP) vagy nehezen oldható rock-foszfát (RP) alkalmazásával egészítettük ki. A paradicsombogyók beltartalmi (Brix) értékei a BE3 és BR2 oltóanyagokkal javultak, ezzel jobb ízhatást lehetett elérni még az optimálisnál alacsonyabb foszfor szint és kedvezőtlen csapadékeloszlás mellett is.

A környezeti stressz körülmények közül a nehézfémek már kis koncentráció változásnál is az oltóanyagok hatását befolyásoló tényezőkké válhatnak a talajban. Laboratóriumban ezért nehézfémre toleránsnak és szenzitívnek tekinthető baktériumtörzseket vizsgáltunk. Szabadföldi liziméteres kísérletben az őshonos mikroorganizmusok túlélését teszteltük növekvő mennyiségű (0, 500, 1000, 2500, 12500 mgkg⁻¹) úrkúti mangániszap-terhelés és az arbuskuláris mikorrhiza gombákkal történő oltás mellett. Megállapítottuk, hogy a környezeti stressz hatására folyamatos változás zajlik a talaj-növény-mikroba rendszerben. A hatást leíró folyamatoknál a lineáris összefüggések helyett célszerűbb a válaszreakciókat jobban leképező matematikai, statisztikai összefüggéseket keresni. Esetünkben a másodfokú polinomiális regresszió jobb közelítést adott a folyamatokra. A kísérletek során az *Elymus elongatus* L-Szarvas-1 energianövény Mn-toleránsnak bizonyult, ezért fitoremediációs célú felhasználása is ígéretes. A bioeffektív kezelések a fenntartható mezőgazdasági rendszerek és a környezetvédelem alkalmas eszközeinek javasolhatók.

1.2. ABSTRACT IN ENGLISH

INVESTIGATING ENVIRONMENTAL PARAMETERS ON AFFECTING MICROBIAL INOCULUM FUNCTIONS

The aim of the research was to evaluate the impact of certain environmental factors on some commercially available microbiological soil inoculums with tomato (*Solanum lycopersicon* Mill. 'Mobil') as a test plant. The Brix values of tomato fruits were improved by the BE3 and BR2 inoculums, giving a better taste, even at low phosphorus levels and less favorable precipitation.

In addition, the survival of indigenous microorganisms have tested under environmental stress conditions (increasing amounts of manganese sludge). During the experiments, the *Elymus elongatus* L-Szarvas-1 energy plant proved to be Mn-tolerant, so it could be recommended for use in phytoremediation purposes. Bio-effective treatments can be useful tools for sustainable agricultural practices and environmental protection technologies.

1.3. DEUTSCHSPRACHIGE ZUSAMMENFASSUNG

DIE UNTERSUCHUNG VON UMWELTFAKTOREN, DIE MIKROBIELLE BODENIMPFSOFFE BEINFLUSSEN

Wir haben Bewertungen der Auswirkungen bei bestimmten Umweltfaktoren, wie den im Handel erhältlichen mikrobiellen Bodenimpfstoffe mit Hilfe von Tomate (*Solanum Lycopersicon* Mill. ‚Mobil‘) als Testpflanze gemessen. Die Brix-Werte von Tomaten-Beeren wurden mit den BE3- und BR2-Impfstoffen verbessert, was zu einem besseren Geschmack auch bei niedrigen Phosphorwerten und unvorteilhaften Niederschlägen führte.

Neben Umweltstressfaktoren (steigender Mangan Schlammbelastung) forschten wir das Überleben von einheimischen Mikroorganismen. Während der Experimente wurde die Energiepflanze *Elymus elongatus* Deer L-1 Mn-tolerant, deshalb ist dessen Verwendung auf Phytosanierungs-Zwecke ist vielversprechend. Bioeffective Behandlungen können für nachhaltige Landwirtschaft und Umweltschutz empfohlen werden.

2. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉSEK

A mezőgazdaság távolodása a természeti környezettől olyan szintű károsodáshoz vezetett, amely ellen tenni kellett. Ezért már az Európai Közösség Párizsi Csúcsán az 1970-es években megfogalmazták, hogy a gazdasági növekedés önmagában nem lehet cél. A Brundtland Bizottság által megfogalmazott „Közös Jövők” címet viselő tanulmány alapján a cél a *fenntartható* fejlődés lehet. Amely nem más, mint *„olyan fejlődés, amely kielégíti a jelen generáció szükségleteit anélkül, hogy veszélyeztetné a jövő generációk esélyét arra, hogy ők is kielégíthessék szükségleteiket.”* A fenntartható mezőgazdasági szemlélet terjedése nagymértékben fokozta a mikrobiális talajoltóanyagok használatát mind a mezőgazdaságban, precíziós mezőgazdaságban, mind pedig a környezetvédelemben, hazai és nemzetközi szinten egyaránt. Magyarországon a 36/2006. (V.18.) FVM rendelet írja le a mikrobiológiai készítmények fogalmát az alábbiak szerint: a talaj termékenységét javító, a növény fejlődését befolyásoló és a komposzt mezőgazdasági célú felhasználása esetén a komposztálási folyamatokat elősegítő mikroszervezeteket (baktériumokat, gombákat, algákat) tartalmazó terméknövelő anyag, amely mentes az emberre fertőzőképes és a talaj természetes mikroflóráját kedvezőtlenül befolyásoló szervezetektől (http 1). Hazánkban jelenleg 135 féle engedélyezett mikrobiológiai készítményből 109 -nek van érvényes forgalomba hozatali és felhasználási engedélye a NÉBIH terméknövelők adatbázisa alapján (http 2, Melléklet 1). Ez azt mutatja, hogy idehaza is igen széles a választék talajoltóanyagokból. Félő azonban, hogy ez a bőséges kínálat megnehezíti a megfelelő készítmény kiválasztását az adott növénykultúrához. Továbbá az is gond lehet, hogy sokszor a gazdálkodók olyan hatást is elvárnak ezektől a termékektől, amely még a gondos gazdanövény- mikroba partner kapcsolat megválasztása esetén sem következhet be, bizonyos környezeti tényezők befolyásoló szerepe miatt. A sok esetben túlzó elvárásokról tanúskodik az általánosan elfogadott elnevezésük is, a *baktériumtrágya* kifejezés. Ez ugyanis azt sugallja, hogy a talaj trágyázása is megtörténik a termék alkalmazásával. Ezzel szemben a kijuttatott készítmény trágyahatása igen minimális, hiszen a mikroorganizmusok feltárt teste (mint elhalt trágyaanyag) igen kis mennyiségű. A készítményekben található élő szervezetek a többlet tápanyag szolgáltatását, növekedés stimulálását, vagy a biokontroll lehetőségét biztosítják megfelelő körülmények között. Arra, hogy milyen tényezők akadályozhatják meg az oltóanyagoktól elvárt hatások megnyilvánulását, a jelen munkában bemutatott vizsgálatok során kerestük a választ.

A **biológiailag effektív (bioeffektor) oltóanyagokkal végzett vizsgálataink** az Európai Unió 7-es keretprogramja által támogatott BIOFEKTOR („*The use of bio-effectors in crop nutrition*”) nemzetközi projekthez kapcsolódva folytak. A BIOFEKTOR projektnek célja volt, hogy hozzájáruljon a mezőgazdaság ökológiai intenzifikációjához az ásványi trágyák élő alternatíváinak fejlesztésével. Tehát, hogy alternatív trágyázási stratégiákat dolgozzon ki a bioeffektor (BE) kezelések (növény-növekedés-serkentő mikroorganizmusok és természetes növény-kivonatok) alkalmazásával és a bioeffektorok szántóföldi hatékonyságát javítsa. 10 európai és egy európai kívüli országból 20 kutatóhelyi partner (Melléklet 2) bevonásával tenyészedényes és szabadföldi kísérletek biztosították a készítmények hatásértékelését a különböző geoklimatikus körülmények között, búza, kukorica vagy paradicsom kísérleti növényrel (http 3).

A talajoltóanyagokra ható **környezeti stressztényezők** közül az antropogén hatásra bekövetkező **nehézfém és toxikus elem terhelés** kiemelt jelentőségű. Kérdésként merült fel 2010-ben, hogy az úrkúti mangánérc bányában az érc dúsítása során felhalmozódott, nagy mennyiségű vas-mangán tartalmú melléktermék (Mn-iszap) kedvező hatásának tulajdonítható-e a környező fasorok kiemelkedő magassága, és hogy mezőgazdasági célokra felhasználható volna-e, különösen gyenge termőképességű talajokon. A megválaszolás érdekében modell jellegű liziméteres kísérletet állítottunk be, ahol a mikrobiális talajoltás hatását energiafű gazdanövénnyel tanulmányoztuk növekvő Mn-iszap adagolással egybekötve.

A mikrobiális oltóanyagok hatását a talaj- mikroba-növény multifaktoriális rendszerben térben és időben is számos környezeti tényező képes befolyásolni. Ezek közül az ökológiai tényezők közül a biotikus tényezők szerepe megnő a talajoltóanyagok kísérlete során, hiszen az abiotikus tényezők kontrolláltak, illetve azonosak.

A fentiek fényében a munkám során az alábbi kérdések megválaszolását tűztem ki célul:

1. A vizsgált oltóanyagok a növény-mikroba közti kölcsönhatás rendszeren keresztül képesek-e javítani a növény valamely tulajdonságát?
2. Az oltóanyagok kombinációi hatékonyabbak lehetnek-e, mintha csak egykomponensű oltóanyaggal kezelnék a növényeket?
3. Nehézfém terhelés esetén a mikrobák jelenlétének változása mutat-e törvényszerűséget? Amennyiben igen, szükséges-e az oltóanyagok előállításánál, vagy alkalmazásakor figyelembe venni ezt?
4. A talaj-növény rendszerben a hasznos szimbionta gombákkal történő növényoltás képes-e változtatni a növény Mn toleranciáját, vagy akkumulációját?
5. Az úrkúti vas-mangán tartalmú melléktermék mezőgazdasági célokra felhasználható-e?

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A TALAJOLTÓANYAGOK TÖRTÉNETE

3.1.1. ELSŐ GENERÁCIÓS OLTÓANYAGOK

A talajok termőképességén belül az anyagok körforgásának részeként a mikroorganizmusok lebontási fázisai elengedhetetlenül fontosak. Ebből következett az a gondolat, hogy a talajok baktériumos oltása azok biológiai állapotára, s így termékenységükre is javító hatású lehet. Az emberiséget a talaj termékenységi állapota annyira régóta foglalkoztatja, hogy már a Bibliában is jelen van ez a kérdés, Jézusnak a terméketlen fügefáról szóló példázatában (Csathó 2002).

Igaz már a 17. században ismert volt a tény, hogy a pillangósok gyökerein „gubacsok” vannak, hiszen 1679-ben Malpighi ezt ábrázoló rajza publikálásra került, azonban a működésükről elődeinknek nem voltak ismereteik. Mígnem Hellriegel Wilfarth-tal együttműködve 1888-ban felismerte, hogy a pillangósok gyökerén elhelyezkedő gümők a légköri nitrogént képesek ammóniává alakítani (Hellriegel és Wilfarth 1888; Franche et al. 2009). Majd Beijerinck 1901. évi megfigyelései után felmerült, hogy egyes növények vetésre előkészített magvaira termélnövelés céljából N₂-kötő baktériumok tiszta tenyészetét juttassák ki (Helmeczi 1994).

Az első, *Bacillus ellenbachiensis*-ből álló tisztatenyészetet, amelyet „alanit” néven vittek a talajba, Caron a XIX. század végén állította elő (Helmeczi 1994). Annak ellenére, hogy már 1901-ben Beijerinck leírta az *Azotobacter chroococcum*-ot, az 1970-es évekig kis figyelmet szenteltek a nem pillangósokkal együtt élő egyéb nitrogénkötő baktériumoknak mindaddig, amíg nem izolált Döbereiner a braziliai talajokból számos szabadon élő baktériumot. Többek között *Azotobacter (Azorhizophilus) paspali*-t és *Beijerinckia fluminensis*-t gabona félék és cukornád gyökérszónájából, pontosabban a rizoplánból (Hirsch 2009).

Magyarországon a rizoszféra kutatása és az első „oltóanyag” alkalmazása Kerpely munkásságával kezdődött, aki szárított gümőörlemény alkalmazásával bizonyította, hogy a gyökérrendszer működőképessége befolyásolható és a rhizobiumos szimbiózis mesterséges kialakításával átlagosan 10-20%-os termélnövekedés is elérhető (Kerpely 1896; Yadav et al. 2007; Matics és Biró 2013). A BAKTOLEG oltóanyagok Bakondi-Zámory és Soós törzseinek alkalmazásával a gazdaságilag legfontosabb 5 pillangós gazdanövényre (lucerna, borsó, lóbab, herefélék és szója) készültek. A növény eredményes termesztéséhez megfelelő túlélő- és jó teljesítőképességgel rendelkező, adaptált *Rhizobium* oltóanyagok előállítására volt szükség (Biró 2006 a). A hazai kezdeti, csak kísérleti célra készült oltóanyagok után 1940-re már több tízezer hektárra elegendő oltóanyag készült. Az ezekkel kapcsolatos kutatásokat Szende 1987-ben foglalta össze, ugyanabban az évben, amikor Gulyás és Abdalla R-MIX (*R. meliloti* törzsekkel végzett) oltások alapján megállapították, hogy nagyobb műtrágya adagok mellett a talajok természetes szaprofitái gátolják mind az őshonos, mind az oltóanyagként bevitt *Rhizobium* törzsek szaporodását. Az 1980-as években az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet közreműködésével több ezer hektárra juttattak ki oltóanyagokat, túlnyomó részt a pillangós mezőgazdasági növényekkel vetett területekre. A oltások eredményességét több kutatócsoport is vizsgálta (Biró et al. 1980, 1984; Manninger et al. 1960, 1983; Köves-Péchy et al. 1987, 1990). A kutatások intenzív szakaszában az oltóanyagoknak a mezőgazdasági kemikáliákkal, peszticidekkel és xenobiotikumokkal való együttes alkalmazási lehetőségeit is tesztelték azért, hogy az

oltóanyag törzsek hosszabb túlélőképességét biztosítani tudják (Kecskés 1976). Újabb kutatások igazolták, hogy a vivőanyagok optimális megválasztásával kedvezően befolyásolhatók a mikrokörnyezet fizikai, kémiai körülményei (Bashan et al. 2002; Xavier et al. 2004; Kődöbocz et al. 2005; Darvas et al. 2008; Matics et al. 2008).

3.1.2. MÁSOD- ÉS HARMADGENERÁCIÓS OLTÓANYAGOK

A kezdeti mikrobiális oltóanyagokat univerzális „csodaszereknek” tekintették, és elsősorban a gazdanövényre voltak figyelemmel. A növény-talaj-mikroba kölcsönhatás rendszerben azonban sok más hatásmechanizmus és azok kombinációja is létezik és egy-egy baktérium, vagy gombatörzsre gyakran nem csak egy hatásmechanizmus jellemző (Kowalchuk et al. 2010; Berendsen et al. 2012).

Az első generációs oltóanyagok alkalmazásakor a növény-mikroba kölcsönhatásrendszer különböző hatásmechanizmusai közül csak a tápanyag-ellátottság javítása volt az elsődleges cél. Azon belül is, szinte kizárólag a biológiai nitrogénkötésre koncentráltak az oltóanyagok alkalmazásánál. A talaj élettelen, abiotikus, fizikai, kémiai tulajdonságainak és a környezeti tényezőknek a figyelembe vétele már a másodgenerációs oltóanyagok és azok vivőanyagainak a fejlesztésénél került előtérbe.

Napjainkban a hagyományos mezőgazdasági termelést számos esetben olyan fenntartható termesztési rendszerek váltják fel, amelyeknél a hasznos talaj mikroorganizmusok működőképessége a korábbiaknál is fontosabb szerepet játszik. Javítják a tápanyagok hasznosulását, nagyobb életerőt biztosítanak a növényeknek, és egyúttal kisebb külső tápanyagterhelést jelentenek a környezetre nézve (Harrier és Watson 2003; Németh 2006). A feladat fontosságára való tekintettel az Európai Unió számos COST akciója külön tematikus integrált kutatási projektet indított, így például a 8.30 számú „Mikrobiális oltóanyagok a mezőgazdaságban és a környezetvédelemben” című akciót (Biró 2002 a, b). 2013-ban, pedig a Biofactor projektet.

Az oltóanyagok újabb generációinak az alkalmazását a következő szempontok indokolják:

- A mezőgazdasági kemizálás és az egyre intenzívebb környezetszennyezési hatások miatt a szennyezőanyagokat tolerálni, vagy degradálni is képes mikroorganizmusokra van szükség az irányított bioaugmentációs vagy bioremediációs eljárásokhoz.
- Az általában mű- vagy szerves trágyákkal feltöltött, talaj táperőkészletek kimerültek, vagy kimerülőben vannak, ezért szükség lenne a mikrobiológiai talajoltóanyagokra.
- Egyre nagyobb mennyiségben keletkeznek hulladék anyagok, amelyek alternatív tápanyagként szolgálhatnak a talajokban, és ezeket a mikroorganizmusok képesek lebontani, kezelni, visszaforgatni.
- A mikrobiális oltóanyagok azonosításának, követhetőségének újabb genetikai alapon működő „ujjlenyomat módszerei” alakulnak ki, amelyek lehetővé teszik a törzs követhetőségét, visszaizolálását is. Ez a tény megteremtette a harmad-negyedgenerációs oltóanyagok létrejöttét is úgy, hogy ezekben a korábbi egy törzs helyett akár 80 különböző fajhoz tartozó törzs is megjelenhet.
- Számítógépes háttérrel és matematikai, statisztikai módszerek fejlesztésével lehetőség van kiterjedt adatbázisok létrehozására és összehasonlító értékelésre, úgynevezett szimulációs modellek kialakítására is, melyek

biztonságosabbá teszik az oltóanyagok alkalmazását, a termésmennyiségek becsléséhez hasonlóan.

A mikrobiális oltóanyagok elkülönítésének alapja a felhasználásuk során betöltött szerepük. Az ennek megfelelő lehetséges főbb csoportok a következők:

- Biotrágyáknak nevezik azokat a készítményeket, amelyek élő, a műtrágyaként bevitt N-t, P-t, egyéb makro- és mikroelemeket is pótolni képes mikroorganizmusokat tartalmaznak (pl: N₂-kötők és, P-mobilizálók). Ezek a magokhoz, növényi felületekhez vagy talajhoz adva kolonizálják a rhizoszférát, vagy a növény belsejét, és elsődleges tápanyagokkal vagy a hozzáférhetőségük növelésével elősegítik a gazdanövény növekedését (Vessey 2003).
- Azokat a baktériumokat, amelyek a növény növekedését a káros hatású mikroorganizmusok kontrollálásával érik el, „biopeszticid” készítményeknek nevezzük. Több PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), vagy PGPM (Plant Growth Promoting Microbes) szervezet mindkét szerepet be tudja tölteni. A *Burkholderia cepacia* például biokontroll tulajdonsággal rendelkezik a *Fusarium* fajokkal szemben, de serkenti a kukorica gyökernövekedését vas-szegény feltételek mellett sziderofór termelés segítségével (Vessey 2003). A „biopeszticid” tulajdonságú mikroorganizmusok, helyesebben „biológiai kontroll ágensek”: azon szervezetek, melyek képesek az ún. talajeredetű patogéneket távol tartani, valamilyen biológiai tulajdonságuk (vaskelát-képzés, enzim-aktivitás, antibiotikum termelés) segítségével. A biológiai kontroll mechanizmusai, amik a növény növekedését indirekt módon segítik elő, a növényi betegségek kialakulását szorítják vissza. Ezekre példa az antibiózis, a szisztematikus ellenállás indukálása és a kórokozókkal való kompetíció a tápanyagokért és az élettérért (Lugtenberg és Kamilova 2009).
- A talajkondicionáló mikroorganizmusok azok, amelyek mennyiségükkel, azaz élet- és anyagcsere-tevékenységükkel fejtenek ki tápelem mobilizáló vagy egyéb hasznos, pl. növény-növekedést-serkentő, hormontermelő (PGR) hatást a talajokban.

Számos más felosztásban is lehet tárgyalni a folgalomban lévő mikrobiológiai készítményeket. Jakab (2014) más szempontok alapján a következő készítmény kategóriákat sorolja fel:

-Szimbionta mikroorganizmusokat tartalmazók

-Cellulóz-bontó mikroorganizmusokat tartalmazók

-Komposztálási célra használhatók

-Elsődlegesen, talajon keresztül ható termésmenvelő hatású mikroorganizmusokat tartalmazók, azon belül:

- N₂ körforgalomban fontos szabadon élő nitrogénkötőket tartalmazók
- P körforgalomban fontos törzseket is tartalmazók
- Mikroelemek feltárását elősegítők (ezek főként arbuskuláris mikorrhiza gombákat tartalmaznak).

-Növényre ható mikroorganizmusokat tartalmazók, ezen belül:

- Főként gombákat tartalmazók
- Algákat vagy plazmidokat tartalmazók
- Kombinált mikrobiológiai oltóanyagok

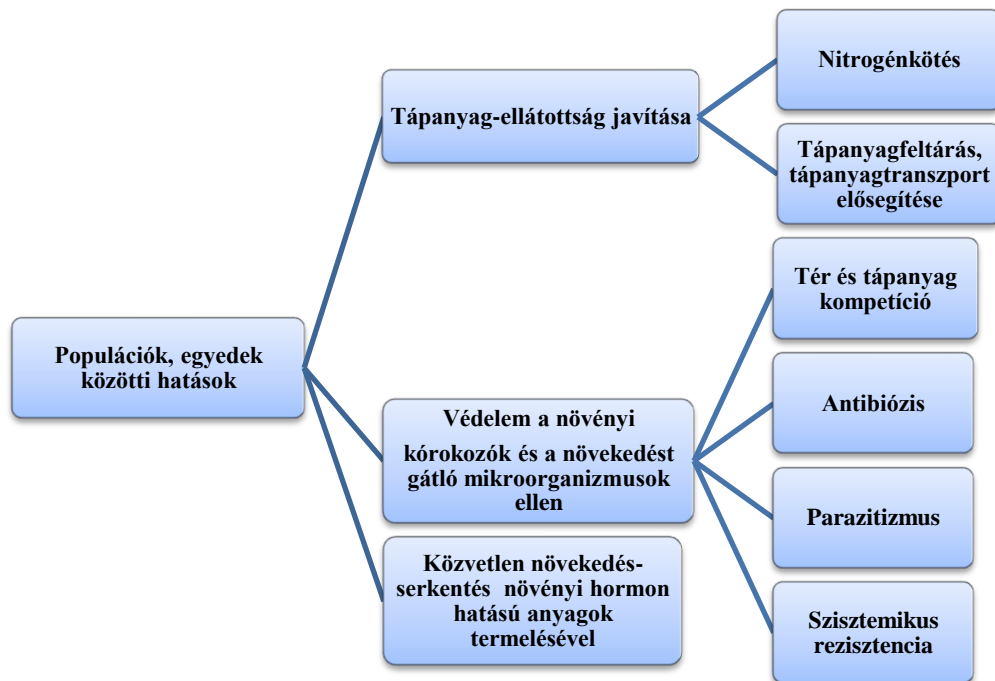
Az előre feltételezett hatások sok esetben átfedik egymást, vagy időben csak később nyilvánulnak meg, mivel a környezeti körülmények befolyásoló hatása is módosító

tényező (Carvalhais et al. 2013). Különösen a másod- és harmadgenerációs oltóanyagokra jellemző kombinált oltásoknál figyelték meg a mikrobák különböző jellegű, az adott közeghez vagy növényhez igazodó alkalmazkodóképességét, tulajdonságváltozását a vegetációs időszak alatt is, vagy a tartamhatás megnyilvánulása közben is (Bíró et al. 2000). A *Rhizobium*okkal együtt oltott *Azospirillum*ok pl. nem nitrogént kötnek (mivel ahhoz a növény már megkapta a rhizobiumtól) hanem hormont termelhetnek, amit Bashan (2004) is kimutatott. A mikorrhiza gomba jelenléte visszaszoríthatja a foszfor-mobilizálásra szintén képes bacillusokat.

Az oltóanyagban lévő mikroorganizmusok élettevékenységére, növekedésére a környezeti, fizikai, kémiai tényezők komoly hatással vannak, amit szükséges figyelembe venni az újgenerációs készítményeknél. Ilyen környezeti stressztényezők pl: a hőmérséklet, a csapadék, a nyomás- és ozmózis-viszonyok, a talajok szerves és szervetlen anyagokkal való szennyezettsége (Heszky 2005). Mindezeket túl a talajokban az élettevékenységet az adott talaj tulajdonságai (pl. tömör, laza szerkezete, szemcsézettsége, víztartalma stb.) határozzák meg. Ezen tulajdonságok meghatározzák az élővilág megtelepedését, megmaradását, összetételét. A talajásványok is mint elsődleges anyagok erősen befolyásolják a talajbiota mennyiségi és minőségi alakulását (Stefanovits et al. 1981). A talajoltóanyagok kutatásának meghatározó része a mikrobaközösségek egymás közötti kölcsönhatása. Sokféle kölcsönhatás rendszer létezik a növények és a mikroorganizmusok között, az irodalmi áttekintés az oltóanyagok alkalmazásához szükséges mutualista, kölcsönös előnyökön alapuló növény-mikroba kölcsönhatásokra tér ki. A mikrobiális oltóanyagok megbízható alkalmazásához ugyanakkor figyelembe kell venni a mikroorganizmusok közötti kölcsönhatásokat is, illetve a környezeti tényezőknek az azokra kifejtett módosító, befolyásoló hatásait is.

3.2. A TALAJOLTÓANYAGOK HATÁSAI A NÖVÉNYEKRE

A talajt számos mikroorganizmus népesíti be, számukat tekintve a baktériumok a legjellemzőbbek, azonban gombák (többek között mikorrhiza gombák) is részt vehetnek a gazdanövényekkel kialakuló kölcsönhatásrendszerben (Antoun és Prévost 2005). A kialakuló kölcsönhatás rendszer Schippers, et al. (1985) alapján az 1. ábrán szerepel. A gyökérszóna környezetében, a rizoplánban megtapadhatnak a talajrészecskéket bevonó mucigél rétegen a baktériumok és a gombafonalak is (Singer és Donald 2006; Sylvia et al. 2005). A rizoplán folyamatosan átmegy a rizoszférába, és azzal együtt alkotja a talajgyökér határréteget. Rizoszféra alatt a talaj azon szűk zónáját értjük, amelyben a gyökerek által kiválasztott exudátumok a hatásukat kifejtik (Kátai 2011; Miransari 2011). Ezek a kémiai anyagok jelentős mennyiségű alacsony molekulatömegű szerves vegyületeket tartalmaznak, mint például aminosavak, cukrok és szerves savak, amik növelik a mikrobiális populációk számát és az aktivitásukat (Grayston et al. 1997; Jones 1998; Hertenberger et al. 2002). A jelenség hatására a növényi gyökérrendszerben, a rizoszférában 2-3 nagyságrenddel is több mikroorganizmus fordulhat elő.



1. ábra: Populációk és egyedek közötti mikrobiális kölcsönhatások a növény és mikroba rendszerben (Schippers et al. 1985)

A baktériumok közül a növény-növekedést serkentő rizobaktériumok hatása lehet direkt vagy indirekt (Klopper et al. 1989; Mantelin és Touraine 2004). A baktériumok és a gazdanövény között kialakuló kapcsolat két kategóriába sorolható: rizoszférikus és endofitikus. A rizoszférikus kapcsolatban a PGPR baktériumok megtelepedhetnek a rizoszférában, a gyökér felszínén vagy a felszíni intercelluláris járatokban. Endofitikus kapcsolatban a PGPR baktériumok ténylegesen a gazdanövény apoplaszt terében élnek. A gazdanövénytől és az endofitától függően, a biotrágya PGPR baktériumok megtalálhatók a növény összes részében (mag, gyökér, törzs, levél stb.) (Vessey 2003; Innerebner et al. 2011; Vorholt 2012). Számos kutatás, vizsgálat folyik a PGPR közösségek sokféleségének, dinamikájának és jelentőségének megértése céljából. Az eredeti meghatározás szerint a PGPR baktériumok közé nem tartoznak a nitrogént megkötő *Rhizobium* és *Frankia* fajok. Egyes szerzők azonban kevésbé korlátozó módon használják bármely gyökérkolonizáló baktériumra a PGPR kifejezést. Jelenleg általánosan elfogadott, hogy a *Rhizobium*ok által a hüvelyesek gümőiben vagy a *Frankia* fajok által az *Alnus* spp csomóiban végzett biológiai nitrogénkötésből származó növekedésserkentés nem tekinthető a klasszikus értelemben vett PGPR hatásmechanizmusnak (Antoun és Prévost 2005). A *Rhizobium* és rokon nemzetségei azonban a szabadon élő PGPR csoportba sorolhatóak, amennyiben egy olyan növény részére jelentenek növekedési előnyöket, amely nem specifikus gazdaszervezet és amelyben nem alakítanak ki gyökérgümőket (Fodor 2013). Ezzel szemben általánosan elfogadott PGPR baktériumok a következő genusok: *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Mycobacterium*, *Mezorhizobium* és *Flavobacterium* fajok. (Jay 2013). A PGPR baktériumok az 1. ábrán is bemutatott hatásmechanizmusokkal segíthetik a populációk és egyedek közötti pozitív kapcsolatokat, melyek az alábbiak:

- a tápanyag-ellátottság javítása nitrogénkötés, tápanyagfeltárás, vagy tápanyagtranszport elősegítése révén

- védelem a növényi kórokozók és a növekedést gátló mikroorganizmusok ellen tér- és tápanyag-kompetíció, antibiózis, parazitizmus, valamint indukált szisztémikus rezisztencia révén
- közvetlen növekedés-serkentés növényi hormon hatású anyagok termelésével

3.2.1. A TÁPANYAG ELLÁTOTTSÁG JAVÍTÁSA

A **biológiai nitrogénkötést** kétféle nitrogénkötő baktérium csoport láthatja el. Az első csoportba a szimbióta nitrogénkötő baktériumok tartoznak. A pozitív hatású szimbiózis révén számtalan növény, főleg a hüvelyesek akár 250-300 kg nitrogént képesek megkötni hektáronként. A két legismertebb genusz a Gram-negatív *Rhizobium* genusz mely sok, első sorban pillangós gazdanövényre specializált fajjal rendelkezik és a *Frankia* genusz az *Actinomycetes* rend képviselője, amely szimbiózis kialakítására képes nem hüvelyes növényekkel. A második csoportba pedig a szabadon élő asszociatív szimbiózisra képes baktériumok tartoznak. A csoporton belül elméletileg megkülönböztethetők szabadon élő és a növényekkel lazább-szorosabb asszociációt alkotó baktériumok, azonban elkülönítésük nem mindig egyértelműen lehetséges (Lőrincz 2011). A növények közvetlen gyökérszónájában az így megkötött nitrogén mennyisége általában 20-30 kg ha⁻¹, amely mennyiség a legtöbb növény nitrogén-szükségletének kb. 25%-a (Káta 2011).

A **tápanyagfeltárás és a tápanyagtranszport elősegítésének** folyamatát tanulmányozva Gerretsen (1948), Katznelson és Bose (1959) megfigyelték, hogy egyes bakteriális oltóanyagok segítették a foszfor felvehetőségét, a nem oldódó foszfátot oldhatóvá tették és serkentették a szerves foszfátok mineralizációját. A búza oltásánál figyelték meg, hogy a gyökércsúcs fölötti rész nagyobb mértékben növekedett, a gyökérszőrök felülete megnőtt, ami a tápanyagok erőteljesebb felvételét segítette (Richardson et al. 2009; Borriss 2011). Ilyen foszforoldó képességgel a PSB (Phosphate Solubilizing Bacteria) baktériumok például a *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* nemzetség egyes fajai bírnak (Whitelaw 2000; Kucey et al. 1989). A kereskedelmi forgalomban kapható mikrobiális készítményekben leggyakrabban a *Bacillus megaterium*-ot alkalmazzák, mint a foszfor-felvételt javítani képes mikroorganizmust. Ez a *Bacillus* faj az általa termelt foszfátáz enzim segítségével a talajban oldhatatlan foszfor-formákat (Ca-, Fe-, Al-foszfát) megbontja, és vízoldhatóvá, ezáltal a növények számára felvehetővé teszi.

A foszfor mobilizálására nemcsak baktériumok, hanem gombák (*Penicillium* és az *Aspergillus* nemzetség tagjai) és a gyökérkapcsolatban élő mikorrhiza gombák is képesek. A mikorrhiza együttélés egy mutualista szimbiózis a talajban, gombák és a magasabb rendű növények gyökerei között (Quilambo 2003; Johnson és Gehring 2007). Az együttélés egyik legfontosabb hatása, hogy növeli a gazdanövény foszfor (P), cink (Zn), réz (Cu), kálium (K), ammonium-nitrát felvételét alacsony tápanyag ellátottságú talajokban (Koide 1991; Ortas et al. 2001, Ortas 2003; Wallander et al. 2002; Claridge et al. 2009; Kafkas és Ortas 2009; Hoeksema et al. 2010). Megkülönböztetünk ektomikorrhiza és endomikorrhiza jellegű gyökérkapcsolatot. Az ektomikorrhiza kapcsolat esetén egy úgy nevezett Hartig hálóval veszi körül a mikorrhiza gomba a gyökér kortikális sejtjeit. Az arbuskuláris mikorrhiza kapcsolat esetén a gomba belenő ezekbe a sejtekbe és az azon belüli elágazásokon, gomolyszerű arbuskulumokon keresztül történik meg a tápanyag-kapcsolat (Sylvia et al. 2005; Biró 2006 b). Az arbuskuláris mikorrhiza gombák (AMF) további hatásai, hogy javítják a növény

vízgazdálkodását, só-stressz tűrését és növelni képesek más makro-és mikrotápanyagok felvételét is (Bethlenfalvay és Franson 1989; Marschner és Dell 1994; Marschner 1995; Khalvati et al. 2005; Selvaraj és Chellappan 2006; Feddermann et al. 2010). Az is jól dokumentált hatás, hogy az AMF kolonizáció és az AMF aktivitása is fokozódik, mind az *Azospirillum*, mind pedig a *Rhizobium* nitrogénkötő baktériumok megtelepedésétől, ami jobb növényi teljesítményt biztosít (Ferrera-Cerrato és Villerias 1985; Barea et al. 1987, 1992, 2002, 2005; Garbaye 1994; Artursson et al. 2005).

A fentieket figyelembe véve elmondható, hogy a szimbiózis, és a talaj-növény-mikroba kapcsolatok között a rizoszféra és a mikorrhiza rendszerek képesek segíteni a növények életben maradását tápanyaghiányos, leromlott élőhelyeken, vagy stresszes időszakokban is (Smith és Bowen 1979; Graham 1992; Medina és Azcon 2010).

3.2.2. VÉDELEM A NÖVÉNYI KÓROKOZÓK ÉS A NÖVEKEDÉST GÁTLÓ MIKROORGANIZMUSOK ELLEN

Adott nicheben bármely mikroba képes bizonyos mértékű antagonizmusra, a legegyszerűbb stratégia erre hogy gyorsabb növekedésével, szaporodásával szorítja vissza a másikat (Darvas et al. 2008; Knief 2010 a,b), de a biológiai védekezés során az antibiotikus hatású anyagok termelésén keresztül a bonyolult parazita kapcsolatokig számos megjelenési formával találkozunk (Darvas et al. 2008). Ezek közül a hatások közül is igazán csak azok hatékonyak, amelyekben fokozott antagonizmus mutatkozik a növénykórokozókval szemben. Az *in vitro* kísérletekből viszonylag jól ismertek azok a fő folyamatok, amelyek az antagonista hatás megvalósulásában szerepet játszanak. Ezek a következők(Schippers et al. 1985):

- tér és tápanyag-kompetíció, szaprobionta kompetíció
- antibiózis (antibiotikus hatású anyagok termelése)
- parazitizmus (mikoparazitizmus)
- szisztémikus rezisztencia (elicitor hatás)

Gátat szab a biológiai védekezésnek, hogy a rizoszféra egy-egy antagonista mikroorganizmusa csupán egy vagy néhány kórokozó ellen hatékony. Erre nyújthatnak megoldást a több baktériumtörzs keverékét tartalmazó talajoltóanyagok. Továbbá a biológiai védekezésre szánt mikroorganizmusok versenyképességét is lehet fokozni megfelelő adalékanyagokkal. Ezek az anyagok nemcsak tápanyagként hasznosítható adalékok lehetnek, hanem olyanok is (pl. alginát, emulziók, ásványi anyagok), melyek kedvezően befolyásolják a védekezésre szánt törzsek életképességét (Darvas et al. 2008). A fentiekben leírtak miatt jelenthet termés növekedést a mikrobiális oltóanyagokkal történő mag- vagy talajoltás és nagyon előnyös lehet a fenntartható mezőgazdaságban is (Subba-Rao 1985; Hayat et al. 2010; Miransari és Smith 2008).

Egy adott élettérre a mikrobaközösség állandó változása a jellemző, amelynek egyik oka a **tér- és tápanyag-kompetíció**. A élettérért és a tápanyagért folytatott harc nyertese azonban adott nicheben általában nem lehet hosszú távon győztes, hiszen a források kimerülése, amelyekért a versengés folyt, ennek időbeli korlátot szab. Egy-egy versengés során, a rizoszféra kolonizálása kulcsfontosságú. Ez nem csak azért lényeges, hogy megfelelő mennyiségű mikroba legyen jelen az antibiotikus és parazita hatás kifejtéséhez, hanem azért is, hogy a gyökerek felszínén elszaporodó szaprobionta, tehát

nem növényi kórokozó mikroorganizmusok foglalhassák el a kórokozó számára alkalmas életteret, és így tömegükkel megakadályozzák, hogy az utóbbi hozzáférjen az úgynevezett fertőzési helyekhez (Darvas et al. 2008). Ezt a versenyképességet az egyes fajok populációira jellemző biokémiai potenciál és ökológiai tolerancia, a geno- és fenotípusos alkalmazkodó képességgel együtt biztosítja. (Szabó 1988).

Annak ellenére, hogy természetes körülmények között a szabad vasionok hozzáférhetősége erősen korlátozott, a rizoszférában a vas központi jelentőséggel bír az obligát aerob és fakultatív aerob mikroszervezetek anyagcseréjében (Várady et al. 2002). A PGPR rhizobaktériumok által termelt sziderofórok - azaz kis molekulatömegű, a vas (Fe^{3+}) iránt nagy affinitást mutató, kelátképző anyagok - által a mikrobák kompetíciós előnyökhöz juthatnak a tápanyagokért folytatott küzdelemben (Várady et al. 2002; Saha et al. 2013). Az ún. „fluoreszcens-putida” típusú PGPR *Pseudomonas* baktériumok, a rizoszféra általánosan, legnagyobb tömegben előforduló élőlényei a mérsékelt égövi klímán. A sziderofór-termelő tulajdonságú *P. fluorescens*, *P. putida* és *P. fulva* különböző színű és típusú sziderofórokat bocsájtanak ki, amelyek közös tulajdonsága a Fe^{3+} -ionokhoz való erős kötődési képességük, amellyel megakadályozzák, hogy a gyökérrendszer más képviselői a vashoz hozzájussanak (Kloepper et al. 1980).

A *Rhizobium* baktériumok normál körülmények között rosszul viselik a stresszt (Miransari és Smith 2008), ha azonban toleráns törzseket, mint oltóanyagot alkalmazunk egy szennyezett területen, akkor azok képesek megvédeni a gazdanövényüket a biológiai N_2 -kötés segítségével is (Simon et al. 2006). Az ellenálló *Rhizobium* baktériumok a fitoremediáció során a fémekre közvetlenül hatnak kelát-, csapadékképző, átalakító, akkumuláló képességükkel (Haoab et al. 2014). Génmanipulációs és nemesítési kutatások folynak arra vonatkozóan is napjainkban, hogy az antagonista mikroorganizmusok kompetíciós képességét tovább lehessen növelni (Qiao et al. 2014).

Az **antibiózist** Roberts 1874-ben ismerte fel, egy évvel később Tyndall bizonyos mikroszkópikus gombák baktériumölő tulajdonságáról írt (Kingston 2008). Majd több kutató is megállapította, hogy az antibiotikus hatású anyagok a mikroorganizmusok által termelt másodlagos metabolitok (Godó 2011). Fleming 1928-ban a penicillin felfedezése során a *Penicillium notatum*, mai nevén *P. chrysogenum* baktériumölő hatását vizsgálta *Staphylococcus aureus* kultúrán (Fleming 1980; Sykes 2001). Csak egyedül a *Trichoderma*-nemzetségbe tartozó gombákból több tucat antibiotikumot izoláltak és határozták meg a szerkezetüket (Howell 1998; Sivasithamparam és Ghisalberti 1998; Weindling 1937, 1941)

Az antibiotikumok és antibiotikus hatású anyagok kémiaiilag igen változatos csoportot alkotnak. Egyes antibiotikumok csak bizonyos mikrobacsoportra hatnak, mások viszont egyaránt gátolják a baktériumok és a gombák szaporodását is. Mivel feltételezhető, hogy a gombák világában a jelenleg ismertnél sokkal általánosabb a toxikus hatású anyagok termelése (Pitt és Hocking 1997) a biológiai védekezésre kiválasztott minden új törzset ilyen szempontból is fokozott figyelemmel kell tesztelni. Antibiotikus hatása lehet például a különböző gombák által termelt extracelluláris, lítikus enzimeknek is, amelyek a fizikai kontaktus létrejötte nélkül gátolják más mikroorganizmusok növekedését. (Darvas et al. 2008).

A baktériumok által termelt antibiotikumok köréből a legeredményesebbeket a sugárgombák (*Actinomycesek*) *Streptomyces* nemzetségének tagjai termelik (Waksman 1947; Calderon 2007). Hatékony antibiotikum termelést a baktériumok között még

leginkább a különböző *Bacillus* és *Pseudomonas* fajoknál figyeltek meg (Braun et al. 2010; Wensing et al. 2010; Neilson és Allard 2013; Landsberg 1949). A *Bacillus* nemzetség által termelt antibiotikumok száma ma közel 700. A *B. subtilis* több mint hetvenféle antibiotikumot képes előállítani, így e nemzetség fajai közül a legtermelékenyebb. Számottevő antibiotikum termelő továbbá a *B. brevis*, a *B. licheniformis*, a *B. pumilus*, a *B. polymyxa*, a *B. circulans*, a *B. cereus*, és a *B. laterosporus* is. Ezeknek az antibiotikumoknak a többsége polipeptid, főleg Gram-pozitív fajokkal szemben hatékonyak, bár egyesek kizárólag a Gram-negatív fajoknál eredményesek (Godó 2011).

A **parazitizmusban** legnagyobb jelentőségük a gombáknak van a sokszínű növényvilágban, tekintettel változatos fejlődésükre és számukra (Godó 2011). A növénypatogén gombák elleni biológiai védekezésben a mikoparazita *Trichoderma* gombák komoly jelentőséggel bírnak (Kubicek et al. 2001). Sokféle antimikrobiális anyagot termelnek, amelyek igen változatos csoportokat alkotnak a kémiai szerkezet és a funkció szempontjából (Taylor 1986), mint például képesek antimikrobiális vegyületek, sejtfal-bontó enzimek (extracelluláris 1,3-D glükánáz, kitináz és proteáz) termelésére és így képesek behatolni gazdagombába és elpusztítani azt (Inbar és Chet 1992, 1997; Goldman et al. 1994; Howell 2003; Elad 2000; Schirmböck et al. 1994; Haran et al. 1996; Harman et al. 2004; Darvas et al. 2008). Hatékonyan alkalmazzák a *Trichoderma* törzseket sok patogén gomba ellen, többek között: *Alternaria alternata*; *Botrytis cinerea*; *Fusarium spp.*; *Phytophthora spp.* *Sclerotinia spp.*; *Sphaerotheca fusca* (Lisansky et al. 1997; Rao et al. 2004; Singh 2007; Chakravathy és Nagamani 2007; Elad 1983; Gveroska és Ziberoski 2012).

A **szisztémikus rezisztencia**, mely során a mikroorganizmusok képesek a velük kapcsolatba kerülő növényekben rezisztenciát indukálni a növényi kórokozókkal szemben, még alig vizsgált hatás (Darvas et al. 2008). Pedig számos patogén okozta fertőzés a növényekben egy második fertőzéssel szembeni szisztematikus rezisztencia kialakulásához is vezet. Melynek kialakulásában a szalicilsavnak és az általa serkentett antioxidánsoknak van szerepük (Fodor et al. 1997; Gergely 2004; Király 2004). A szisztémikus rezisztencia mikrobiális oltóanyagok által történő kiváltásában többek közt olyan fluoreszkáló *Pseudomonas* törzsek vehetnek részt, melyek fenazinok, oomycin, pirrolnitrin és poliketidek mellett pyochelint és szalicilsavat is termelnek. Az indukált rezisztencia kialakulása akkor tekinthető bizonyítottnak, ha a növény ellenálló képessége a kórokozóval szemben a rezisztenciát kiváltó mikrobával történt oltástól térben és/vagy időben elválasztva figyelhető meg, tehát például a növény gyökérzetének a kezelése után a föld feletti részeken is kifejeződik a fokozott ellenálló képesség (Darvas et al. 2008).

3.2.3. KÖZVETLEN NÖVEKEDÉS-SERKENTÉS

Egyes mikroorganizmusok bizonyítottan képesek a kórokozókkal szembeni védelemtől függetlenül is serkenteni a kezelt növényeket. Növényi növekedést szabályozó PGR (Plant Growth Regulator) anyagok, olyan szerves anyagok, amelyek befolyásolják a növények fiziológiáját és a fejlődését, nagyon kis koncentrációban is (Salamone et al. 2005). A rhizoszférában élő mikroorganizmusok nagy része növényi növekedést szabályozó anyagokat termel. Ilyen például az auxin, a gibberellinek, a citokininek és az abszcizinsav. Ezek a növényi hormonok rendszert alkotnak, működésük összefügg; serkentik, vagy gátolják egymás hatását. A kedvező hatás egyik lehetséges módja, hogy a baktériumok által termelt hormonok serkentik a növény növekedését, anyagcseréjét,

ezáltal a biológiai produkciót is. *Azospirillum* indukálást követően például kimutatható, hogy csökken a gyökereken kötött auxin tartalom, míg emelkedik a szabad auxin szint (Fallik 1994; Godó 2011) (1. táblázat).

1. táblázat: Példák a mikrobák növényi növekedést serkentő hatására (Whipps nyomán, 1997)

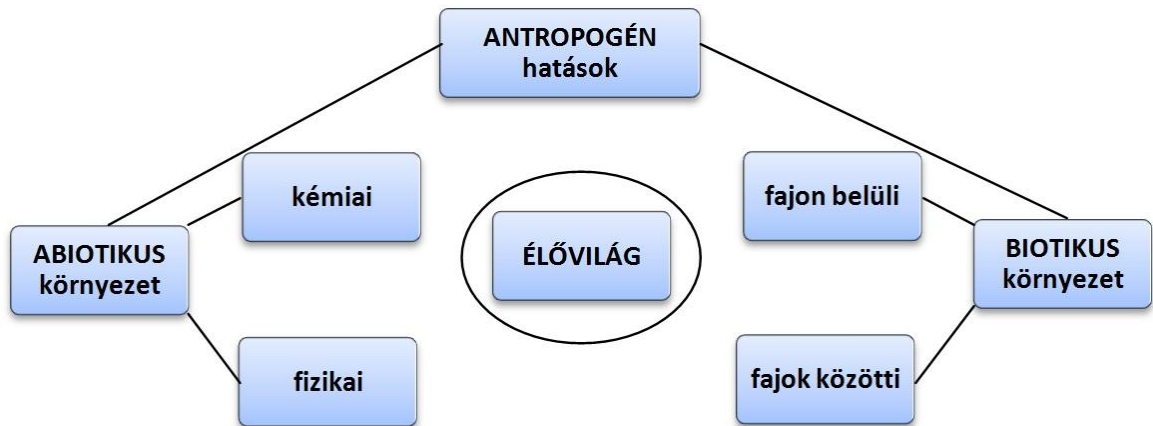
Mikroorganizmus	Növény	A serkentő hatás
Baktériumok		
<i>Arthrobacter citreus</i>	Repce	Levélfelület, és termés növekedés
<i>Azospirillum spp.</i>	Paradicsom	Csírázás, száraz tömeg, gyökér és hajtáshossz növekedés
<i>Bacillus subtilis</i>	Gyapot, földimogyoró, hagyma	Gyökér és hajtás, termés száraz tömeg, hajtáshossz
<i>Pseudomonas spp.</i>	Bab, uborka, saláta, dinnye, paprika, retek, dohány, búza burgonya, paradicsom	Csírázás, hajtás és gyökértömeg növekedés
<i>Pseudomonas putida</i>	Repce	Levélfelület, gyökérhossz és termésnövekedés
Gombák		
<i>Trichoderma spp.</i>	Saláta, körömvirág, petúnia, verbéna	Hajtástömeg és virágszám növekedés
<i>Trichoderma harzianum</i>	Krizantém, meténg, petúnia, paprika, retek, paradicsom, bab, uborka	Hajtástömeg növekedés csírázási erély, hajtás és gyökértömeg növekedés

3.3. A TALAJOLTÁST BEFOLYÁSOLÓ KÖRNYEZETI TÉNYEZŐK

A növényi gyökérrendszerben, a rizoszférában általában megfelelőek a körülmények a talajlakó mikrobák számára, azonban az ökológiai folyamatokat befolyásoló környezeti tényezők előnyösen vagy hátrányosan is módosíthatják az adott élőhelyen jelen lévő populációk számára a környezetet (Djukic et al. 2018). A mikrobákra káros tényezők két fő típusa a stressz és a zavaró hatás. A stresszhatás (pl. szélsőséges hőmérséklet, víz, oxigén, túlzott vagy korlátozott mikro tápelemek) csökkenti az élőhely populációját, míg a zavarás (diszturbancia) olyan drasztikus változás, ami az élő szervezetek részleges vagy teljes pusztulását okozza. Ez a két tényező, az erősségüktől függően, négy féle kimenetelű esetet idézhet elő. Abban az esetben, amikor a stressz erős, a zavarás pedig durva az élőlények nem képesek túlélni. A további három esetben, melyek -a mérsékelt zavarás és stressz, a kis zavarás és nagyobb stressz, valamint a nagymértékű zavarás kis sztrezz- a mikrobák valamely számukra előnyös hatás mechanizmussal (antibiózis, tápanyag transzport) élnek túl. A valóságban azonban többnyire a szelektáló tényezők átmenetei érvényesülnek (Deák 2006, Horváth et al. 2011). A környezeti tényezők, melyek a fent leírtakat kiválthatják lehetnek biotikus (élő), abiotikus (élettelen), átmeneti (vegyes) környezeti tényezők illetve antropogén hatások. Az abiotikus és a biotikus szétválasztása kizárólag tünetek alapján nem lehetséges.

3.3.1. BIOTIKUS KÖRNYEZETI TÉNYEZŐK

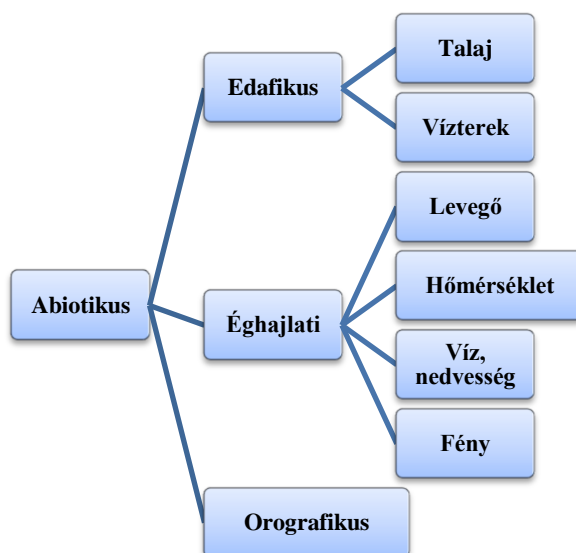
A biotikus tényezők a populációk kölcsönhatásai egymás közötti kapcsolatai (fajon belüliek és fajok közöttiek) folyamán kialakuló hatásokat jelentik. Megjelenési formájuk alapján lehet: szimbiózis, élősködés, versengés. A biotikus tényezők sorában megkülönböztetjük az egyes növényi, illetve állati populációk és egyedek közötti hatásokat, valamint a növények és az állatok közötti kölcsönhatást (2. ábra). A különböző fajok kölcsönös kapcsolata lehet egymás számára közömbös, kölcsönösen hasznos, sőt elengedhetetlen vagy káros és ezek számos fokozata és változata.



2. ábra: A környezeti tényezők viszonyrendszere (Bihari 2008)

3.3.2. ABIOTIKUS KÖRNYEZETI TÉNYEZŐK

Az abiotikus tényezők alatt a környezet élettelen, de az élethez szükséges fizikai és kémiai elemeit, jelenségeit értjük (3. ábra). Az abiotikus környezet két irányból hat egy ökoszisztémára egyrésztől biztosítja az élet fennmaradásához szükséges feltételeket, másrésztől a populációnak alkalmazkodnia kell az általa biztosított feltételekhez. Az abiotikus tényezők legcsekélyebb állandósuló vagy időszakos változása is instabillá teheti és adaptációra, akklimatizációra készíti az adott ökoszisztéma egyedeit.



3. ábra: Abiotikus környezeti tényezők

Az **edafikus** tényezők a talaj fizikai, kémiai és biológiai tulajdonságait ölelik fel, és magukban foglalják a kőzeteknek azokat a tulajdonságait is, amelyek hozzájárulnak ahhoz, hogy termőtalaj képződjön (Juhos et al. 2015, Tóth et al. 2013)

A **talaj** kémiai tulajdonságai befolyással vannak az ott élő élőlények élettevékenységére, hiszen azok meghatározott kémhatású környezetet igényelnek. Az életközeg pH értéke jelentősen befolyásolja a mikroorganizmusok előfordulását, aktivitását (Tóth et al. 2011). A lúgos és semleges kémhatású talajokban főleg a baktériumok tevékenykednek nagyobb intenzitással, míg a savas kémhatású talajok a mikroszkopikus és makroszkopikus gombáknak kedveznek (Godó 2011, Kátai 2011). A szervesanyagok lebomlása semleges pH mellett a legkedvezőbb. 5,5-ös pH alatt a lebontást gombák végzik. A nitrifikáció jelentősen csökken 6-os pH érték alatt és 8 fölött, míg 4,5 alatt teljesen meg is szűnik (Stefanovits 1999, Szabó és Csámer 2002). A pH szint továbbá hatással van a szilikátok mállására, egyes anyagok oldékonyságára, a kolloidok adszorpciós tulajdonságaira, a tápanyagok felvételére és a toxikus fémek felvehetőségére.

A talaj fizikai tulajdonságai, mint a szerkezet, rétegződés, alkotórészek szintén nagymértékben befolyásolhatják az ott kialakuló életközösségeket. A szilárd fázis mellett 20-30 % folyékony (talajvíz és talajoldatok), illetve 20-30 % gáznemű (a talajporozitást biztosító talajlevegő) fázis alkotja a talajt (Bihari 2008). A szerkezete, vagyis a talajrészecskék nagysága és elhelyezkedése, valamint az összekapcsolódásuk mértéke befolyással van a talaj levegőellátottságára, a talaj vízellátottságára, azon belül pedig a kolloidok, pórusok méretére és a kapillaris víz mennyiségére.

A vizes élőhelyek, **vízterek** lehetnek természetes kialakulásúak, mint a mocsarak, lápok, árterek vagy mesterségesen kialakítottak, mint a halastavi, mezőgazdasági, víztározási céllal létrehozott vizes élőhelyek. Vízter tipológiailag a szárazföldi vizeket két fő kategóriába soroljuk állóvizek és áramló vizek (Kozák 2008), melyek egészen más életteret biztosítanak a mikroorganizmusoknak, mint a talaj.

Az **éghajlati** tényezők jelentős hatással vannak az élő szervezetekre és az életközösségekre (Fekete et al. 2017), és meghatározzák egy terület élővilágának általános jellegét. Az éghajlati tényezők közé tartoznak a levegő, a hőmérséklet, a nedvesség és a fény.

A **levegő** alapvető ökológiai tényező, mely kémiai és fizikai tulajdonságaival hat az élőlényekre. A kémiai tulajdonságok közül legfontosabb a levegő összetétele. A talajpórusok víztelítettsége meghatározza a talajlevegő, valamint a talajoldat gázhalmazállapotú komponenseit. Egy levegőzött talajban 20% körüli a talajlevegő oxigén és nagyjából 1 % szén-dioxid tartalma. Vannak olyan fakultatív, vagy obligát anaerob baktériumok, gombák, algák, szabadon élő fonalférgek és más, rothadó iszapban élő állatok, amelyek átmenetileg vagy állandóan oxigén jelenléte nélkül is képesek élni (Kátay 2011, Felföldy 1981). A talajban kialakuló mikrobiális életközösségekre a levegő fizikai tulajdonságai, mint a légáramlás és a szél nincsenek számottevő befolyással.

A **hőmérséklet** az élőlények minden élettevékenységét befolyásolja, ezért általános hatással bír az élővilágra. Fontos éghajlati elem, amely jelentősen és időben, évszakosan változó mértékben befolyásolja a talaj hőmérsékletét. Legnagyobb hőmérséklet ingadozás a talaj felszínén és a felszín közeli rétegekben tapasztalható (Kátai 2011). A magas hőmérsékleti tartományban egyes algák és baktériumok akár 80 °C celsius fok felett is megélnek. A mikroorganizmusok esetében is meg kell különböztetnünk a hőmérsékleti igényt és a hőtűrő-képességet. Szaporodási intervallumuk -5 - $+80$ °C között mozog. Szaporodásuk alsó határát a nagyobb víztartalom miatt a fagypont, felső határát a fehérje és a nukleinsavak hőérzékenysége befolyásolja.

Hőmérsékleti igényüket három értékkel (minimum, optimum, maximum) jellemezhetjük. A kriobionta (hó- és jégalakó) szervezeteken kívül a mikroorganizmusok pszichrofil (optimális hőmérséklet: 6-15 °C), mezofil (25-37 °C), termofil (45-55 °C) csoportba sorolhatók.

Éghajlati viszonyaink mellett elsősorban a mezofil fajok terjedtek el. Bizonyos körülmények között egyes csoportok (trágyaerjesztésnél, mezofil-termofil) váltják egymást (Kátai 2011).

A bioszférában a víz az egyik legfontosabb környezeti tényező. A víz nélkülözhetetlen abiotikus környezeti tényező, teljes mértékben meghatározza az élővilág képét.

A **fény** természetes abiotikus tényező, amely csak a talajfelszínen és kb. a felső 2 cm-es rétegben játszik szerepet, elsősorban a szintesttel rendelkező baktériumok és algák számára fontos (Godó 2011). A fotoszintetizáló zöld- és bíborbaktériumok, ill. az algák feltétlenül igénylik a fényt, a fotoszintézis során a nap hősugarai segítségével épül fel szintestek (színanyagok) jelenlétében a szervetlen anyagból a szerves anyag, az elsődleges biomassza, amely nélkül elképzelhetetlen a földi élet. Ezek az élőlények csak a talaj felszínén fordulnak elő. A többi mikroorganizmusra káros hatással van a fény, amely hatás részben hőhatáson alapul. A szórt fény ugyan nem gyakorol pusztító hatást a mikroorganizmusokra, de gátolja növekedésüket. Minél hosszabb a fény hullámhossza, annál kisebb az energiája. A mikroorganizmusokra a legpusztítóbb hatást

a rövid hullámhosszú, erős fotokémiai hatású UV sugárzás és az ionizáló sugárzások fejtik ki (Kátai 2011).

Az **orografikus**, más néven helyrajzi tényezők a domborzat tulajdonságaiból tevődnek össze. Ide tartoznak a tengerszint feletti magasság, a talaj lejtése, a függőleges tagoltság fokozatai stb. (Bihari 2008).

3.3.3. ANTROPOGÉN HATÁS ÉS NEHÉZFÉMEK A TALAJBAN

Az antropogén hatás jelentős befolyásoló tényező. Az ember kétféleképpen hat az élő világra: közvetve azáltal, hogy a környezet fizikai, kémiai és biológiai feltételeit megváltoztatja és közvetlenül, az élőlényekre gyakorolt hatásával (Godó 2011). A talajszennyezés természetes úton is végbemehet, de jelentősebb az antropogén hatás (Anda 2011). A talajban előforduló szennyezők lehetnek szerves és szervetlen kémiai elemek is. A különböző károsító anyagok hatása függ a talajban az adott vegyület kémiai tulajdonságaitól, oldhatóságától, koncentrációjától, felvehetőségétől és a hatóidőtől, valamint a talajban jelen lévő élő szervezetek állapotától (fitnesz, kor, fejlettség, stb.), alkalmazkodó képességétől és a káros hatást befolyásoló más anyagok jelenlététől, vagy esetleges hiányától is. A rövid idő alatt nagy mennyiségben felvett toxikus vegyületek akut megbetegedést, vagy pusztulást idéznek elő. A toxikus anyagok kis koncentrációja is lehet káros, ha a hatás tartós és rendszeres (dózis, toxicitás). A toxikus anyagoknak a természetes lebontással szembeni ellenálló képessége a perzisztencia. Minél perzisztensebb egy vegyület, annál nagyobb a veszélye annak, hogy a felhalmozódás után az élő szervezetekbe kerül (klórozott szénhidrogének, policiklikus aromás szénhidrogének, stb.) (Kocsis et al. 2018).

A különösen veszélyes és/vagy általánosan elterjedt toxikus anyagok:

1. Mikroszennyezők

-Szervetlen szennyező anyagok

- toxikus elemek, nehézfémek (As, Se, Pb, Cd, Ni, Hg, Cr, stb.)

-Szerves mikroszennyezők

•pesticidek

•egyéb szerves szennyezők

- policiklikus aromás szénhidrogének (PAH=Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)

- poliklórozott bifenilek (PCB) és egyéb származékaik

2. Makroszennyezők

Szerves (ásványolaj-és ásványolajtermékek),

Szervetlen (nitrogén műtrágyák) (Kátai 2011; http 4).

A nehézfémeket tekintjük a legveszélyesebb szennyezőknek, melyek adott küszöbérték felett, igen kis koncentrációban is károsak lehetnek. Áttanulmányozva a szakirodalmat megállapítható, hogy nincs egyetértés a nehézfémek definíciójában. Arra, hogy pontosan mely elemek tartoznak e csoportba, a szakirodalom számos eltérő meghatározást ad annak tükrében, hogy sűrűségüket (Flexner 1987; Láng 2002; Lozet és Mathieu 1991; Morris 1992; Kátai 2011;), atomtömegüket (Bennet 1986), vagy toxikusságukat (Bánfalvi 2011; Friedland 1989) veszik-e egyes szerzők figyelembe. A többség az 5 g/cm³-nél nagyobb sűrűségű fémeket tekinti annak. Nieboer és Richardson (1980) felhívja a figyelmet arra, hogy a fémionok élő szervezetekre gyakorolt toxicitása

függ az élő szervezet fajtájától, az elemek felvehetőségétől, a koncentrációviszonyoktól, az elemfelvétel kinetikájától és módjától, a hőmérséklettől, ionerősségtől, oldhatóságtól, pH és redox viszonyoktól (Horváth 2011). Az élőlények vonatkozásában a nehézfémeket besorolhatjuk az esszenciális (Co, Cr, Cu, Zn stb.) és a toxikus (Cd, Ni, Pb stb.) kategóriákba. Igaz, az esszenciális nehézfémek is lehetnek toxikusak, ha az optimálisnál nagyobb koncentrációban vannak jelen. Ezzel szemben, ha a kívánatosnál kisebb koncentrációban állnak rendelkezésre, akkor az az élő szervezetekben hiánytüneteket okoz. Ebben az esetben nem nehézfémek, hanem a „nyomelemek” hiányairól beszélünk.

Amint az előzőekben leírtakból látszik, már a nehézfémek kategorizálása sem egységes a szakirodalomban, a mikroszervezetekre gyakorolt hatásokról szóló eredmények pedig még szerteágazóbbak. A mikroorganizmusokra gyakorolt toxicitást ezért is volna célszerű megbízhatóan modellezni. Az erre vonatkozó lehetőségekről Giller et al. (2009) alapján adok átfogóbb képet.

Az egyes nehézfémek toxicitása specifikus, és a következő sorrendben csökken: Hg > Cr, Mo, Co, Cd, Cu > Ni, Pb, Zn (Hasan 2009). Ezekkel szemben az egyes mikroorganizmusok szenzitívek, toleránsak, vagy rezisztensek lehetnek. A tolerancia és rezisztencia egyáltalán nem könnyen elválasztható fogalmak. Kétségtelen persze, hogy a rezisztenciához a tűrőképesség fokozódásán keresztül vezet az út. Viszont a tűrőképesség nagyon is dózis-/koncentrációfüggő, vagyis létezik olyan mennyiség, amelyre az érzékeny népesség rész pusztulással reagál, míg a tűrőképes túléléssel. A mennyiség emelése azonban a tűrőképességet is leküzdí. A rezisztencia ennél többről szól: ilyenkor a kezelt mennyiség olyan mérvű növekedéséről van már szó, amely gyakorlati körülmények között elő sem fordul, vagyis méltán beszélünk ellenállóképességről (http 5). A pH-érték növekedésével a nehézfémek mobilizálódása csökken. A gyökérszónában élő mikroszervezetek által termelt savak csökkentik a pH-értéket és növelik a nehézfémek felvehetőségét, míg például a földigiliszták által termelt mész a járataik falán lúgos közeget hoz létre. Vagyis a nehézfémek hatása még egy területen belül is teljesen más lehet a térben, vagy különböző pH és talaj textúra esetén, hiszen ezek a tényezők erősen befolyásolják a fémek biohasznosulását (Szabó et al. 2009). Ebből következően a talaj összes fém koncentrációja csak gyenge mutatója annak a koncentrációnak, amelynek a talaj mikroorganizmusok valóban ki vannak téve. Van egy változó ugyanakkor, amely nagy arányban megmagyarázza a változatosságot a toxicitási küszöbértékekben a teljes fémkoncentrációk függvényében, természetes talaj pH értékek mellett. Ez pedig a kationcsere kapacitás. Az a mennyiségű kation, amelyet a talaj meg tud kötni, az a talaj kationcsere kapacitása, T-értéke (*Cation Exchange Capacity*, röviden CEC) mértékegysége a milligramm egyenérték per 100g (mgeé/100g) (http 6, Filep et al. 2010). A fém toxicitást lineárisan csökkenti a növekvő CEC (Smolders et al. 2009). Az értéke könnyen meghatározható (2. táblázat) és segítségével meg lehet mondani azt a fémkoncentrációt, ami biológiailag hozzáférhető és toxikus lehet egy adott talajban. Érdekes azonban megjegyezni, hogy a T-érték és a toxicitás szorossága növények és gerinctelenek esetében következetesebben mutatkozik meg, mint a mikrobáknál (Smolders et al. 2009).

2. táblázat: Kationcsere kapacitás (T-érték) különböző textúrájú talajoknál (http 6, Donahue 1977)

Talaj csoportok	T-érték (mgeé/100g)
Világos színű homok	3-5
Sötétebb színű homok	10-20
Világos színű vályog	10-20
Sötétebb színű vályog	15-25
Sötétebb agyagos vályog vagy agyag	30-40
Nagy szerves anyag tartalmú talajok	50-100

Célszerűbb volna ezért a rendszer egészét megérteni megfelelő szabályok felállításával, egyféle, a tendenciákat jellemző modellel. Ilyen modell lehet a *Terrestrial Biotic Ligand Model*, ami a vízi élőhelyekre kifejlesztett BLM szárazföldi megfelelője. A modell nagyon összetett, mert a talajban mind a szilárd fázisban, mind pedig a kialakuló oldatban meg kell tudni jósolni a paramétereket és a kölcsönhatásokat is a mikroorganizmusokkal (Thakali et al. 2006; Mertens et al. 2007). Ezen túlmenően pedig még azt is figyelembe kell venni, hogy a mikroorganizmusok a talajban biofilmekben, vagy mikroaggregátumokba zárva élnek (Almás et al. 2005). Almás et al. (2005) Zn -kel szennyezett talajból a talajrészecskékhez erősen kötődő, valamint szabadon és lazán kapcsolódó baktériumokat izoláltak, amelyeknek a nehézfém-toleranciáját vizsgálták. Az erősen kötődő baktériumokról azt találták, hogy kevésbé voltak toleránsak a fémekkel szemben, ami annak tulajdonítható, hogy korábban a biofilmek és mikropórusok megvédték őket a magas Zn kitétségtől. Az agyagásványok védő szerepe nem csak a nehézfémekkel szemben, de az egyéb környezeti stresszhatásoktól (pl. a kiszáradástól) is ismert jelenség. Nagyon kevés ismerettel rendelkezünk azonban arról, hogy ezek a mikroorganizmusokat közvetlenül védő tényezők (mint pl. az agyagásványok) pontosan hogyan változtathatják meg a szennyezőanyagok toxicitását.

Egy másik modellezési lehetőség volna a „*Species Sensitivity Distribution*” SSD megközelítés, azonban ezzel is komoly probléma van. Első sorban az, hogy gyakran nem tudjuk, mi volt az a mikrobiális válasz, amit mértünk egy adott vizsgálatban, vagy milyen mechanizmus volt a mért válasz mögött. Például a fémterhelés eredményezhet növekvő vagy akár csökkenő talajlégzést is.

Smolders et al. (2004); Oorts et al. (2006, 2007) vizsgálataik során meg tudták állapítani azokat a koncentrációkat, amelyek 50%-os csökkenést váltottak ki biológiai válaszként (EC50) szabadföldön, és a laboratóriumban is. Az, hogy mindkét kísérleti helyszínre vonatkoznak a megállapítások, nagy jelentőséggel bír, mert Renella et al. (2002) és Giller et al. (1998) is korábban azt hangsúlyozta, hogy a fémsókat használó rövid távú vizsgálatokból nem lehet következtetni a hosszú távú szabadföldi fém toxicitás hatásaira, legalábbis amennyiben a talaj mikrobiális biomassájáról van szó. Ennek ellenére mégis sok szerzőnél olvashatók ilyen megállapítások. A szakirodalom tanulmányozása során további észrevételeket tehetünk. A régebbi kísérletek összehasonlítása nem egyszerű, mivel általában csak az összes nehézfém koncentrációk ismertek, ezeket pedig különböző kivonószerekkel állapították meg. A vizsgálatokat rendszerint csak egy-két talajtípuson végezték, és nem alkalmaztak összehasonlítható, egységes technikákat, illetve számos esetben fontos talaj tulajdonságokat (mint pl. a talaj agyagtartalma, vagy kation-kicserélő kapacitása) nem ismerünk. Egy másik alapvető felvetés pedig, hogy az őshonos talajlakó mikrobák más megközelítést követelnek meg ahhoz képest, mint amit a legtöbb toxikológiai vizsgálat során folytatnak. Az általános kísérleti megközelítés az, hogy egy (viszonylag) szennyeztelen talajhoz adnak hozzá fémekeket laboratóriumban vagy szabadföldön. A vizsgált szervezetek (pl: növény vagy gerinctelenek, exogén mikroorganizmusok) ezután ki vannak téve a talajban nemcsak a toxicitásnak, amihez nincs idejük alkalmazkodni, de

az adott talajtípus sajátosságainak is. A natív talajban a mikrobák azonban már valószínűleg sikeresen adaptálódtak például ahhoz a fém koncentrációhoz, ami jelen van az adott talajban (McLaughlin és Smolders 2001).

A nehézfém terhelés mikrobiális biomassza mennyiségében és aktivitásában Brookes és McGrath (1984), Barajas-Aceves (2005) változást okoz, mert a nehézfém stressz által magasabb energiaigényűvé válik a baktériumok számára a szubsztrát hasznosítás (Chander és Joergensen 2001; Chander et al. 2002). Ding et al. (2016) tenyészedényes kísérletben kadmium és króm hatását értékelték, és azt találták, hogy bizonyos nehézfémek koncentrációi javíthatják is a mikrobiális közösségek szerkezetét és a szén hasznosulását. Abaye et al. (2005) pedig arra mutattak rá, hogy a mikrobiális biomassza csökkenés kapcsolatban van a közösség szerkezetének változásával is. A magas nehézfém koncentráció tehát egy szelekciós tényező, ami a nehézfém érzékeny és rezisztens mikroorganizmusok arányának megváltozását eredményezi. Mikroorganizmus populációknál azonban az is nehezíti a rezisztencia, vagy tolerancia megértését, hogy a kromozómáktól független plazmidok is örökítő információkkal rendelkeznek. A plazmidok elvesztése és transzfer útján való visszanyerése az a két folyamat, melynek egyensúlya a baktérium populációban egy alacsony százalékban, de fenntartja a plazmidokat (Wang 2013). Ha az egyensúlyt megzavarja a szelekciós nyomás, pl. nehézfém kitétség, a plazmidok hirtelen elterjednek a teljes populációban. Így az adott stresszel szemben rezisztenssé is válhatnak egyes törzsek, de az adott plazmidot a szelekciós nyomás enyhülése során el is veszthetik, bár ennek ellenére még mindig lehetnek toleráns egyedek a populációban. Ezért, ha sikerül egy-egy rezisztens fajt izolálni és azokat az ITS (Internal Transcribed Spacer) azonosítás alapján azonos fajhoz tartozónak sorolják, akkor sem biztos, hogy azonos lesz a rezisztenciájuk, vagy toleranciájuk. A mikrobák filogenetikai elemzése során gyakran a riboszomális DNS egy szakaszát az ún. ITS régió bázissorrendjét vizsgálják, mivel az ITS régió szekvenciaváltozása nagyon hasznos a közeli fajok megkülönböztetésében (Chun et al. 1999, Halder 2016).

Az eddig leírtak alapján is látszik, hogy a szakirodalmi általános kijelentéseket kritikusan kell szemlélni, hiszen a nagymértékű variabilitás miatt, amit a nehézfém jelenléte eredményez a talaj-növény-mikroba rendszerben, nagyon eltérő eredmények születhetnek, még két szinte azonos rendszerben is.

Mangán a talajban

A mangán (Mn) a legtöbb élőlény számára esszenciális elem. Növényekben a fotoszintézis során a résztvevő enzimek kofaktoraként vagy különböző anaerob baktériumok elektron akceptoraként is szerepelhet (Mayanna et al. 2012; Kalocsai és Schmidt 2011; Birkás 2006). A talajok átlagos mangántartalma 20-800 mgkg⁻¹ (Stefanovics et al. 1999). Egyes Mn-ban gazdag talajszintekben akár 3000 mgkg⁻¹ Mn is található. A talajokba elsősorban a szilikát ásványok bomlásából kerül és ott II, III és IV vegyértékű formákban, szilikátokban, karbonátokban és oxidokban fordul elő (Tóth et al. 2013, Polgári et al. 2012). Ezeknek egy része oldható (mangán-szulfát, mangán-klorid), másik része oldhatatlan (mangán-oxidok, mangán-karbonát), melyek gyakran Fe-oxidokkal együtt vannak jelen (Füleky 2009; Márton 2012). A Fe és a Cu gyenge, míg a Ca erős antagonistái, káliummal, pedig szinergista kapcsolatban van jelen a talajban (Füleky és Sárdi 2014, Kalocsai és Schmidt 2011). Valamennyi nehézfém közül azonban a Mn képezi a legkevésbé stabil komplexeket, ezért más kationok könnyen kiszorítják a vegyületeiből, így egyes szerves anyagok hatására a mangánnal oldhatatlan

és a növény által felvehetetlen komplexek képződnek (Márton 2012). A Mn a mezőgazdasági termelés hatására is hiányba kerülhet, Baranyai, et al. (1987) 20 év alatti csökkenésről számoltak be a homok-talajok „A” szintjében. A 4. ábra barnával színezve mutatja azokat a területeket hazánkban, ahol mangán hiány lehetséges.



4.ábra: Potenciálisan mangánhiányos területek Magyarországon (http 7)

A növények leginkább a mozgékony, két vegyértékű mangán-iont tudják felvenni, ez azonban a talaj mangántartalmának mindössze 0,1–1%-a (http 8). A különböző vegyértékű Mn-formák a talaj redoxpotenciáljának függvényében egymásba is átalakulhatnak. A talaj Mn ellátottságának megítélését a talaj kötöttsége (K_A) és a kémhatás (pH) függvényében a 3. táblázat mutatja be. Abban az esetben, ha 5,5-nél alacsonyabb a talaj pH értéke nagy redoxpotenciál mellett, akkor a kétértékű Mn forma mennyisége megnő, míg lúgosabb pH (8) esetén a folyamat ellentétes, vagyis kémiai Mn-oxidáció történik és a Mn adszorbeálódik a talaj részecskéken a magas pH következtében, mely folyamat tovább rontja a felvehetőségét (Millaleo et al. 2010). Különösen erősen kötik meg a mangánt a humuszsavak. Éppen ezért mangánhiány gyakorlatilag csak a nagy humusztartalmú láptalajokon vagy a nagyon meszes talajokon fordul elő (tehát túlmeszezés eredményeként). Utóbbiakban a mangán a karbonát ásványok felületén adszorbeálódik (Shionoya et al. 2006). Mindazonáltal a nagy mennyiségű szerves anyag negatív töltése a pozitív töltésű mangánnal komplexet képezhet, így csökkenti a felvehetőségét (Millaleo et al. 2010). Mn-hiány továbbá a nagyon nagy vastartalmú talajokon is kialakulhat, de ez Magyarországon nem jellemző. A mangán-toxicitás savanyú talajokban jelentkezhet, főleg az intenzív N- vagy K-műtrágyázás, illetve a redukáló hatású szerves trágyázás eredményeként. A mangán-oxidok befolyásolhatják más nehézfémek (pl. Co, Ni, Zn, Cd és Pb) talajbéli felhalmozódását is (Füleky 2009).

3. táblázat: A talaj EDTA-oldható (felvehető) Mn ellátottságának megítélése (Buzás 1983 nyomán)

Kötöttség (K_A)	Kielégítő Mn ellátottság (mgkg^{-1})		
	pH KCl		
	<6	6-8	>8
<37 homok	26-	7-	3-
37-50 vályog	52-	13-	4-
>50 agyag	118-	30-	7-

A mangán talajbéli átalakulási folyamataiban a talaj-növény rendszer mikrobiológiai tulajdonságai is közrejátszanak. A mikroorganizmusok lebontó tevékenységét igen sok esetben a Mn-hiány akadályozza, különösen az anaerob jellegű, mélyebb talajrétegekben. Az egyes mikrobacsoportok aktivitása a Mn-tartalomtól is függően eltérő lehet, ezáltal segíthetik vagy gátolhatják a Mn növényi hasznosulását.

3.5. FITOREMEDIÁCIÓ ÉS TALAJOLTÁS REMEDIÁCIÓS CÉLLAL

A mezőgazdasági célú felhasználások mellett egyre inkább alkalmazzák a mikrobiális oltóanyagokat a környezetvédelmi károk, így pl. a nehézfém-szennyezés kármentesítési gyakorlatában is (Vivas et al. 2006, Simon et al. 2006). Ezek az alkalmazások már a talajoltóanyagok felhasználásának újabb generációjához köthetők. A szennyezett talajok megtisztítása akkor válik szükségessé, ha a szennyeződés mértéke meghaladja a „C” beavatkozási határértéket. Kockázatelemzési vizsgálatot követően, ha szükséges kármentesítés, akkor a szennyezés csökkentésének, ill. megszüntetésének módszerei közül kiválaszthatják a szakemberek a biológiai eljárást és a fitoremediációt. A biológiai eljárás (*ex situ*) talajkitermeléssel jár, amikor a talajt prizmákba rakják, és baktériumkultúrával beoltva kezelik azt. Míg a fitoremediáció során, a nehézfémekkel szennyezett területeket olyan növényekkel telepítik be, melyek nagy mennyiségű fémeket képesek akkumulálni (Kátai 2011). Az aratás során ezt a nyomelemgazdag biomasszát távolítják el, majd ezt kezelve visszanyerik a gazdasági értékű fémeket. Az ilyen fitoremediációs módszerek költséghatékonyak, azonban időigényes eljárásnak minősülnek. Ezzel szemben a fitostabilizáció lényege a szennyező anyagok gyökér által kibocsátott exudátum segítségével történő stabilizálása, amely a növények számára nem hozzáférhető formába alakítja a nehézfémeket. A fitovolatilizációban a növény gyökere abszorbeál bizonyos fémeket, mint a Hg-t, Se-t, As-t, majd kevésbé toxikus és illékony gázokká alakítja, amelyek a légtérbe diffundálnak a növény gázcsereyilásain (Farkas 2014). Ilyen remediációs technika ismert pl. a talaj szelén szennyezése és a káposztaféle növények együttes alkalmazása esetén.

A kármentesítés folyamatát javíthatja a mikroorganizmusok kölcsönhatás rendszeréből több kapcsolat is, mint például a tápanyagfeltárás, a tápanyagtranszport elősegítése, vagy a tér és tápanyag kompetíció. Ez utóbbi kölcsönhatás rendszerben a fitoremediáció során a fémekre közvetlenül ható kelát-, csapadékképző, átalakító, és akkumuláló képességük is megnyilvánulhat a mikrobáknak.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

A talajoltóanyagok alkalmazhatóságának feltételeit kutatva ökológiai mezőgazdálkodási feltételek mellett a biológiailag effektív (bioeffektor) kereskedelmi forgalomban kapható oltóanyagokat vizsgáltuk az Európai Unió 7-es keretprogramja által támogatott BIOFEKTOR nemzetközi projekthez kapcsolódva. 2012-2017-ig tartott a projekt, melynek során 11 országból 20 kutatóhelyi partner bevonásával tenyészedényes és szabadföldi kísérletek biztosították a készítmények hatásértékelését a különböző geoklimatikus körülmények között, búza, kukorica vagy paradicsom kísérleti növényvel. (http 3). A talajoltóanyagok alkalmazása során azonban a mikrobiális populációk többszörösen ki vannak téve stressznek, hiszen a mikrobákra káros környezeti tényezők közül az antropogén hatás igen gyakran idéz elő nehézfém terheléssel együtt járó talajszennyezést. Ezért nehézfém stressz körülmények között vizsgáltunk lehetséges oltóanyagokat laboratóriumi körülmények között, majd szabadföldi kísérlet során. Liziméter csövekben a mikorrhiza gombával történő oltás hatékonyságát vizsgáltuk mangán stressz esetén 2010 és 2014 között.

4.1. KÍSÉRLETI HELYSZÍNEK BEMUTATÁSA

4.1.1. A BIOLÓGIAILAG EFFEKTÍV OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA

A biológiailag effektív oltóanyagok vizsgálata során 2014-ben a tenyészedényes kísérleteket a szabadföldi kísérletek előzetes vizsgálataihoz állítottuk be. A Szent István Egyetem Soroksári Tangazdaság Ökológiai Ágazatában (5. és 6. ábra) végeztük a szabadföldi kísérleteket és az onnan származó talajt használtuk a tenyészedényes kísérletekben.



4. ábra: Szent István Egyetem Soroksári Tangazdaság Ökológiai Ágazat (műholdas felvétel)
Földrajzi koordináták: N: 47° 23' 36.6" E: 19° 8' 49.5"



5. ábra: Szent István Egyetem, Soroksári Kísérleti Üzem, Ökológiai és Fenntartható Gazdálkodási Tanszék területe, kísérleti tér 2014

A területen a Duna hordalékából származó és többségében a szél által szállított humuszos homoktalaj található (Fekete et al. 1967). A kísérletek során felszíni talajmintákat gyűjtöttünk a 0-20 cm-es talajrétegből, a vonatkozó előírásoknak megfelelően. Az adott helyszínen több pontból, átlósan 3-3 részmintát vettünk, amiket ezt követően feliratozva zacskókba tettünk. A fizikai-kémiai vizsgálatokig a mintákat légszáraz állapotban, 4 mm-es lukbőségű szitán átrostálva tároltuk, míg a mikrobiológiai mérésekre félretett talajokat hűtőszekrényben 4 °C-on levegő átjárást is biztosítva tartottuk. A 4. táblázatban és a Melléklet 3-ban bemutatott adottságokkal bírt a kísérleti helyszín talaja. A talaj analízisét az összes projekt partner esetén egy kijelölt laboratórium (Universitát Hohenheim, Stuttgart) végezte. A felvehető foszfor mennyiségénél a lúgos kivonószerek közül a legismertebb és legelterjedtebb Olsen-féle (Olsen et al. 1954) mérés eredményét vettük figyelembe a projekt és nemzetközi ajánlások (Li 2013, Seker 2017, Sharma 2014), valamint Fülek (1976a, 1976b) munkái alapján. Amelyekben arra a következtetésre jutott, hogy az Olsen-féle kivonószer jól jellemzi a növény számára potenciálisan hozzáférhető foszfor mennyiségét a tenyészidőszakban. Mind a mellett, hogy a karbonátos és nem karbonátos talajokon sem oldotta a nehezen oldható Ca-foszfátokat tartalmazó frakciót, és a talajok CaCO_3 tartalma a DL, AL, CAL és Olsen kivonószerek közül ez utóbbit befolyásolja a legkevésbé (Sarkadi 1975; Fülek 1976a, 1976b). 2014-ben a 5. táblázatban szereplő csapadék eloszlás volt a területen tapasztalható.

4. táblázat: Soroksár talajanalízisének eredményei

Mért paraméter	Érték
pH (CaCl_2)	7,35
KA-Arany féle kötöttségi szám	24
CaCO_3 m/m %	2,42
K (ICP-OES) mgkg^{-1}	2385
K (CAL) mgkg^{-1}	170
P_2O_5 (CAL) mgkg^{-1}	430
P_2O_5 (Olsen) mgkg^{-1}	24,8

5. táblázat: Soroksár meteorológiai adatai a 2014 évből Forrás: http 9

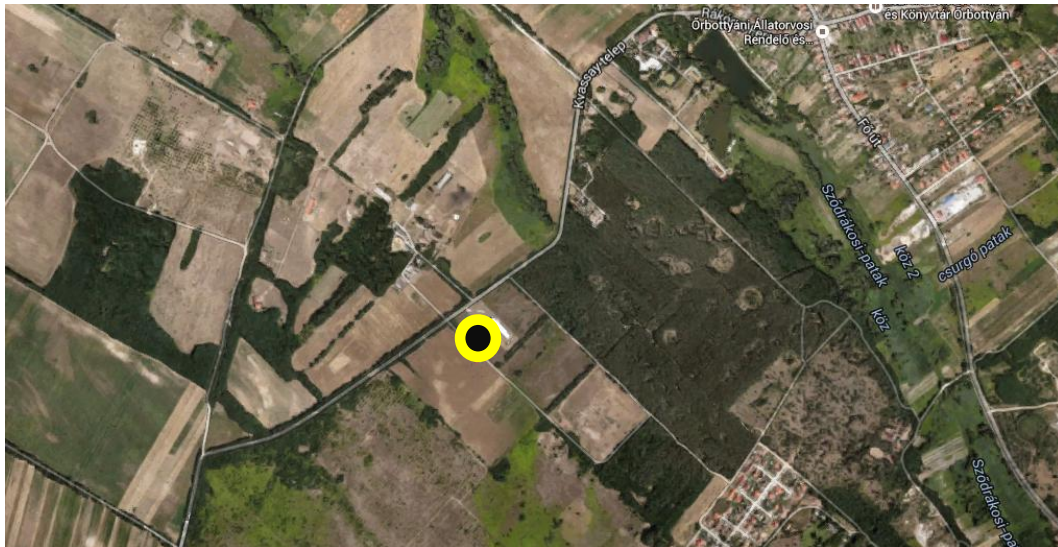
2014		Soroksár (Újtelep)
Éves középhőmérséklet (°C)		13,2
Éves csapadékösszeg (mm)		818,5
Havi csapadék mennyiség (mm)	május	130
	június	16
	július	114
	augusztus	139
	szeptember	119
Csapadék mennyiség a mikrobiológiai mintavételek előtti 20 napban összesen (mm)	1. .mintavétel (2014.07.07.)	15,8
	2. mintavétel (2014.09.16.)	143,5

4.1.2. NEHÉZFÉM STRESSZ VIZSGÁLATA

A szabadföldi liziméteres kísérletet megelőzően a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont Talajtani és Agrokémiai Intézetében (MTA ATK TAKI) laboratóriumi vizsgálatokat folytattunk. Ezt követően a szabadföldi mangán terhelési kísérlet helyszíne a MTA ATK TAKI Kísérleti telepe volt, Órbottyánban. A terület a Duna-Tisza közti homokhátság északi részén, a gödöllői dombvidék pereméhez közel helyezkedik el (7. és 8. ábra). A tájra a csernozjom jellegű és gyengén humuszos meszes homoktalajok, helyenként a meszes futóhomokok és a rozsdabarna erdőtalaj a jellemző. A szélereződés következtében a feltalaj gyakran nagyon heterogén, foltokban humusz, mész, és agyag, illetve iszapkészlettel rendelkezik. A kísérleti terület talaja zömmel gyengén humuszos 0,4-1 % humusz, jellemzően 1-7 % CaCO_3 tartalommal. A kémhatás enyhén lúgos. A talajok tápelemekben szegények (Kádár 1999). A talajtulajdonságokat az 6. táblázat mutatja be az MTA ATK TAKI és Sándor (2014) mérései alapján. A területen 12 darab egyenként 0,8 m átmérőjű, 0,5 m² felületű liziméter került leásásra (9. ábra).

6. táblázat: Az orbottyáni kísérleti telep talaj analízise

Mért paraméter	Érték
pH (H ₂ O)	7,92
pH (KCl)	7,75
KA-Arany féle kötöttségi szám	26
CaCO ₃ m/m %	6,13
K ₂ O (AL) mgkg ⁻¹	2385
P ₂ O ₅ (AL) mgkg ⁻¹	74



7. ábra: MTA ATK TAKI Kísérleti telep, Órbottyán (műhold felvétel) Földrajzi koordináták: N: 47°40'16.3" E: 19°15'04.3"



8. ábra: MTA ATK TAKI órbottyáni kísérleti tere a talajba helyezett liziméterekkel

A 7. táblázat a kísérlet ideje alatt 2010-2014 évig terjedő időszakra vonatkozóan a kísérleti telep saját meteorológiai állomásán rögzített adatokat mutatja be. Az éves csapadék adatok, a napi összegek alapján lettek számítva. A mintavételek előtti értékek pedig az 5 perces adatok napi átlaga alapján.

Az órbottyáni kísérleti telepen folytatott mérések alapján az 1975-2015 közötti időszakban a terület éves csapadék átlaga 529,7 mm ($\pm 118,7$) volt. Ennek ismeretében megállapítható, hogy a 2010-es év humid volt, míg a többi átlagosnak számított csapadék szempontjából.

7. táblázat: Az Őrbottyáni kísérleti telep meteorológiai adatai Sándor (2014) mérései alapján

Őrbottyán	T közép (°C)	Éves csapadék (mm)	Összes csapadék mennyiség a mintavétel előtti 20 napban (mm)
2010	10,3	741	-
2011	10,9	448,6	0
2012	10,8	515,2	41,6
2013	12	463	3,2
2014	12,2	524,6	0

4.2. KEZELÉSEK, KÍSÉRLETI NÖVÉNYEK

4.2.1. BIOLÓGIAILAG EFFEKTÍV OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA TENYÉSZEDÉNYBEN

Mind a tenyészedény kísérlethez, mind a szabadföldön a *Solanum lycopersicum* Mill. 'Mobil' paradicsomfajtát alkalmaztuk. A tenyészedény kísérletek a Szent István Egyetem Kertészettudományi Kar Talajtan és Vízgazdálkodás Tanszékének fényszobájában folytak és a következő biológiai effektív (bioeffektor) mikrobákat vizsgáltuk (8. táblázat).

8. táblázat: Az 1. éves tenyészedényes kísérlet során alkalmazott bioeffektorok (CFU: kitenyészhető telepképző egységek)

Jelölés	Mikroba	Faj	Törzs	Kereskedelmi név	Gyártó	Beoltási CFU (g ⁻¹)
BE 1	Gomba	<i>Trichoderma harzianum</i>	T-22	Trianum P	Koppert B.V., Hollandia	2,5×10 ⁴
BE 2	Gr(-) Baktérium	<i>Pseudomonas sp.</i>	DSMZ 13134	Proradix WG	Sourcon Padena GmbH Németország	2×10 ⁶
BE3	Gr(+) Baktérium	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	FZB 42	Rhizo Vital 42 Fl	ABITEP GmbH Németország	2×10 ⁶

A gyártók szerint elvárható hatások az alábbiak szerint foglalhatók össze.

BE1: Növeli a növények ellenállóságát a betegségekkel és a nem optimális tápanyag ellátottsági, öntözési és éghajlati viszonyok által okozott stresszel szemben. Növeli a tápanyagfelvételt, ami fokozhatja a gyökerek és felszín alatti növényi részek növekedését és fejlődését.

BE2: Szisztémikus rezisztenciát vált ki. Tér- és tápanyag-kompetícióra képes a patogénekkal szemben. Vaskelátképző és képes megerősíteni a gyökér sejtfalát.

BE3: Elősegíti az egészséges talajéletet. Kolonizálja a gyökér felszínét és serkenti a gyökér fejlődését. Csökkenti a növény érzékenységét a talajban lévő betegségekkel szemben, növeli a növények vitalitását, valamint a hozamot, és támogatja az egészséges növény növekedését.



9. ábra: Balról jobbra BE1: Trianum P *Trichoderma harzianum*, BE2: Proradix WG *Pseudomonas sp.* BE3: Rhizo Vital *Bacillus amyloliquefaciens*

A felhasznált oltóanyagokat a gyártók utasításai szerint alkalmaztuk a magvetéskor és az első bonítással egy időben. A kontroll edényekbe nem történt BE kijuttatás. Az EK 834/2007 és 889/2008 rendeletek alapján ökológiai gazdálkodásban is engedélyezett tápanyag-utánpótló szerekkel (Calcinit és Patentkali) minden egyes edénybe 100 mgkg^{-1} N-t és 166 mgkg^{-1} K-t juttattunk ki. Foszfor esetén voltak kiegészítést nem kapott cserepek és könnyen felvehető foszforral, tripla-szuperfoszfáttal (Fibl, Schweiz) (TSP) 50 mgkg^{-1} P mennyiségben, valamint nehezen felvehető Granuphos Rock-foszfáttal (Fibl, Schweiz) (RP) 50 mgkg^{-1} P trágyázott edények.

A növényeket 3 literes tenyészedényekben neveltük 2+10 hétig. A talajt harminckét hétig inkubáltuk, majd edényenként 3-3 db magot vetettünk, kikelés után csak 1-1 növényt hagytunk meg és 40%-os vízkapacitás értékig locsoltuk. Naponta 10 óra 18°C és 14 óra 24°C hőmérsékletet, valamint 14 órás 27000 LUX megvilágítást biztosítottunk. Minden kezelést 4-4 ismétlésben állítottunk be. Kéthetente bonítottuk a paradicsomokat. Ekkor hajtás hosszúságot mértünk, és felmértük a növények fejlettségét, a termések számát és tömegét, majd a kultúra felszámolásakor a hajtások és gyökerek tömegét.

Fehér mustármaggal (*Sinapis alba* L.) csírateszteket végeztünk MSZ 21978-8:1985 szabvány alapján. Ennek során 9 cm átmérőjű Petri csészékbe szűrőpapírra 30-30 db magot helyeztünk, majd 4-4 ml oltóanyagot adtunk a mintákhoz. Lefedve, sötét helyen, szobahőmérsékleten 72 órán át inkubáltuk a Petri csészéket.

4.2.2. BIOLÓGIAILAG EFFEKTÍV OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA SZABADFÖLDÖN

A tenyészedényes kísérlet is vizsgált oltóanyagokon túl Biorex 1 (BR1) és Biorex 2 (BR2) (9. táblázat) és TDM jelöléssel további (hazai, kereskedelmi) oltóanyagokat is vizsgáltunk, melyeket 20 ml fiziológiás sóoldatban elkeverve a gyártó utasítása szerinti dózisokban alkalmaztunk. A kombinációk kiválasztásánál a fő cél a műtrágyák és peszticidek kiváltása volt. Ezért a Biofactor projekt által biztosított BE1-3-hoz a hazai forgalmazók által rendelkezésünkre bocsátott termékekből, hasonló peszticid- és műtrágya-kiváltásra alkalmas kombinációkat hoztunk létre. Azért, hogy teszteljük a projektben alkalmazott többkomponensű készítményekhez hasonló növényt segítő

tulajdonságokkal bíró hazai törzsek eredményességét, a projekthez képest újabb kombinációkat (pl. N₂-kötők bevonásával) hozunk létre és hogy az egy- és többkomponensű oltó anyagok hatékonyságát vizsgáljuk.

9. táblázat: A szabadföldi kísérlet során használt Biorex készítmények összetétele és kitenyészhető sejtszáma

Jelölés	Mikroba	Faj	Gyártó	CFU (1 g termékben)
BR 1	Gr(+) Baktérium	<i>Bacillus subtilis</i> ; <i>Bacillus thuringiensis</i> ; <i>Bacillus megaterium</i>	CHEM-TRADE Kft. Magyarország	2×10^{10}
BR 2	Gr(+);Gr (-) Baktérium	<i>Azotobacter chroococcum</i> ; <i>Azospirillum lipoferum</i> ; <i>Pseudomonas putida</i>	CHEM-TRADE Kft. Magyarország	2×10^{10}
TDM	Gomba	<i>Trichoderma harzianum</i> (egy magyar törzs, tehát nem az eddig használt T-22 törzs)	Pannon Trade Kft. Magyarország	$2,5 \times 10^4$

A gyártók leírása szerint elvárható hatások a alábbiak.

BIOREX-1 talajoltóanyag összetétele:

Bacillus subtilis: Cellulóz bontást végez (poliszacharidok összetett szénhidrátjait bontja), amilázt termel, fitopatogén mikroorganizmumokat (pl. *Sclerotinia*) blokkolja

Bacillus thuringiensis: Talajkártévek elleni hatású (a kártevők pusztulását okozza, az által, hogy a középbelet elfolyósítja ahol a lúgos kémhatásnak köszönhetően elszaporodik és toxint termel)

Bacillus megaterium: Foszfátmobilizáló, növekedési anyagokat és B12 vitamint termel, a növényi maradványokat érett humusszá alakítja.

BIOREX-2 talajoltóanyag összetétele:

Azotobacter chroococcum: a levegő nitrogénjének megkötője, széles kémhatásban optimalizált, szárazságtűrő, hidegtűrő (3-4 °C-on már dolgozik).

Azospirillum lipoferum: a levegő nitrogénjének megkötője, laza (másodlagos) kölcsönhatásban van az egyszikűek gyökérszövetével, auxinok, gibberellinek, citokininek képzője.

Pseudomonas putida: intermediereket (köztes terméket) „gyárt” a mikrobáknak, a vasionokat felhasználja a patogén szervezetek elöl (kompetitív gátlás), peszticideket lebontó, ártalmatlanító hatású.

TDM talajoltóanyag: A BE-1-nél leírt hatások várhatók, mivel ugyancsak *Trichoderma* gomba törzset tartalmaz.

A kísérlet időtartama 17 hét + 9 hét palántanevelés volt 2014. március 17. és 2014. szeptember 16. között. Fűtetlen fólia sátorban 9 hétig előneveltük a palántákat. Miközben a 4. héten az első kezelésre is sor került. Parcellánként 45 palántát ültettünk 4 ismétlésben. A kiültetést megelőzően tápanyag-kiegészítésként az ökológiai gazdálkodásban a vonatkozó EK rendeletek alapján használható N szerves nitrogén táp (Viano 13% N) 29,4 g/növény (660 kg ha⁻¹) és K műtrágya (Patentkáli 25% K) 53,3 g/növény (1200 kg ha⁻¹) kiadását végeztük el. A szabadföldbe ültetés után két héttel a második oltóanyag kezelést is megkapták a paradicsomok. A beállított kezelések kombinációit és a parcellák elrendezését a 10. ábra mutatja be. Bonitálásra a vegetációs

idő alatt kéthetente összesen négy alkalommal került sor. A parcellákon belül a közlekedő utak melletti paradicsom növényekből nem vettünk mintát, mert azokat esetlegesen egyéb befolyásoló hatások is érhették.



10. ábra: A kísérleti parcellák elhelyezése BE 1: *Trichoderma harzianum*, BE 2: *Pseudomonas sp.*, BE3: *Bacillus amyloliquefaciens*, K: kontroll, BR1+BR2: BIOREX-1: *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus megaterium* + BIOREX-2 *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum*, *Pseudomonas putida*, BE2+BE3: *Pseudomonas sp.* + *Bacillus amyloliquefaciens*, BE3+TDM: *Bacillus amyloliquefaciens*+*Trichoderma harzianum* , BE3+BR2: *Bacillus amyloliquefaciens* + *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum*, *Pseudomonas putida*

4.2.3. OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA NEHÉZFÉM STRESSZ ESETÉN LABORATÓRIUMBAN

A nehézfémek hatásait különböző mikroorganizmusok bevonásával teszteltük laboratóriumi inkubációs kísérletekben. Vizsgáltuk azt, hogy vajon a hosszabb távon nehézfémek hatásainak kitett baktériumok toleránsabbak-e azokkal összehasonlítva, melyek nehézfémmel még nem találkoztak. Ennek tisztázására előzetesen *in vitro* sejtkultúrák és csíranövényes kísérleteket folytattunk (1; 2) (Matics et al. 2013 a,b,c), amelyek esetében kiegészítő vizsgálatokat, illetve összegző, értékelő munkát végeztem.

1.) A tenyészedényes tartamhatású kísérletben az örbottyáni kísérleti telepről származó talajt használtuk (6. táblázat, Melléklet 3). Négy éven keresztül Zn és Cr tartalmú kommunális és Cr-tartalmú ipari szennyvíziszap növekvő dózisait alkalmaztuk (10. táblázat) az edényekben. A szennyvíziszap-terheléseket az előzetes iszapanalízis eredményei alapján határoztuk meg. Kísérleti növényként zöldborsót (*Pisum sativum* L.) vetettünk. A kísérlet négy ismétlésben került beállításra.

A 2. és 4. évben minden egyes kezelésnél a borsónövényről leszedett aktív, hemoglobin színanyaggal rendelkező gümőkötő külső felszíni sterilizálást (3% hipoklorid oldat, többszöri steril vizes mosást) követően szuszpenziót, majd ebből hígítási sorozatot készítettünk. A hígítás egyes tagjaiból 100 µl mennyiségeket kongóvörös indikátorral festett élesztő-mannit agar (YMA) (Sigma-Aldrich) táptalaj felületére oszlattuk. Ezt követően 48 órás 28 °C-os inkubálás következett, majd a tipikus, *Rhizobium* telepeket tiszta tenyészet létrehozása érdekében tovább szélesztettük, és tiszta izolátumokat hoztunk létre. Mindegyik korábbi kezelésből 3-5 törzset választottunk ki a nehézfém-tolerancia vizsgálatokhoz. Az eredetileg a talajban található nehézfémek szulfát sóiból

(Zn-nél 45; 90; 180; 360 mg^l-1 dózissal, Cr-nál 37,5; 75; 150 és 300 mg^l-1 dózissal) folyékony nutrient táplevest készítettünk. A 5-5 ml táplevesbe oltottuk az előzetesen 28 °C-on 24 óra alatt felszaporított *Rhizobium* baktérium izolátumok 100-100 µl-es mennyiségeit. A nehézfémek megfelelő dózisait és a vizsgálandó törzsekkel is beoltott szuszpenziókat rázótermosztátban (150 rpm) 28 °C-on inkubáltuk. A szaporodás mértékét 14 órás tenyésztést követően hígítási sor segítségével a szilárd nutrient táptalajon leszámlázható és kitenyészthető telepképző egységek (CFU) meghatározásával ellenőriztük. A vizsgálatokat 3-3 ismétlésben végeztük mindegyik tesztelt *Rhizobium* törzsnél.

10. táblázat: A kommunális és a bórgyári szennyvíziszapok adagolása a 4 év során

Év	Dózisok	Kommunális (Gödöllő)		Bórgyári (Debrecen)
		Zn	Cr	Cr
1. évre a kiadott összes mennyiség (mgkg ⁻¹)	0	0	0	0
	1	16	4,5	13
	2	32	9	26
	3	64	18	52
	4	126	36	104
2. évre a kiadott összes mennyiség (mgkg ⁻¹)	0	0	0	0
	1	32	9	26
	2	64	18	52
	3	128	36	104
	4	252	72	208
3. évre a kiadott összes mennyiség (mgkg ⁻¹)	0	0	0	0
	1	48	13,5	39
	2	96	27	78
	3	192	54	156
	4	378	108	312
4. évre a kiadott összes mennyiség (mgkg ⁻¹)	0	0	0	0
	1	64	18	52
	2	128	36	104
	3	256	72	208
	4	504	144	416

2.) A réz (Cu), a mangán (Mn), a kobalt (Co) és a nikkell (Ni) szulfátos és kloridos, valamint a kadmium (Cd) kloridos és a cink (Zn) szulfátos sóit használtuk fel a kísérlet során. A szilárd halmazállapotú fémsókból növekvő koncentrációjú vizes oldatokat készítettünk, melyekkel az 5ml-es folyékony táptalajokat kezeltük. A *Rhizobium*ok tenyésztésére alkalmazott YEM (élesztőkivonat-mannit) táptalajt Vincent (1970) ajánlása alapján készítettük. A kísérletek során használt mindkét baktérium törzs a *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* baktérium fajhoz tartozott, ami a lóhere (*Trifolium repens* L.) pillangós növény mikroszimbiontája. Az egyik törzs (B baktérium) a németországi Braunschweighből (N: 52° 18' N: 10° 27') származott, ahol a talaj 10 éven át (1980-1990) nehézfémeket tartalmazó szennyvíziszap-kezeléseket kapott, így a törzs a hosszú hatóidő során adaptálódott a nehézfémekhez (11. táblázat). A másik törzs K (kontroll) baktérium hazai, nem szennyezett mezőgazdasági területről származott, és a nehézfém-hatásokkal szemben érzékenynek tekinthető. 24 órás tenyésztésből 100 µl-es mennyiséget oltottunk a 0, 1, 10, 100, 1000 és 10.000 mg^l-1 koncentrációjú 5 ml folyékony Yem táptalajt tartalmazó kémcsövekbe, majd 18 óráig inkubáltuk azokat 150 rpm-el rázótermosztátban 28 °C-on, három ismétlésben.

11. táblázat: Az B- és K-baktériumok izolálási területeinek talajvizsgálati eredményei (felvehető elem tartalom)

Terület	Elemtartalom (mgkg ⁻¹)			
	Zn	Cu	Ni	Cd
Braunschweig 300 m ³ /ha kommunális szennyvíz iszappal kezelt terület	237,9	46,4	245,0	16,8
Hazai mezőgazdasági terület (Gödöllő)	36,1	12,9	29,6	0,55

4.2.4. OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA NEHÉZFÉM STRESSZ ESETÉN SZABADFÖLDÖN

A szabadföldi kísérlet 2010-ben került beállításra. A 2016 nyarán, 99 év működés után végleg bezárt, Veszprém megyei Úrkúti Mn-bányából származó vas-mangán-tartalmú iszap elhelyezésével biztosítottuk a terület nehézfém terhelését. A leásott liziméterek felső 20 cm-es talajrétegébe dolgoztuk be a Mn-iszapot a 12. táblázat szerint és 4 éven keresztül mintáztuk a területet. Az iszap pH értéke 7-7,7 volt. Az iszapról az MTA ATK TAKI-ban készült kémiai analízis eredményeit a 13. táblázat mutatja be.

12. táblázat: Az elvégzett kezelések és a jelölések

Jelölés	Mn (mgkg ⁻¹)	AMF	fungicid
M0	0	+	
M00	0	+	+
M500	500	+	
M1000	1000	+	
M2500	2500	+	
M12500	12500	+	
0	0		
00	0		+
500	500		
1000	1000		
2500	2500		
12500	12500		

13. táblázat: Az úrkúti Mn-iszap kémiai analízisének adatai (%) száraz anyagra vonatkoztatva

A vegyelemzés eredményei %-ban	
Al ₂ O ₃	6-10
BaO	0,05-0,1
CaO	3-7
Fe ₂ O ₃	22-26
K ₂ O	2-3
MgO	2-4
MnO	2-3
MnO ₂	13-19
Na ₂ O	0,2-0,3
P ₂ O ₅	0,4-0,5
SiO ₂	29-33
TiO ₂	0,3-0,4
Jelentősebb nyomelemek	As,B,Cd,Co,Cr,Cu,V,Li,Ni, ,Pb,Zn,Sr,Sc,Be

Tesztnövényként energiafűvet (*Elymus elongatus* L – Szarvas-1) vetettünk a Mn-iszap kezelést követően, majd a lizimétereket a kelésig öntöztük. A növénynövekedést rendre feljegyeztük, és a vegetációs időszak végén biomassza tömeget mértünk.

4.3. VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

4.3.1. BIOLÓGIAILAG EFFEKTÍV OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA TENYÉSZEDÉNYBEN ÉS SZABADFÖLDÖN

A talaj mintavétel és tárolás

A kísérletek során felszíni talajmintákat gyűjtöttünk a soroksári kísérleti területről a felső 0-20 cm-es talajrétegből, a vonatkozó előírásoknak megfelelően. Az adott helyszínen több pontból, átlósan 3-3 részmintát vettünk, amiket ezt követően feliratozva zacskókba tettünk. A fizikai-kémiai vizsgálatokig a mintákat légszáraz állapotban, 4 mm-es lukbőségű szitán átrostálva tároltuk, míg a mikrobiológiai mérésekre félretett talajokat hűtőszekrényben 4 °C-on levegő átjárását is biztosítva tartottuk.

Cellulózteszt

A talaj biológiai aktivitásának közvetett vizsgálatával nem a mikroorganizmusok száma határozható meg, hanem a mikroszervezetek által előidézett változásokból lehet következtetni azok mennyiségére és aktivitására, ilyen a celluláz vizsgálat is (Godó 2011).

Az Unger-féle (Unger 1968) cellulóztesztet Szegi (1979) leírása alapján végeztük. Ritka szövésű szintetikus szövetből készült tasakokba 5g 105°C-on súlyállandóságig szárított gyapotvattát helyeztünk. A zacskókat 15 cm-es mélységben helyeztük el a kísérleti terület talajában, parcellánként 2 db-ot átlósan 3 hónapra. Felszedést követően eltávolítottuk a depolimerizálódott cellulózt és tesztzacskókat autoklávban 1%-os sósavoldatban 1 órát főztük. Többszöri öblítés, majd szárítás után a cellulózt lemért izzítótégelyben 105°C-on súlyállandóságig kiszárítottuk, exszikkátorban. Lehűtést, mérést, előégetést követően 2,5 órát izzítottuk 600°C-on elektromos kemencében. A visszamaradt hamut 5-10%-os (NH₄)₂CO₃-oldattal kezeltük a karbonátok regenerálására. Súlyállandóságig szárítva, exszikkátorban lehűtve a tégelyeket táramérlegesen ismét megmértük. A visszamaradt cellulóz súlyának számítása, a 105°C-on szárított és az izzítási súly különbsége alapján történt. Az elbontott cellulóz mennyiségének számítása pedig a bevitt és a visszamaradt cellulóz mennyisége alapján. Abszolút kontroll (standard) cellulózteszteket is alkalmaztunk, amik nem kerültek a talajba, de ugyanolyan kezeléseknél vetettük alá, mint az összes többi. A standard cellulóztesztek izzítási veszteségéből lehet tudni az eredeti, bevitt cellulóztartalmat.

Indukciós Plazmaemissziós Spektrometria ICP

A talajminták előkészítését az MSZ 21470-2:1981 szerint végeztük el. A talajminták és a növények elemtartalom-meghatározása ICP analízissel közreműködő laboratóriumban az MSZ 21470-50:2006 szerint történt az összes elem tartalom esetén királyvizes kioldást követően a felvehető elemtartalom esetén EDTA oldószeres feltárással.

Szervesanyag-tartalom mérése

A szervesanyag-tartalmat többféle módszerrel lehet meghatározni (Ball 1964; Aleksandrova és Naidenova 1976; Orlov és Grisina 1981; Nikitin 1999), és az egyes módszerek között korrekciós faktorok segítségével lehet összehasonlítható vizsgálatokat végezni. Mi a szerves - szervesetlen alkotók meghatározását izzítással végeztük, és a talaj szerves anyag tartalmát az izzítási maradékból számítottuk ki (14. táblázat). Az eljárás lényege, hogy izzítás során a szerves alkotók elégnének, a szervesetlenek pedig visszamaradnak. Minden parcellából 15 cm-es mélységből 6-6 furatnyi talajmintát vettünk. Ezeket homogenizáltuk és átszitáltuk, 105°C-on tömegállandóságig kiszárítottuk, majd 5-5 g-ot két órán keresztül 5-600°C-on izzítottunk. Az izzítás előtti és utáni tömeg különbségéből határoztuk meg a százalékos szerves anyag tartalmat Ballenegger és di Gléria (1962) szerint.

Szervesetlen anyag [%] = $[(m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)] * 100$

Szervesetlen anyag = szervesetlenanyag-tartalom %-ban

m_2 = izzítótégely + talajtömege izzítás után

m_1 = izzítótégely + talaj tömege az izzítás előtt

m_0 = az üres, kiizzított tégely tömege

Szerves anyag % = 100 - szervesetlen anyag %

14. táblázat: Talajok szerves anyag tartalmának csoportosítása izzítási veszteség alapján

Izzítási veszteség [%] (LOI)	Besorolás
2-6 %	Enyhén szerves
6-20 %	Szerves
>20 %	Nagyon szerves

A kapott tömegváltozás alapján határoztuk meg a minta hamutartalmát m/m%-ban a száraz és a nedves minta állapotra visszaszámoltuk, mind a tenyészedény, mind a szabadföldi kísérletben.

Mikrobiológiai vizsgálatok

Mikroorganizmusok legvalószínűbb élő sejtszám (MPN) meghatározása

Az MPN (Most Probable Number = legvalószínűbb élő sejtszám) egy határhígítási módszer, mely során matematikai-statisztikai alapon lehet következtetni a vizsgált mintában jelenlévő mikroorganizmusok számára (Libisch 2012). A módszer szelektív táptalajok alkalmazásával egyaránt használható az összes élő csíraszám és valamely kiválasztott specifikus mikrobacsoport vagy mikroorganizmus törzs számának meghatározására (Olsen 1996). Három párhuzamos hígítást végeztünk három ismétlésben mintánként folyékony nutrient tápoldatban. Ezt követően 72 órát inkubáltuk a beoltott MPN lemezeket. Festést követően meghatároztuk a kulcsszámot és az un. Hoskins-féle táblázat segítségével normál alakban megadtuk a vizsgálat eredményét.

Növények vizsgálata

A bonitálások során tenyészedényben minden növény fejlettségi állapotát értékeltük, és azt egy bonitálási skála felállításával számszerűsítettük. Szabadföldi körülmények között a kijelölt, parcellánkénti 6 növény átlag magasságát mértük, megszámláltuk az

összes virágot, bogyót, külön az egészséges valamint a beteg bogyókat, és megmértük a tömegüket. Növényi mintavételre a kísérlet bontásakor került sor. A mintavétel során a teljes növényt eltávolítottuk, és az eddig felsoroltakon kívül mértük még a növények alábbi paramétereit: nedves hajtástömeg, száraz hajtástömeg, nedves gyökértömeg, száraz gyökértömeg, Brix-fok. A kapott eredményekből az egyes növényekre, majd a kezelésekre vonatkoztatva átlagokat és szórásokat számoltunk.

Refrakció meghatározása (Brix-fok)

Az érett paradicsombogyó 4-7% szárazanyag-tartalma három részből tevődik össze. Vízen oldható, vízben oldhatatlan, valamint vízben és alkoholban is oldhatatlan szárazanyagból.

A vízzel oldható szárazanyag-tartalmát, aminek a 60-70 %-át redukáló cukrok alkotják Brix-fokban ($Brix^\circ$) adják meg. A Brix-fok tehát a paradicsom cukortartalmát fejezi ki egy közelítő értékkel. $1 Bx^\circ$ 1 g szacharózt jelent 100g oldatban. A paradicsom esetében 4-7 fok között alakul az érték, a magasabb értékek a kedvezőbbek. Az érett bogyó szárazanyag tartalmának 48%-át cukrok (glükóz, fruktóz, keményítő) biztosítják, melyek a paradicsom édességét garantálják. Ízének összhatását azonban a cukor- és a savtartalom egymáshoz viszonyított aránya adja. Az érett bogyó szárazanyag tartalmának 13%-át szerves savak (citromsav, almasav) teszik ki. A savtartalom szabja meg a pH értéket. A bogyó savtartalmától (0,4-0,9%) függően a pH érték 4,2-4,8 között változik (Brandt 2007).

A Brix-vizsgálat célja egy oldatban a vízzel oldható szárazanyag-tartalom -refrakciójának meghatározása, ehhez RHW-25ATC típusú kézi refraktométert használtunk MSZ EN 12143 szabványt figyelembe véve, és 20°C-on számított $Brix^\circ$ -ban adtuk meg az eredményeket.

A paradicsombogyó íze

A paradicsombogyók szárazanyag (refrakció)- és savtartalmának (R/S) egymáshoz viszonyított aránya jól jellemzi azok zamatosságát, ha mindkettő értéke magas, akkor harmonikus ízű a termés (Stevens et al. 1977). Minél kisebb az R/S érték, annál jellegtelenebb ízű a paradicsom. Mi a bogyók pH-ja és $Brix^\circ$ alapján számoltuk ki, és standard hibával számoltunk.

Paradicsombogyók színének meghatározása

A meghatározáshoz a tenyészedény-kísérletben minden növényről szedtünk bogyókat. Szabad földön a parcellákban véletlenszerűen kijelölt növényekről négy ismétlésben vettünk mintákat. Kalibrálást követően Sheen Micromatch Plus CIELab színmérővel a bogyó felületén három ponton a szín L^* , a^* és b^* értékeit mértük. Az L^* paraméter a fény kibocsátására nem képes testek világosságát jellemzi. Az a^* tényező a koordinátarendszer x-tengelyén a piros-zöld koordinátákat adja meg. A b^* paraméter az y-tengelyen a sárga-kék koordinátákat jelöli. A mért adatokkal számolva megadható a színárnyalat, illetve az érettség. Számoltunk színindexet (a^*/b^*), és $(a^*/b^*)^2$. Színtelítettséget (chroma): $(a^{*2}+b^{*2})^{0,5}$ és színárnyalatot (hue): $H^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$ ha $a^* > 0$, $H^\circ = 180 + \tan^{-1}(b^*/a^*)$, ha $a^* < 0$.

Likopintartalom

D'Souza et al. (1992) eredményei alapján Brandt (2007) a likopintartalom és az egyik színindex mutató (a^{*2}/b^{*2}) közötti kapcsolatot tovább vizsgálta. A D'Souza által igazolt ($R^2=0,83$) összefüggéshez képes lineáris regresszióval $R^2=0,903$, míg polinomiális

regresszióval $R^2=0,996$ szorosságot tudott igazolni. Az a^*/b^* színindex esetén pedig $R^2=0,988$ és $R^2=0,997$ -es szorosságokat mutatott ki. Ezért az a^*/b^* és a^{*2}/b^{*2} színindexből következtettünk a likopin mennyiségére.

Öko-toxicológiai teszt

Az öko-toxicológiai tesztet az MSZ 21976-17/1988 (http 10) (*Sinapis alba* növekedésgátlási teszt) szerint a Gruiz et al. (2001) által közölteknek megfelelően kiviteleztük.

4.3.2. OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA NEHÉZFÉM STRESSZ LABORATÓRIUMI TESZTELÉSÉNÉL

Talaj vizsgálatok

1.) Az átlagmintákból a Lakanen-Erviö (1971) módszerrel végzett kivonással zajlott (NH_4 -acetát + EDTA, pH 4,5, 1:10 talaj : kivonószer arány) a felvehető nehézfémek kioldása. Az összes nehézfém tartalom megállapítása pedig nedves roncsolással (HNO_3 + H_2O_2). A talajkivonatok elemanalízise ICP plazmaemissziós spektrometriával történt az MTA ATK Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézetében MSZ-08-1722/1-1989 szabvány alapján. A pH mérést az MSZ 08-0206/12 szabványnak megfelelően végeztük.

Mikrobiológiai vizsgálatok

Kitenyészhető csíraszám hígítási sor készítésével

Az 1.) jelű kísérlet esetén a kitenyészhető csíraszám-értékeket (Colony Forming Units, CFU) az MSZ 21470-77:1988 szabvány szerint határoztuk meg 1 g száraz talajra vonatkoztatva. A klasszikus mikrobiológiai módszer szerint 10-es alapú hígítási sort készítettünk steril fiziológiás sóoldatból minden egyes 1 g-nyi talajmintához. Granulált félkész szilárd nutrient és Rose-Bengal (Sigma-Aldrich) táptalajokat használtunk fel a szélesztéshez. A minták 28 °C-on történt, 2-7 napos inkubálása után a kinőtt kolóniákat leszámoltuk, és az adott hígításhoz átkonvertáltuk. Az alábbiak szerint: $\text{CFU/ml} = T \cdot 10^{(x+1)}$, ahol T a telepek száma, x pedig a hígítási sorban annak a kémcsőnek a sorszáma, amelyikről a petricsészébe kikentük a szuszpenziót.

A 2.) jelű kísérletnél folyékony nutrient táplevest alkalmaztunk, és inkubációt követően a baktériumok szaporodásának mértékét Unicam spektrofotométerrel ellenőriztük 560 nm hullámhosszon, a kiértékelés során az OD adatokat adtuk meg.

4.3.3. OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA NEHÉZFÉM STRESSZ ESETÉN SZABADFÖLDÖN

A vizsgálatok során a talaj mintavételezése, tárolása, ICP analízise, szerves anyag tartalom meghatározása, valamint az öko-toxicológiai tesztek a 4.3.1. fejezetben leírtakkal azonos módon történtek.

Mikrobiológiai vizsgálatok

Az 1. és 3. mintavétel során a nagyobb mangándózisoknak kitett területekről származó talajmintákból szuszpenziót készítettünk, és többszöri szélesztést, átoltást követően több mint 40 darab baktérium törzs tiszta tenyészetét nyertük ki. Melyeket aztán Mn tűrés szempontjából vizsgáltunk.

A Mn tolerancia teszteléséhez a Mn-nal nem kezelt és az 12500 mgkg⁻¹ Mn kezelések talajmintájának 1-1 grammját növekvő 1250, 2500, 5000, 7500, 10000 mg l⁻¹ Mn koncentrációjú, 9 ml-es folyékony nutrient táplevesben mértük. 37 °C-os rázó termosztátban (150 rpm) 1 napig inkubáltuk, majd MPN módszerrel csíraszámot becsültünk. Az MPN lemezek 10000 mg l⁻¹ folyékony nutrient táplevessel voltak feltöltve. A pozitív növekedést mutató zsebeiből 100-100 µl-t 10.000 mg l⁻¹ Mn tartalmú nutrient táplevesben tovább szaporítottunk 24 órát inkubálva 37 °C-on. Ezt követően nutrient táptalajra szélesztettük és szobahőmérsékleten 3-7 napig inkubáltuk. A tiszta tenyészeteket ismét 10000 mg l⁻¹ Mn tartalmú táplevesbe oltottuk és 1 napig rázótermosztátban inkubálva 37 °C-on 150 rpm-en ráztattuk. Ezt követően 0, 1250, 2500, 5000, 7500, 10000, 12500 mg l⁻¹ Mn koncentrációjú folyékony nutrient táplevesbe oltottuk a kontroll (0 mgkg⁻¹ Mn) és a legnagyobb dózisterhelésnek (12500 mgkg⁻¹) kitett liziméterből izolált törzseket és 37°C-on 150 rpm-en 1 napig inkubálva ráztattuk. MPN módszerrel csíraszámot becsültünk. Ezek közül a legsikeresebb törzsek DNS-ét izoláltuk, elvégeztük a 16S rRNS felszaporítását és a plazmid tisztítását követően, abba inszertálva együttműködő laboratóriumban küldtük azokat rendszertani helymeghatározás céljából. A szekvenálás eredményének ismeretében megismételtük a vizsgálatot a beazonosított törzsekkel és a biológiailag effektív oltóanyagok egyikével is, mint kontrollal. A vizsgálatokat 0, 500, 1000, 2500, 5000, 10000 és 12500 mg l⁻¹ Mn koncentrációjú folyékony táptalajokban végeztük el.

DNS izolálás

A sejteket a folyékony táptalajban felszaporodott tiszta tenyészetekből nyertük. A DNS-t fenol-kloroformos módszerrel vontuk ki.

Lépései, Hegyi et al. (2013) munkája alapján, az alábbiak voltak.

A baktériumsejtek mikrocentrifugálásával, ülepitésével nyert üledéket reszuszpendáltuk izotóniás etilén-diamin-tetraacetátot (EDTA) tartalmazó oldatban. A sejtek alkalikus lízise lúgos Na-dodecilszulfát (*Sodium Dodecyl Sulfate*, SDS) oldat segítségével történt, amely dezintegrálta a membránok lipidszerkezetét. Emellett ez a kezelés a fehérjéket és a DNS-t is denaturálja, és denaturált formában oldatban tartja.

Savanyú K-acetát oldat segítségével csapattuk ki a szolubilizált fehérjéket, membrántörmelégeket és a hozzájuk kapcsolódó genomiális DNS-t. A dodecilszulfát káliumsója is oldhatatlan, így az is a csapadékba kerül. A plazmid DNS ennél a lépésnél is az oldatban marad. Jegeléssel és hűtött centrifugálással ülepitettük a kicsapott komponenseket, és dolgoztunk tovább a plazmid DNS tartalmú felülúszóval.

A fehérjék nukleinsav-preparátumból történő eltávolításához olyan elegyet alkalmaztunk, mely 1:1 arányban tartalmazott fenolt és kloroformot és 24:1 arányban izoamilalkoholt, mert a fenol denaturálja a fehérjéket, a kloroform pedig kitűnően oldja a vízben kismértékben oldódó fenolt. Alapos összerázás után centrifugáltuk, majd a plazmid DNS-t tartalmazó vizes fázishoz etanolt adtunk, ami a plazmid DNS kicsapódását eredményezte. A plazmid DNS így centrifugálással ülepithetővé vált.

A plazmidot tartalmazó csapadékot 70%-os etanollal mostuk, centrifugáltuk a sók eltávolításának céljából, majd leöntöttük és leitattuk a mintákat, és vákuumban tovább szárítottuk 10 percen át. Ezután az Rn-áz emésztés következett. Mintánként 50 µl 1×TE és 1 µl RN-áz tartalmú mixbe, visszavettük a mintát, amit 30 percig 37 °C-os vízfürdőbe helyeztünk. Horizontális agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük a kivonás sikerességét 1×TBE puffer közegben (11. ábra). 1,8%-os agaróz gélen (200 ml 1×TBE puffer, 3,6 g agaróz) 30 percig 80 V-n futtattuk. A futtatott minták 5 µl DNS izolátumot és 0,5 µl MaestroSafe festéket tartalmaztak.



11. ábra: Teljes DNS extrakció

A 16S rRNS kódoló régiók felszaporítása

A baktériumok taxonómiai vizsgálatához, azonosítására a 16S rRNS kódoló gén bázis-sorrendjének meghatározása szekvencia analízissel az egyik legáltalánosabb genetikai vizsgálat (Petti et al. 2005 cited in: Atzél 2008).

A bakteriális eredetű 16S rRNS jellegét tekintve nagyon konzervatív, különböző fajok esetében is akár 95-96%-os homológiát mutathat. Tartalmaz azonban általában kilenc hipervariábilis régiót mely jelentős eltéréseket mutat különböző baktérium fajok között, ezáltal alkalmas faj szintű azonosításra (Van de Peer et al. 1996 cited in: Atzél 2008).

A kívánt DNS szakasz amplifikációjához az alábbi 20-20-bp hosszúságú primereket használtuk.

16SfD1 (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') és 16SrP2 (5'-ACG GCT ACC TTG TTA CGA CTT-3') (Weisburg et al. 1991).

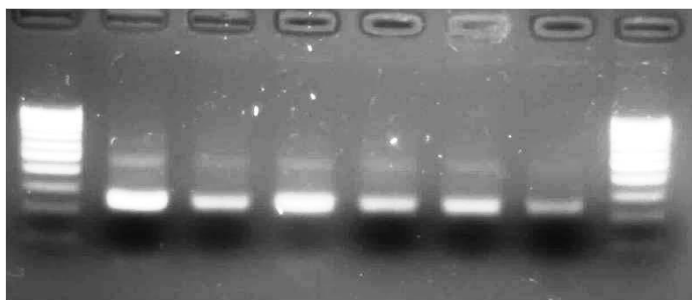
A PCR reakciót PCR csövekben végeztük. A mintánkénti 50 µl össztérfogatú PCR premix összetétele a következő volt: 5 µl Taq puffer, 3 µl MgCl₂, 1 µl dNTP, 2,5 µl Forward primer, 2,5 µl Reverz primer, 1,25 µl Taq polimeráz, 31,5 µl steril desztillált víz, 3 µl templát DNS. A PCR folyamat az 15. táblázatban feltüntetett hőprofil alapján zajlott.

15. táblázat. Az alkalmazott PCR eljárás hőprofilja

Kezdeti denaturáció	94 °C	5 perc	
Ciklusszám	35 db	94 °C	30 másodperc
		52-56 °C	30 másodperc
		72 °C	1,5 perc
	72 °C	7 perc	
Végző extenzió	4 °C	∞	

(Farkas 2014)

Horizontális agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük a PCR termékek kivonásának sikerességét 1×TBE puffer közegben. 1,8%-os agaróz gélen (200 ml 1×TBE puffer, 3,6 g agaróz) 30 percig 80 V-n futtattuk. A futtatott minták 5 µl DNS izolátumot és 0,5 µl MaestroSafe festéket tartalmaztak (12. ábra).



12. ábra: 16S rRNS szekvenálási képe balról jobbra haladva M0 (150 ng/μl; 100bp 1:2, 1:5); M1000 (150 ng/μl ;100bp 1:2, 1:5); 12500 (100ng/μl; 100bp 1:2, 1:5)

A PCR termék tisztításához RN-ázt tartalmazó 1× TE oldatba visszavettük a mintát és 30 percig 37 °C -os termosztátba helyeztük. Ezután lecentrifugáltuk, és 50 μl 20%-os PEG oldatot adtunk hozzá, majd rövid ideig vortexeltük és 1 óráig jégbe állítottuk. 4 °C-ra hűtött centrifugában 10 percig centrifugáltuk. A PEG eltávolítása után 1 ml 70%-os alkoholt adtunk hozzá, majd 10 percig asztali centrifugán 13.000 rpm-en fugáltuk, és a felülúszót leöntöttük, majd ezt az utolsó két munkafázist megismételtük, és 10 percig vákuum-centrifugáltuk. A tisztított PCR termékhez steril desztillált vizet mértünk. A kész csöveket szekvenálásra küldtük külső laboratóriumba (BIOMI Biotechnológiai Szolgáltató Kft. DNS-laboratórium).

Ott a szekvenálástól a primerek szekvenciáit levágták, és az így kapott parciális 16S rDNS szakaszokból a teljes 16S rRNS gént összeillesztették. A kapott szekvenciát két adatbázissal szemben is elillesztették.

1. Az NCBI (National Center for Biotechnology Information) adatbázisa
2. Az EzTaxon-e (Kim et al. 2012) baktérium típusörzék teljes 16S rRNS gén szekvenciáit tartalmazó adatbázisa (az adatbázis a polimorf nukleotidokat mellőzi).

Fluoreszcein-diacetát aktivitás mérése

Az FDA (fluoreszcein-diacetát) aktivitás mérése egy olyan egyszerűen kivitelezhető eljárás, amivel a talajok mikrobiológiai katabolikus aktivitása jellemezhető. Az alapja az eljárásnak az, hogy a szintelen fluoreszcein-diacetát (3'6'-diacetyl-fluoreszcein) indikátort az élő sejtek felveszik, mivel észterei apolárisak, és így képesek áthatolni a sejthártya kettős lipidrétegén. A sejt enzimeit hidrolizálják, mely folyamat során hidrofíll, színes fluoreszcein és ecetsav keletkezik (Schnürer és Rosswall 1985; Villányi et al. 2006, Bararunyeretse 2017). Ez a poláris karakterű termék bent reked a sejtben, elszíneződést produkál, amit spektrofotométerrel lehet kimutatni (Swisher és Carroll 1980), sztöchiometrikan detektálni. A módszer a már elpusztult sejteket nem méri, egyrészt azért, mert azok nem hidrolizálják el az FDA-t, mivel enzimeik kiáramlottak a sejtől, másrészt ha el is hidrolizálják, a szabad fluoreszcein kidiffundál a citoplazmából. Az összes mikrobiális katabolikus enzim aktivitás mérése (FDA analízis) az Adam és Duncan (2001), Villányi et al. (2006) módszere szerint történt. A mérés során az átlagmintákból 4x1 g talajt kimértünk (ebből 3x1 g talaj műanyag tárolóedénybe, 1 g-ot nedvességtartalom vizsgálathoz) (Schnürer és Rosswall 1982. a,b). Homogenizálást követően a talajmintákhoz (Adam és Duncan 2001) 15 ml foszfát-puffert (8,7g K₂HPO₄, 1,3g KH₂PO₄ 1000ml DV) és 0,2 ml FDA-t adtunk. Ezután a mintákat 2 órán át 30°C-on rázó inkubátorban ráztuk. Ezt követően Eppendorf csövekbe 800 μl acetonnal, ugyanennyi talaj-szuszpenziót összemértünk. Az Eppendorf csöveket centrifugába raktuk és 3 percig 2000-es fordulatszámra centrifugáltuk, hogy sejt- és törmelék-mentes felülúszóhoz jussunk. A kész minták abszorbanciáját (μgFl/g

talaj/2 óra) 490nm-en (Helios β) spektrofotométerrel megmértük. Az értékeket 1 g száraz talajra vonatkoztatva adtuk meg.

Mikorrhizáltság vizsgálata

A feldolgozásig a gyűjtéstől eltelt időben 50 %-os etil-alkoholba helyeztük a gyökérmintákat, melyeket Grace és Stribley (1991) alapján 10 %-os KOH-oldatban történő tisztítást követően megfestettünk anilin-kékkel, és Trouvelot et al. (1986) módszerével vizsgáltuk az endofita mikorrhiza gombák kolonizációját. A gyökérben a hifamennyiség alapján %-ban kifejezve adtuk meg a mikorrhiza gomba kolonizációját, amit F%-al jelöltünk, és hasonlóan az arbuszkulumok mennyisége alapján %-ban adható meg az ún. "arbuszkulum gazdagság". A két paraméter együttesen jelzi a mikorrhiza gomba működőképességét (Füzy 2007, Balestrini 2017).

Redoxpotenciál mérés

Az elektrokémiai folyamatok heterogén redoxireakciók, amelyekben az oxidáció és a redukció mindig a folyékony és a szilárd halmazállapotú anyag érintkezési, más szóval határfelületén megy végbe, térben egymástól elkülönítve, miközben elektromos energia szolgáltatása vagy felhasználása történik (Vance 1996). A redoxpotenciál egyensúlyi elektródpotenciál, amelyet egy inert fémelektrod (leggyakrabban platina, arany vagy ezüst) az említett redoxrendszerrel érintkezve felvesz. A redoxpotenciált egy referencia elektródhoz viszonyítva mérik, és millivoltban (mV) fejezik ki. Mi minden minta esetén Adwa AD 8000 típusú pH/ORP/EC/TDS/T laboratóriumi mérőműszerrel mértük három ismétlésben a redoxpotenciált.

4.4. STATISZTIKAI KIÉRTÉKELÉS

A műszeres analíziseknél kapott adatokat és a mikrobiológiai tulajdonságok vizsgálatát három-három ismétlésben végeztük el. Azok feldolgozását IBM SPSS 22 program csomaggal végeztük. A normalitás vizsgálatot Kolmogorov-Smirnov teszttel végeztük, melynek eredményeként az adathalmazok normális eloszlásúak voltak. Ahol ettől eltérően alakult a normalitás, azt jeleztük. A szóráshomogenitást Levene's teszttel ellenőriztük, ez alapján fogadtuk el a szóráshomogenitást, és végeztük a Post Hoc tesztet Tukey próbával az adott kezelésekre, és ahol jelentősége volt, ott az időre vonatkozóan is. Amennyiben Levene's teszt alapján a szóráshomogenitást nem fogadtuk el, akkor Games-Howell próbával végeztük a Post Hoc tesztet, és ezt külön megemlítjük. A statisztikailag is szignifikáns különbségeket SzD5%-os (LSD5%-os) szinten adtuk meg. Az eredmények statisztikai kiértékelése egytényezős varianciával (ANOVA) történt. A garfikonos ábrázolások esetén az ismétlések átlagát ábrázoltuk a szórás értékek jelölésével. Az egymástól szignifikánsan eltérő értékek különböző betűjelölést kaptak.

Az összefüggések megállapítását Pearson-féle korrelációs analízissel végeztük 1%-os ($p=0,01^{**}$) és 5%-os ($p=0,05^{*}$) szignifikancia szinten. A $0,7 < [r]$ értéket tekintve erős kapcsolatnak.

Az előzetes kísérletek esetén a 2. jelű kísérleteknél Microsoft Excel stat. programban a három ismétlés átlagait a dózisos függvényében ábrázoltuk, és vizsgáltuk regresszió analízissel, melynek jellemzői az egyes nehézfémek esetén $n=18$; $r^2=0,76$ volt. Valamint a két törzs közötti lineáris regresszió mértékét is megállapítottuk.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. BIOLÓGIAILAG EFFEKTÍV OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA TENYÉSZEDÉNYES KÍSÉRLETBEN

A BIOFEKTOR projekt egyik alapfelvetése volt, hogy a tápanyagfeltárás, tápanyagtranszport elősegítése révén a gyökérnövekedés stimulálásával bizonyos bakteriális oltóanyagok segítik a foszfor és más ásványi tápanyagok felvehetőségét. Az irodalmi részben bővebben is kifejtésre került ez a mechanizmus.

A másik alapfelvetés szerint pedig, egyes mikrobák a növény számára felvehetővé tesznek kevésbé oldódó ásványi P forrásokat (Ca-P, Rock-P). A kutatást megelőzően a projekt megalapozásakor a szakirodalom áttekintése során a projektet vezető partnerek is azt találták, hogy különböző filogenetikai csoportokból származó mikroorganizmusok képesek voltak oldani az oldhatatlan trikálcium-foszfátot (BE2 *Pseudomonas sp.* DSMZ13134, *Paenibacillus mucilaginosus*, *Burkholderia sp.*, *Rahnella aquatilis*, *Penicillium sp.*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas sp.*, *Streptomyces spp.*).

További elvárt hatás volt, hogy a BE oltóanyagok kombinációi hatékonyabbak legyenek, mint ha csak egykomponensű oltóanyaggal kezelnék a növényeket.

Ezeknek a feltevéseknek a vizsgálata volt a közreműködő kutatóhelyek (Melléklet 2) feladata, köztük nekünk is tenyészedényes és szabadföldi kísérletekben (http 3). A szabadföldi kísérleteket megelőzően tenyészedényekben vizsgáltuk az oltóanyagok hatásosságát.

5.1.1. BIOLÓGIAILAG EFFEKTÍV OLTÓANYAGOK HATÁSA A PARADICSOM VEGETATÍV ÉS GENERATÍV RÉSZEIRE TENYÉSZEDÉNYBEN

Az oltóanyagokkal először csíranövényteszteket végeztünk, ahol a kontrollhoz képest nem stimulálták jobban sem a magok kelését, sem pedig a növénykéek egyes részeinek fejlődését. Az eltérő kezelések hatására a talaj szervesanyag-tartalmában nem volt szignifikáns eltérés tapasztalható és az öko-toxikológiai tesztek során sem volt mérhető eltérés a különböző oltóanyagok alkalmazásában. A bonitálások során az alábbi mért paraméterekben szintén nem találtunk a kezelésekre vonatkozóan szignifikáns eltérést: nedves hajtástömeg, száraz hajtástömeg, nedves gyökértömeg, száraz gyökértömeg, átlagos nedves hajtástömeg, átlagos száraz hajtástömeg, átlagos nedves gyökértömeg, átlagos száraz gyökértömeg.

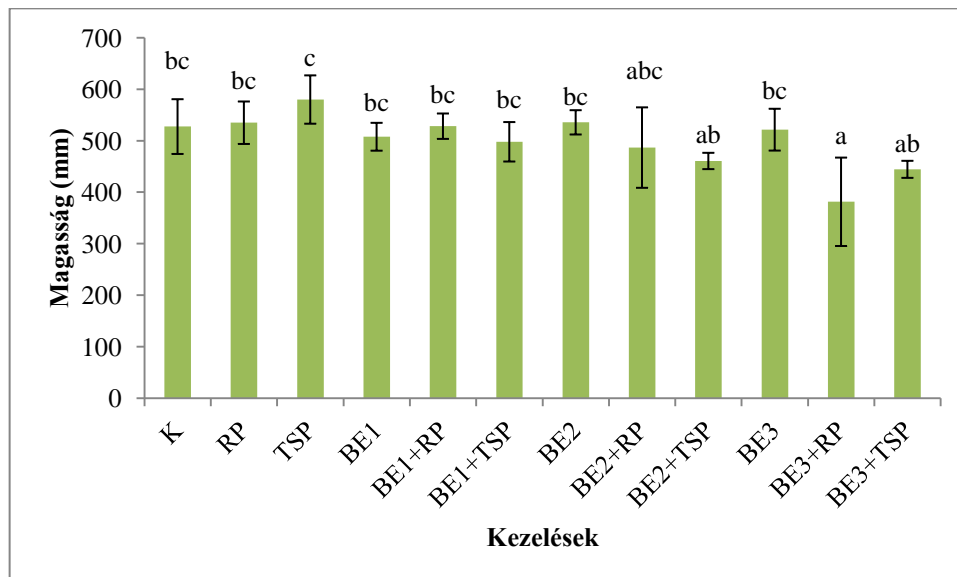
A foszfor nélkülözhetetlen a növények számára, de hatása nem annyira látványos, mint a nitrogéné, mert a vegetatív részek fejlődését nem fokozza olyan mértékben (13., 14. ábra), inkább a generatív részek fejlődésében van szerepe.

A foszforhiány azonban már kihat a vegetatív részek fejlődésére is, így a növények gyenge növekedése tapasztalható. A kísérlet során használt talaj pedig az Olsen-féle mérés alapján az élőlények számára felvehető foszforból keveset tartalmaz (4. táblázat, Melléklet 3), így előfordulhat hiány, ha nincs többlet foszfor bevitel, vagy olyan oltóanyag, ami segítheti a foszfor feltáródását. A kísérletek során N és K műtrágyázás történt minden esetben, tehát a többi két fő tápanyag megfelelő, és azonos mennyiségben állt a növénykultúra rendelkezésére, csak úgy mint a mikroelemek (Melléklet 3).

A kezelés hatását elemezve, azokra nézve szignifikáns eltérést találtunk a 16. táblázatban felsorolt esetekben a növények magasságában.

16. táblázat: A kezelések hatására a növények magasságában megjelenő szignifikáns eltérések az első bonitálás alkalmával BE 1: *Trichoderma harzianum*, BE 2: *Pseudomonas sp.*, BE3: *Bacillus amyloliquefaciens*, K: kontroll RP: nehezen felvehető foszforforma, rock foszfát, TSP: könnyen felvehető foszfor tripla-szuperfoszfát

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezelések között	
K	BE3+RP
RP	BE3+RP
TSP	BE3+RP BE3+TSP
BE1	BE3+RP
BE1+RP	BE3+RP
BE1+TSP	BE3+RP
BE2	BE3+RP
BE2+TSP	TSP
BE3	BE3+RP

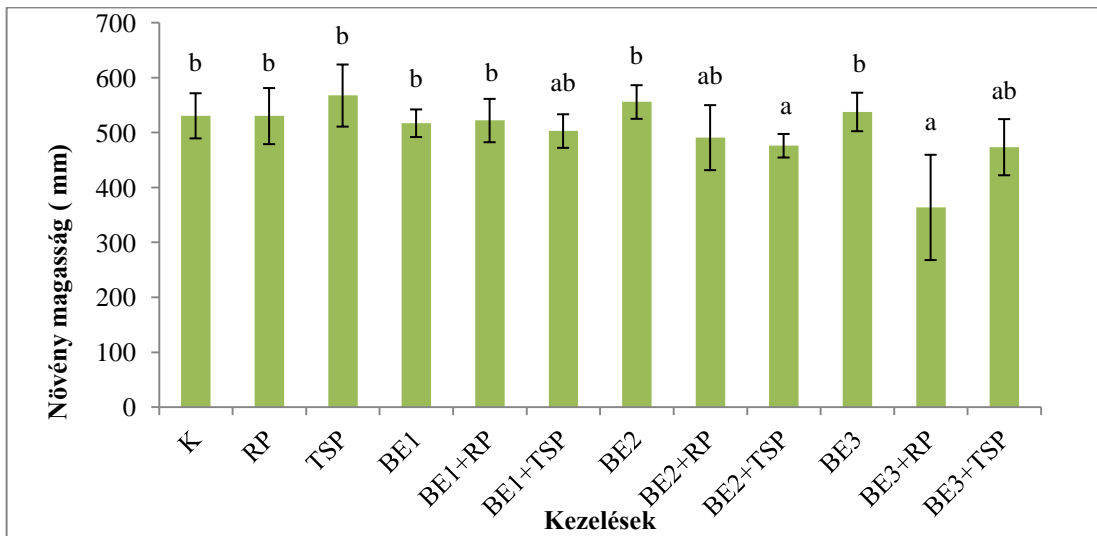


13. ábra: Paradicsom növények magassága különböző biofaktor kezelések hatására az első bonitálás eredményei alapján tenyészedény kísérletben ($p=0,200^*$; $p>0,05$ szóráshomogenitás vizsgálata $F(11;36)=1,431$; $p=0,202$)

Megállapítható, hogy a kontrolltól szignifikáns eltérést csak a BE3+RP kezelés mutatott. A növények magasságát a könnyen felvehető foszforforma (TSP) növelte a leginkább, mely kezelésnél szignifikánsan gyengébb teljesítményt a BE2+TSP, BE3+RP és a BE3+TSP mutatott. A többi kezelés között szignifikáns eltérés nem volt. A két bonitálás alkalmával mért növényi magasságok összesítésénél Games-Howell próbát végeztünk. A kezelések szignifikáns eltérést eredményeztek, a 17. táblázatban felsorolt és a 11. ábrán bemutatott esetekben.

17. táblázat: A bonitálások összesítése alapján a növényi magasságokban megmutatkozó szignifikáns eltérések

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezelések között	
RP	BE3+RP
TSP	BE3+RP
BE1	BE3+RP
BE1+RP	BE3+RP
BE2	BE2+TSP BE3+RP
BE2+TSP	TSP
BE3	BE2+TSP BE3+RP



14. ábra: Növénymagasság a két bonitálás összesítése alapján ($p=0,074$; $p>0,05$) $F(11;84)=3,234$; $p=0,001$)

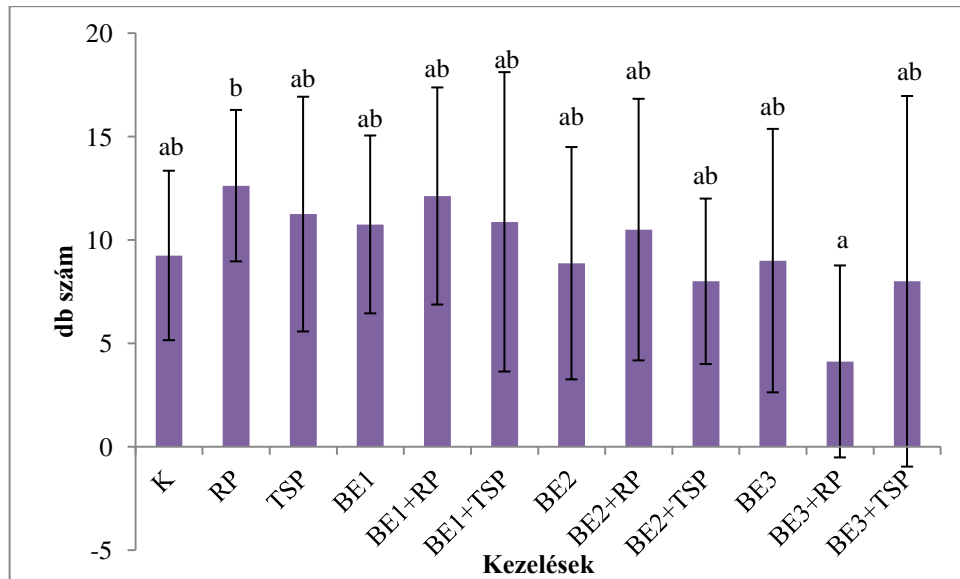
A bonitálások eredményinek összesítése is azt mutatta, hogy a BE3+RP és BE2+TSP kezelés esetén voltak a legalacsonyabbak a növények. A BE2 oltóanyag esetén még az is megfigyelhető, hogy a foszfor nélküli kezelés mutatta a legjobb eredményt, és a RP kiegészítés nem volt szignifikánsan rosszabb tőle, míg a TSP igen.

Ezért itt vélhetően nem a foszformobilizálásról van szó, hanem arról, hogy a PGPR baktérium *Pseudomonas* sp (BE2 oltóanyag) esetén az antibiotikum rezisztencia és közvetlen növekedés-serkentés játszhatott szerepet a jobb növényi teljesítmény elősegítésében.

Hajtás-és gyökértömeg esetén a kezelésekre nézve nem találtunk szignifikáns különbséget. Ami a gyökértömegnél azt jelzi, hogy az alkalmazott törzsek valóban nem tudták a talajból a foszfort mobilizálni a gazdanövény számára, így a gyökernövekedés stimulálása is elmaradt.

A foszfor jelentős tápeleme a paradicsomnak. A vegetáció kezdetén (40–50 napos korig) igényelnek többet ebből a tápanyagból a növények. A következő nagy foszforigényű fejlődési fázis pedig a virágzás és a terméskötés időszaka. A foszfor a generatív szervek megjelenését, a termésképzést serkenti, illetve kihat a termés mennyiségére és minőségére is. Az Olsen-féle mérési módszer alapján a foszfor (4. táblázat, Melléklet 3) valószínű, hogy gyengén oldódik, lassú a diffúziója a meszes talajban, így az élőlények nem jutnak hozzá. Az általunk hozzáadott oltóanyagok és

foszfor kiegészítések esetén a generatív szervek közül a virágszámban (15. ábra) szignifikáns eltérést tapasztaltunk az RP (12,6 db/növény) és BE3+RP (4,13 db/növény) kezelések hatása között. A bogyószámban és a bogyótömegben is BE3+RP kezelés mutatta a leggyengébb teljesítményt, azonban már nem volt szignifikáns a különbség.



15. ábra: A paradicsom növényeken kifejlődött összes virág száma a vegetációs időszak során különböző bioeffektor kezelésekre hatására tenyészedény kísérletben [normál eloszlás vizsgálata ($p=0,200^*$; $p>0,05$) szóráshomogenitás vizsgálata $F(11;84)=3,234$; $p=0,001$) Games-Howell]

Az, hogy a nehezen felvehető foszfor (RP) kezelés esetén az oltóanyag alkalmazása rontotta a virágszám alakulását, arra enged következtetni, hogy a BE3 bioeffektor nem képes a növényt hozzásegíteni a foszfor felvételéhez, illetve a növény növekedése során még konkurencia is lehet, mivel a növénynek nincs elég asszimilátuma arra, hogy a baktériumoknak is tudjon a gyökérexudátumokkal segíteni.

A mikrobiológiai vizsgálatok alapján a kitenyészhető összcsíraszám, gomba és spórák baktériumok log MPN száma nem mutatott érdemi eltérést egyik mintavétel során sem a kezelések között. A mintavételek során pedig azonos mértékben nőtt a számuk, ezért a sejtszám-csökkenés sem lehet az oltóanyag részleges sikertelenségének magyarázata. Korreláció vizsgálatot is végeztünk. Ennek során csak közepesen erős kapcsolatokat találtunk a változók között.

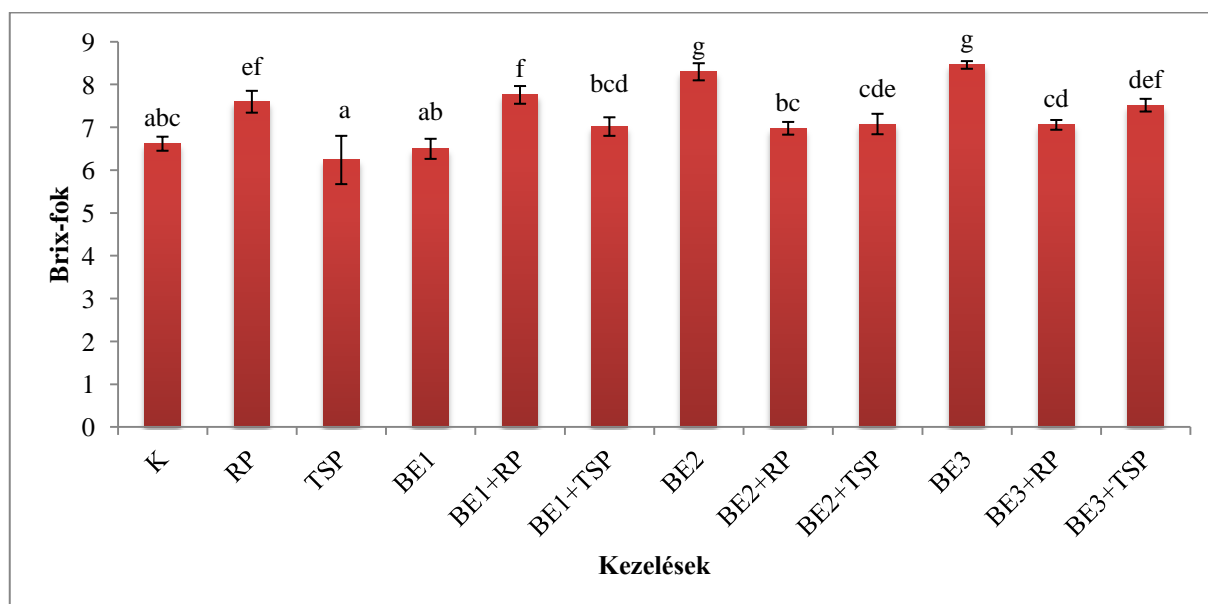
5.1.2. BIOLÓGIAILAG EFFEKTÍV OLTÓANYAGOK HATÁSA A PARADICSOMBOGYÓK BELTARTALMI TULAJDONSÁGÁIRA

A termés beltartalmi tulajdonságai közül mértük a Brix-fokot (16. ábra) és a pH-t (17. ábra). Ezekből a paradicsom édességét, a cukor- és a savtartalom arányából pedig a bogyók ízletességét is meg tudtuk határozni.

Szignifikáns eltéréseket találtunk a Brix^o eredmények között a 18. táblázatban, a pH értékre vonatkozóan pedig a 19. táblázatban bemutatott kezelések között.

18. táblázat: Brix° eredmények közötti szignifikáns eltérések

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezelések között			
K	RP	BE1+RP	BE1+TSP
	BE1+RP		BE2+RP
	BE3+RP		BE2+TSP
	BE3+TSP		BE3+RP
RP	BE1	BE1+TSP	K
TSP	BE2+RP	BE2	BE2
	BE1+RP		az összes kezelés, kivéve BE1+RP és BE3
BE1	BE1+RP	BE2+RP	BE3+TSP
	BE2	BE3	az összes kezelés, kivéve BE2
	BE3	BE3+RP	BE3+TSP
	BE3+TSP		



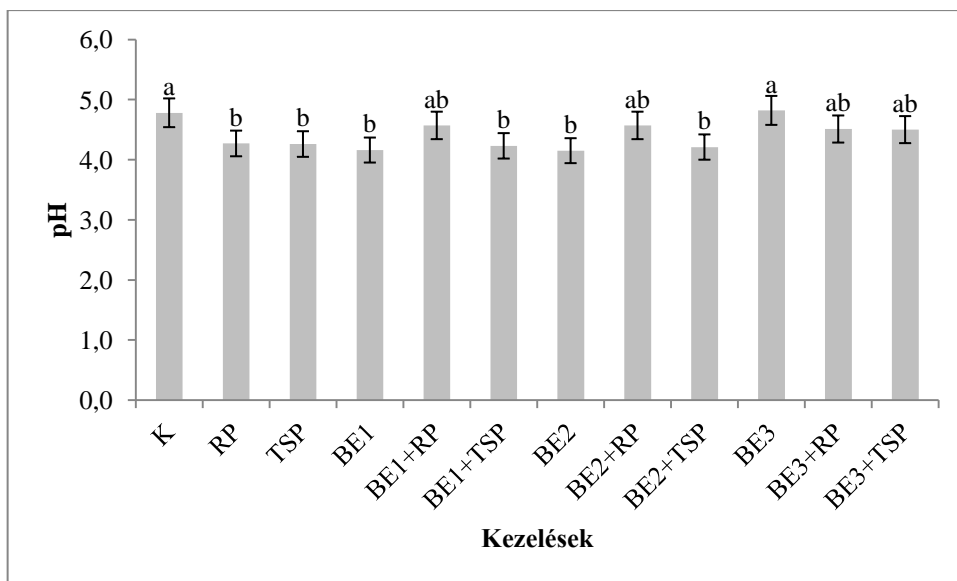
16. ábra: Kezelések hatása a bogyók Brix-fokára ($p=0,200^*$; $p>0,05$) a szórás-homogenitás alapján Games-Howell próbát végeztünk $F(11;48)=3,139$; $p=0,003$

A Brix-fok a kontrollhoz képest 7 kezelés esetén magasabb volt, ami nagyobb mennyiségű cukortartalmat jelent az ilyen kezelésben részesült növények bogyójában. Ezek a kezelések a BE2, BE3, BE1+RP, BE2+TSP, BE3+RP, BE3+TSP és az RP. A BE3 (8,46) kezelés eredményezte a legtöbb cukrot a termésben. Míg a kontroll növények termésében csak 6,62 Bx °-ot mértünk.

Általában a paradicsombogyók savtartalma 0,3-0,9 % között alakulhat, a pH-ja pedig 4,26-4,82 között (Helyes et al. 2002). Az általunk mért bogyókban a kontroll (4,78) és a BE3 (4,82) kezeléseknél volt a legmagasabb az érték, és a 19. táblázatban bemutatott esetekben ez a különbség még statisztikailag is igazolható volt (17. ábra).

19. táblázat: A kezelések közti eltérések a bogyókban mért kémhatásokban

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezelések között	
K	RP
	TSP
	BE1
	BE1+TSP
	BE2
	BE2+TSP
BE3	RP
	TSP
	BE1
	BE1+TSP
	BE2
	BE2+TSP

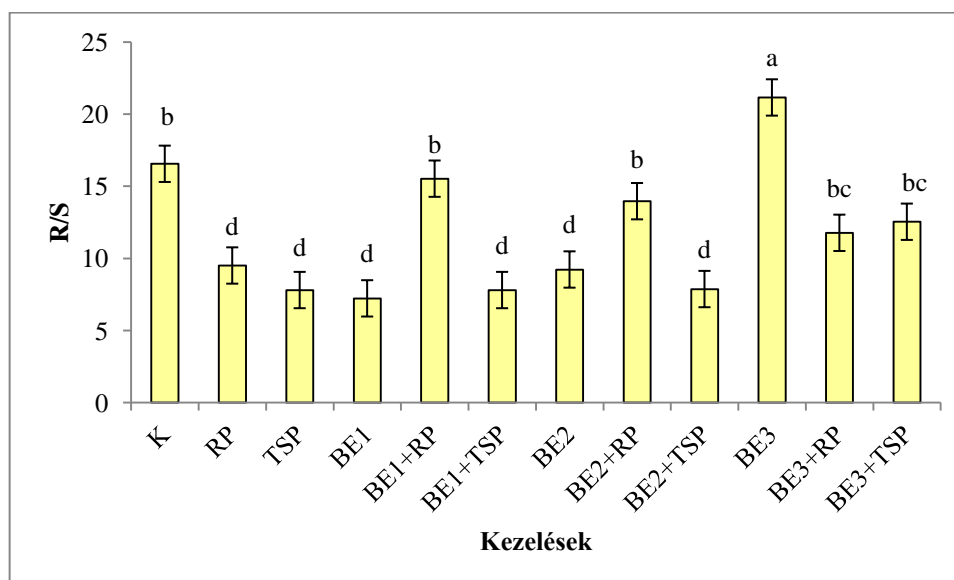


17. ábra: pH alakulása a kezelések hatására

A pH értékkel szoros negatív korrelációt mutat a savtartalom (Brandt 2007). A harmonikus íz kialakulásához magas cukortartalom mellett magas savtartalom is szükséges. A refrakció és a sav hányadosa (R/S) mutatja a zamatosítást (20. táblázat, 18. ábra). Mi a bogyók pH-ja és Brix°-ból számoltuk ki standard hibával. Optimális esetben a szárazanyag-sav hányados értéke 15 körül alakul (Farkas 1985; Helyes 1999). Ha magas a cukor- és alacsony a savtartalom, enyhe, jellegtelen ízű a paradicsom. Ha alacsony a cukor- és magas a savtartalom, a paradicsom fanyar ízűvé válik. Ha mind a két paraméter mennyisége alacsony szintet ér el, akkor a termés íztelen lesz (Brandt 2007).

20. táblázat: Az R/S hányadosok közötti szignifikáns különbségek

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezelések között			
K	RP	BE1	BE1+RP
	TSP		BE2+RP
	BE1		BE3+RP
	BE1+TSP		BE3+TSP
	BE2	BE1+RP	BE1+TSP
	BE2+TSP		BE2
	BE3+RP		BE2+TSP
	BE3+TSP		BE3+RP
RP	BE1+RP	BE2	BE3+TSP
	BE2+RP		BE2+RP
	BE3+TSP		BE3+RP
TSP	BE1+RP	BE2+TSP	BE3+TSP
	BE2+RP		BE3+RP
	BE3+RP		BE3+TSP
	BE3+TSP	BE3	az összes kezelés



18. ábra: A bogyók ízletessége a kezelések hatására

A teljesen érett bogyók refrakciójának és savtartalmának egymáshoz viszonyított aránya optimálisan 15 körül szokott alakulni, azonban Brandt (2007) hajtásban csak 9,4-10,1 közötti eredményeket tudott igazolni. Ezek alapján elmondható, akármelyik értéket tekintjük mérvadónak, a BE3 (21,2) kezelés messze a legízletesebb termést biztosította. Ha a 15 körüli értéket vesszük kívánatosnak, akkor megállapítható, hogy a BE3 után még további három kezelés jó élvezeti értékkel bíró termést eredményezett. A K (16,6), a BE1+RP (15,5) és a BE2+RP (14). Ha pedig a Brandt által igazolt 10 körüli értéket nézzük, akkor TSP (7,8), BE1(7,2), BE1+TSP(7,8) és BE2+TSP (7,9) voltak csak azok a kezelések, amik nem érték el az elvárható szintet és savanyúbb bogyót eredményeztek. A kontroll termésekhez képest tehát csak a BE3 kezelésben részesült paradicsomok bogyói lettek ízletesebbek. A BE1+RP és a BE2+RP oltóanyaggal oltott növényeket leszámítva az összes többi kezelésben részesült paradicsom kedvezőtlenebb ízzel bírt.

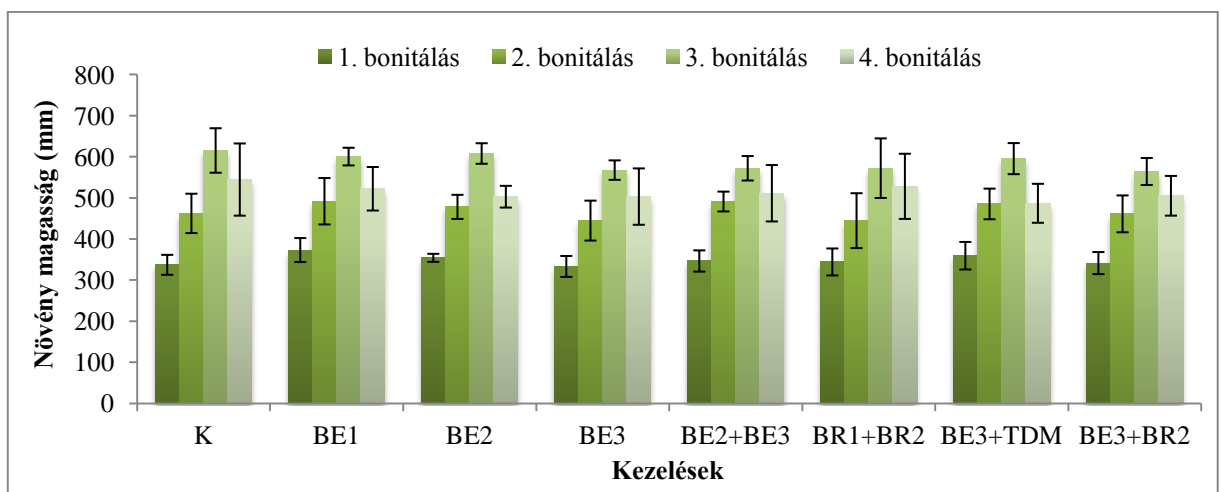
A bogyók színe és likopintartalma

A mért L^* , a^* , b^* értékekből az Anyag és módszer részben leírtak alapján különböző színindexeket számoltunk, és azokat statisztikailag kiértékeljük. Valamint a szín és likopintartalom közötti összefüggés felhasználásával következtettünk a bogyók likopintartalmára, ami egyik kezelés esetén sem mutatott szignifikáns eltérést, csakúgy, mint ahogyan színindexeik sem. A likopintartalomra nemcsak a táplálkozás élettani hatása miatt voltunk kíváncsiak, hanem azért is, mert képződését környezeti tényezők is befolyásolhatják.

5.2. BIOLÓGIAILAG EFFEKTÍV OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA SZABADFÖLDI KÍSÉRLETBEN

Szabadfieldi kísérleteink során az alábbiakat mértük az egyes bonitálások alkalmával és kísérlet bontásakor a növényeken:

Növénymagasság, virágszám, átlagos bogyószám, átlagos összes bogyótömeg, átlagos nedves gyökértömeg, átlagos száraz gyökértömeg, átlagos száraz hajtástömeg, összes egészséges és beteg bogyó szám és tömeg, átlagos egészséges, beteg bogyószám, bogyó pH, bogyószín és Brix-fok (Bx°). A talaj vizsgálatok során pedig a következőket: talaj pH (30min és 24 h), talajnedvesség, celluláz aktivitás, celluláz aktivitás szerves anyag tartalom és mikrobiológiai vizsgálatok (kitenyészhető összcsíraszám, gombák és spórás baktériumok). Továbbá az oltóanyagok tűrőképességét is teszteltük réz, cink és vas növekvő dózisaival. Az összes mért tulajdonság elemzése során megvizsgáltuk mintavételenként és összesítve is, hogy van-e eltérés. Az előzőekben felsorolt és vizsgált tulajdonságok esetén azonban nem eredményeztek különbséget az eltérő kezelések. A felsorolt mért paramétereken túl csak három esetben találtunk szignifikáns eltérést. A paradicsombogyók pH-jában, Brix $^\circ$ -ában és a talaj kitenyészhető összcsíraszámában. A többi esetben a 19. ábrán szemléltetett, négy bonitálás során mért növénymagasságokhoz hasonlóan alakultak az eredmények.



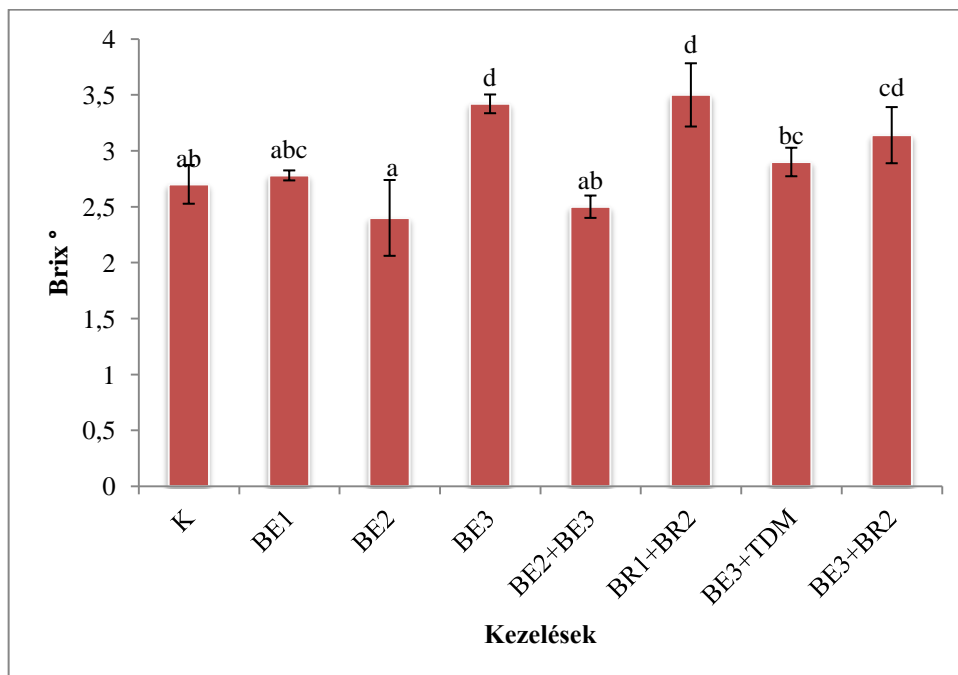
19. ábra: Növénymagasság alakulása a vegetációs időszakban szabadföldön BE 1: *Trichoderma harzianum*, BE 2: *Pseudomonas sp.*, BE3: *Bacillus amyloliquefaciens*, K: kontroll, BE 2 + BE3: *Pseudomonas sp.*, + *Bacillus amyloliquefaciens*, BR1+BR2: *Bacillus subtilis*; *Bacillus thuringiensis*; *Bacillus megaterium* + *Azotobacter chroococcum*; *Azospirillum lipoferum*; *Pseudomonas putida*, BE3+TDM: *Trichoderma harzianum* (nem a T-22 törzs), BE3+BR2: *Bacillus amyloliquefaciens*+ *Azotobacter chroococcum*; *Azospirillum lipoferum*; *Pseudomonas putida*

5.2.1. BIOLÓGIAILAG EFFEKTÍV OLTÓANYAGOK HATÁSA A PARADICSOMBOGYÓK BELTARTALMI TULAJDONSÁGAIRA

A bogyók beltartalmi értékei közül a Brix-fok esetén szignifikáns különbség mutatkozott a kezelésekre vonatkozóan (21. táblázat és 20. ábra).

21. táblázat: Brix-fok alakulása a kezelése hatására

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezelésekek között	
BE1	BE3
	BR1+BR2
BE2	BE3
	BE3+BR2
	BE3+TDM
	BR1+BR2
BE2+BE3	BE3
	BE3+BR2
	BR1+BR2
BE3	és az összes kezelés között, kivéve BE3+BR2
BE3+ BR2	K
BE3+TDM	BR1+BR2
BR1+BR2	K



20. ábra: A kezelésekek hatása a paradicsombogyók Brix-fokára ($p=0,200^*$; $p>0,05$) $F(7;32)=1,772$; $p=0,128$

Amint a 19. ábrán látható, a termés vízdoldható szárazanyag tartalma nagyon alacsony volt a szabadföldi kísérletben. A Brix-fok paradicsomnál átlagosan 4-7 Bx° között alakul (Brandt 2007), azonban a tartomány alsó határát is éppen csak megközelíti az

általunk mért legmagasabb Brix°-kal bíró BE3 (3,42). A legszerényebb teljesítményt nyújtó BE2 kezelés esetén pedig csak 2,4 Bx°-os teljesítmény olvasható le a grafikonról. Ez alapvetően a csapadék eloszlásnak tudható be nagy valószínűséggel. Az Anyag és módszer rész 5. táblázatban is látható, hogy a csapadék eloszlása nagyon kedvezőtlenül alakult a vegetációs időszakban. Éppen júniusban, ami július mellett a legkritikusabb hónap a paradicsom számára vízfelvétel tekintetében, alig volt csapadék. Később azonban, abban az időszakban, amikor a bogyók szárazanyag-tartalmát 10-20 %-kal csökkenti a többlet víz, akkor nagy mennyiségű volt a csapadék. Sok bogyó ezért meg is repedt, ami pedig az egészségi állapotuk romlását is előidézte. Ez lehet arra is a magyarázat, miért nem érvényesült egyik oltóanyag biopesticid tulajdonsága sem.

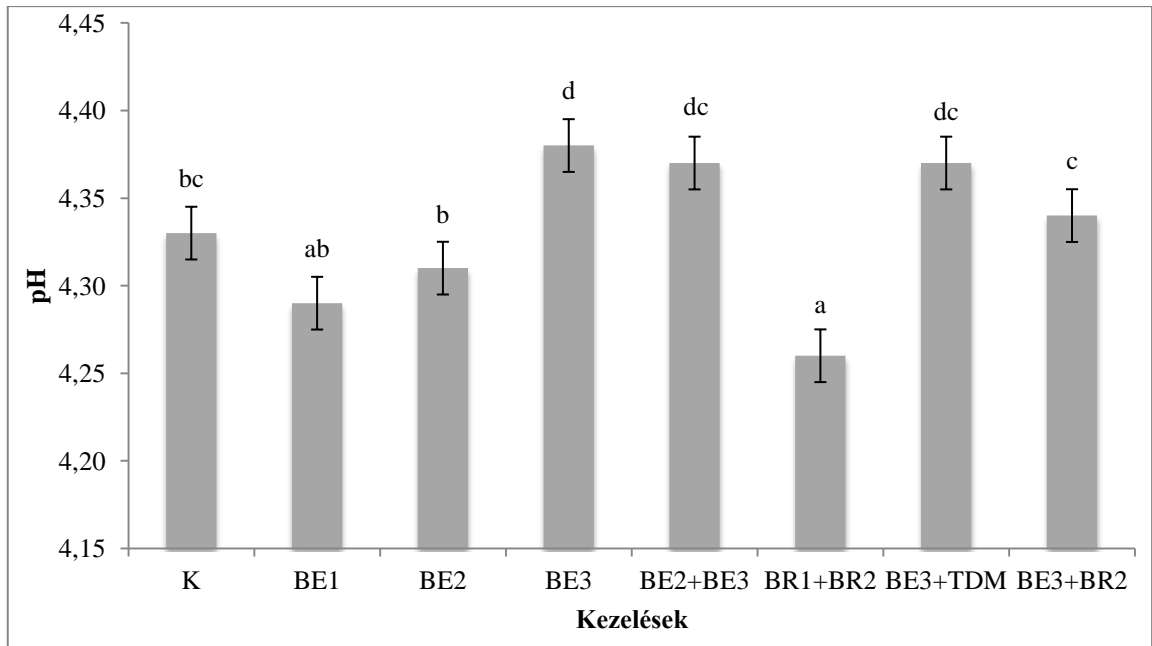
A többkomponensű oltóanyagok esetén megfigyelhető, hogy az egyik legjobb eredményt adó BR1+BR2 mellett a BE3+TDM és a BE3+ BR2 is a BE2-höz és a K-hoz viszonyítva szignifikánsan jobb eredményt mutatott.

A bogyó színére, pH értékére és savtartalmára az öntözés gyakorisága nem hat (Alvino et al. 1980), így azoknál az adatainknál nem is okozott eltérést. Azt is látnunk kell azonban, hogy a kontroll (2,7) kezelésnél mértük csaknem a legkevesebb Brix°-ot. Annál három kezelés is szignifikánsan jobb teljesítményt nyújtott (BE3=3,42; BE3+BR2=3,14; BR1+BR2=3,5), és egyetlen olyan sem volt, ami szignifikánsan rosszabbul teljesített volna.

22. táblázat: A bogyók kémhatásának alakulása a kezelések hatására

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezelések között			
K	BE1	BE2	BE3
	BE3		BE2+BE3
	BE2+BE3		BR1+BR2
	BR1+BR2		BE3+TDM
	BE3+TDM	BE3	BR1+BR2
BE1	BE3		BE3+BR2
	BE2+BE3	BE2+BE3	BR1+BR2
	BE3+TDM	BR1+BR2	BE3+TDM
	BE3+BR2		BE3+BR2

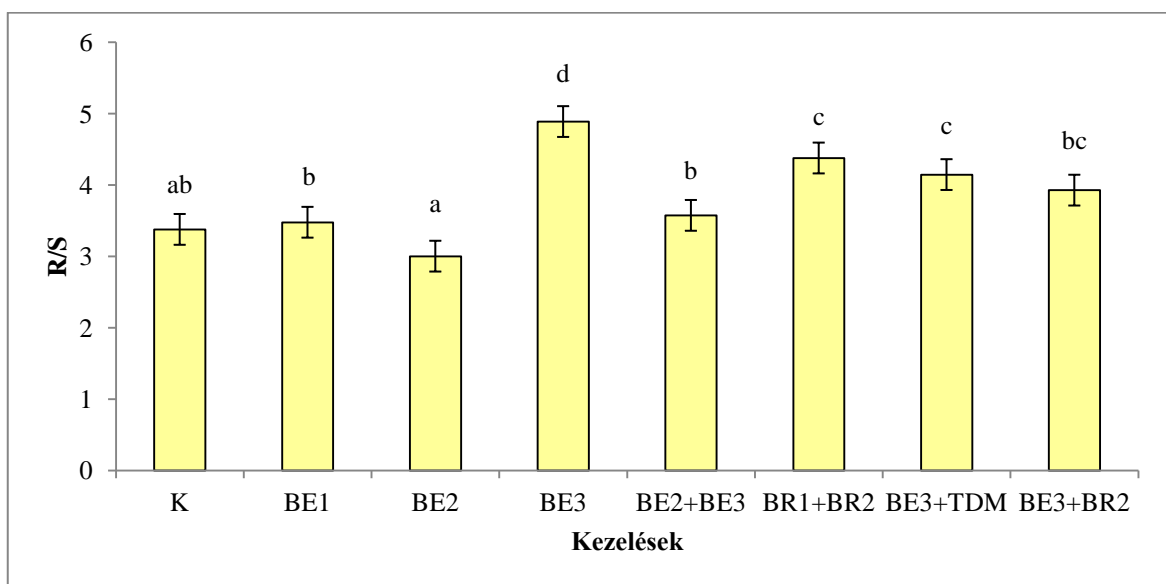
A pH alakulás a savtartalom alakulásával van összefüggésben, és a savanyúságot fokozza a csökkenő pH. A 22. táblázatban és a 21. ábrán látható, hogy a legalacsonyabb pH értéke a BR1+BR2 (4,26) kezelést kapott növények bogyóinak volt. Ez azzal együtt, hogy az egyik legtöbb cukrot tartalmazó (20. ábra) termés is, ehhez a kezeléshez kapcsolódott, ízletes bogyókat prognosztizált, amit az R/S arány alapján a 23. táblázatban és a 22. ábrán igazoltunk is. A többkomponensű oltóanyagok alkalmazása a bogyók zamatoságára az egykomponensűekhez képest az alábbiak szerint alakult. A BE1-hez képest a BR1+BR2, és a BE3+TDM kezelések szignifikánsan magasabb értéket mutattak, míg a BE2-höz képest pedig az összes többkomponensű (BE2+BE3, BR1+BR2, BE3+TDM és a BE3+BR2) kezelés. Ez a két utóbbi kezelés a kontrollhoz képest is zamatosabb bogyókat eredményezett, ami a BE3-at leszámítva az egykomponensűekről nem mondható el.



21. ábra: A paradicsombogyók pH alakulása a BE kezelések hatására (standard szórás)

23. táblázat: R/S mutató alakulása a kezelések hatására

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezelések között			
K	BE3	BE2	BE3
	BR1+BR2		BE2+BE3
	BE3+TDM		BR1+BR2
	BE3+BR2		BE3+TDM
BE1	BE2	BE3	BE2+BR2
	BE3		BE2+BE3
	BR1+BR2		BR1+BR2
	BE3+TDM		BE3+TDM
	BE2+BR2		BE3+BR2
			BR1+BR2
			BE3+TDM
			BE3+BR2
	BE2+BE3	BE2+BE3	BR1+BR2
			BE3+TDM
			BE3+BR2
			BE3+BR2

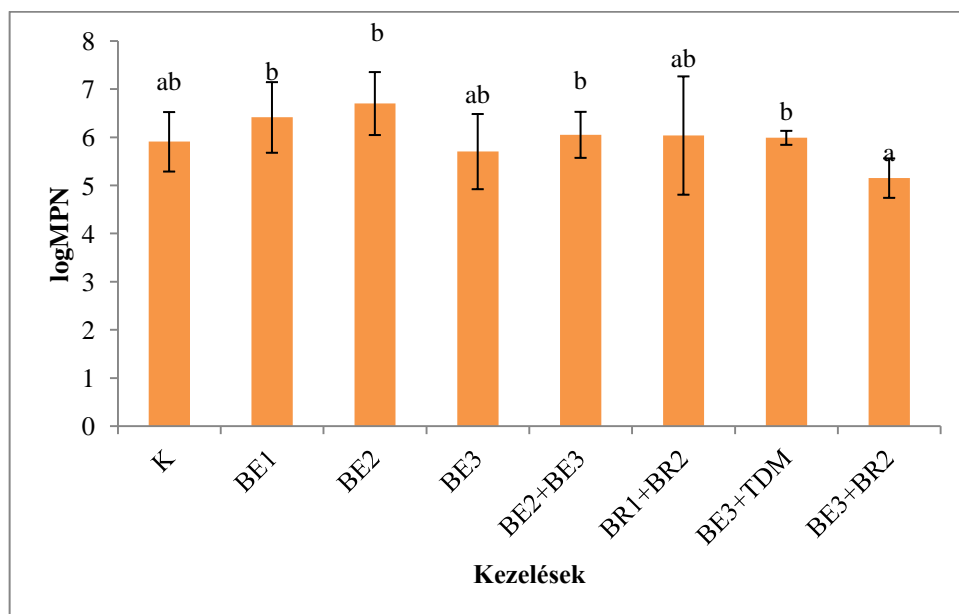


22. ábra: Zamatosság alakulás a bogyókban a kezelések hatására

A mikrobiológiai vizsgálatok esetén az időre nézve is szignifikáns különbségeket találtunk, az első mintavételhez képest a kísérlet felszámolásakor mindegyik mikrobacsoport MPN száma magasabb volt. A különböző oltóanyagokkal végzett kezelésekre szignifikáns különbséget tudunk kimutatni élőcsíraszámban a 24. táblázatban feltüntetett kezelések között. A kapott eredményeket pedig a 23. ábra szemlélteti.

24. táblázat: Az élőcsíraszám alakulása a kezelések hatására

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezelések között	
BE3+BR2	BE1
	BE2
	BE2+BE3
	BE3+TDM



23. ábra: A kezelések hatása az élőcsíraszámra a normál eloszlást Shapiro-Wilk teszttel végeztük ($p=0,076$; $p>0,05$) a szóráshomogenitás alapján Games-Howell próbát végeztünk $F(7;71)=3,677$; $p=0,002$

A 23. ábra alapján is látszik, hogy a BE3+BR2 kezelés nem csak a legkisebb élőcsíraszámot mutatta, de szignifikánsan is a legkevesebb logMPN számot adta négy kezeléssel a BE1, BE2, BE2+BE3 és a BE3+TDM-mel szemben.

Korreláció-analízis során csak közepesen erős kapcsolatokat találtunk, leszámítva az egyértelmű (és ezért erős kapcsolatot mutató) eseteket, mint például a száraz és nedves hajtástömeg közti korreláció.

5.3. BIOLÓGIAILAG EFFEKTÍV OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATI EREDMÉNYEINEK ÉRTÉKELÉSE

A 2014. évi kísérletek eredményei alapján tett megállapításaink a Biofactor-projekt alapvetéseivel (5.1.) nem álltak teljes mértékig összhangban. Az általunk beállított kísérletek kapcsán felvetődött a kutatócsoportunkban egyik lehetséges okként, hogy az

oltóanyagok hatástalanságának hátterében a talajtípus kérdése lehetett, hiszen a talaj típusát számos tanulmányban a rhizoszférában megtalálható mikrobiális közösségek összetételét befolyásoló tényezőként határozták meg (Bulgarelli et al. 2012, Lundberg et al. 2012, Schreiter 2014 a,b). A homoktalajok szerkezete pedig külön gond talajoltások esetén, a kellő mennyiségű, és méretű talajaggregátum hiánya miatt, melynek felszínét kolonizálni tudnák az odavitt talajoltóanyagok. Azonban a projektpartnereknél eltérő talajtípusokon folytak a kísérletek, és a projekt következtetésével összecsengtek az eredményeink, amelyek alapján elmondható, hogy alacsony könnyen felvehető foszfor ellátottsági szinten nem nyilvánult meg az oltóanyagok hatása (http 3, Lekfeldt 2016, Nkebiwe 2016). Ugyanezt találták 2014-ben Olaszországban, Svájcban, Dániában, Csehországban, Németországban, Írországban és Dániában búza tesztnövényvel, paradicsommal Magyarországon, valamint kukorica termesztésben Csehországban is talajtípustól függetlenül, annak ellenére, hogy az oltóanyagok jelenléte igazolt volt és a paradicsom növényi sejtek másodlagos metabolizmusában a BE (1-3) jelentős változást indukált a kontrollhoz képest. A tapasztalt biokémiai változás pedig a fitopatogénekre adott stresszválasz, vagy a tápanyagok szűkösségével kapcsolatos válaszreakció volt (Nebbio 2016).

A nehezen felvehető Rock foszfát kezelésnél 10 különböző kísérletben, eltérő talajtípusokon, 3 különböző növényvel és 9 P-mobilizáló oltóanyaggal végzett vizsgálatok eredményei alapján, megállapították a projektet kiértékelő partnerek az összesítés során, hogy egyik mikroba sem segítette a foszfor feltáródását (http 3, Lekfeldt et al. 2016, Thonar et al. 2017).

A vizsgálataink során mi is azt láttuk, hogy az oltóanyagok nem tudták effektíven segíteni a növények foszfor ellátását egyik kombináció esetén sem. A BE3+RP kombináció pedig még nehezítette is a növények fejlődését. A projekt eredményei azt sugallták, hogy a talaj-pufferkapacitása komoly akadályt jelenthet, ami korlátozza számos PGPM mikrobióta P-oldó potenciálját a rhizoférában. A résztvevő partnerek 2014. évi eredményeinek összesítése során (25. táblázat) az is látható volt, hogy magasabb foszfor ellátottsági szinten a BE oltások által indukált növény növekedésre gyakorolt hatás mértéke pontosan korrelált a gyökérre gyakorolt serkentő hatással.

25. táblázat: A Biofactor európai projekt 2014 évi összesített eredményei közül a BE1-3 oltóanyagokra vonatkozó rész (http 3)

Oltóanyag (Bio-effektor)	Tápanyag hozzáférhetőségét javította?	Szervetlen trágyák újrahasznosítása (Rock-foszfát)
BE1: Trianum P	-	-
BE2: Proradix wp	kukorica, paradicsom esetén közepes P- tartalmú talaj	kukorica esetén, RockP+NH ₄ kezelésnél
BE3: Rhizo Vital 42F1	kukorica, paradicsom esetén közepes P- tartalmú talaj	-

Továbbá megnövekedett a gyökér foszfor és minden egyéb mikro- és makro elem tartalma, ami arra utal, hogy a teljes gyökérnövekedés stimuláció, végső soron egy összetett mechanizmus a tápanyag felvétel javítására. A BE2 oltóanyag, pedig hozzájárult a növény foszfor felvételéhez TSP, szerves foszfor, nyersfoszfátokkal

kombinált vagy ammónium-szulfát kezelés esetén (http 3, Lekfeldt 2016, Li 2017, Nkebiwe 2017). Vizsgálataink és a projekt eredményei alapján elmondható, hogy a mikrobák tevékenysége esetén is érvényes lehet egyfajta Liebig-féle minimum-elv. Kísérleteink során a foszfor bizonyult a korlátozó tápanyagnak, így az alábbi javaslat fogalmazható meg: ahhoz, hogy a BE 1-3 oltóanyagok képesek legyenek a növényi növekedést elősegíteni az ajánlott felvehető P szint a talajban minimum $65-80 \text{ mgkg}^{-1}$ ($150-180 \text{ mgkg}^{-1} \text{ P}_2\text{O}_5$) kell legyen.

Az eredmények alapján további vizsgálatok folytak a projektben, és a 2017. évi záróbeszámoló összesítése alapján elmondható, hogy a talajok tápanyag ellátottsága a talajoltások sikerességét nagymértékben befolyásolja. A BE oltóanyagok hatékonysága ugyanis a N-ben gazdag szerves újrahasznosított trágyák, stabilizált ammónium vagy az ásványi anyag, illetve állati eredetű trágyák alkalmazása esetén nagyban megnőtt. Ezeknek bizonyítottan jótékony hatásuk volt a foszformobilizációra is, valamint a hideg és aszályos időjárás esetén is. Mivel az adaptív növényi stresszválaszok számos hasonlóságot mutattak molekuláris és fiziológiai szinten, feltételezhető, hogy jótékony hatások várhatóak más abiotikus és esetleg biotikus stressz-tényezők ellen is, azonban ezek további vizsgálatokat igényelnének. A BE oltóanyagoknak a Biofactor projekt során (2012-2017) legerősebb hatásait kertészeti üvegházhasználat során, paradicsom növényenél találták. Szántóföldi körülmények között a mikrobiális BE hatások kifejeződése kisebb és kevésbé reprodukálható volt, különösen a mikrobiális BE-növény kölcsönhatásokat befolyásolják a környezeti stressztényezők, és így az alkalmazásuk, szabadföldi körülmények között kevésbé gazdaságos (http 3.).

A mi vizsgálataink azonban egy nagyon értékes tulajdonságban igazolták a BE oltóanyagok sikerességét szabadföldön, alacsony könnyen felvehető foszfor ellátottsági szint mellett és kedvezőtlen csapadékeloszlás esetén is. Méghozzá a beltartalmi értékek közül az oltóanyagok képesek voltak javítani a bogyók Brix-fokát (Dudás et al. 2017a, Dudás et al. 2017b). Ezzel a jobb ízhatáshoz képesek hozzájárulni, és ez a tulajdonság nagymértékben teszi élvezetessé a termés fogyasztását, ami egy kertészeti növény esetén fontos szempont.

A célkitűzésben feltett első kérdésünk arról szólt, hogy a vizsgált oltóanyagok a növény-mikroba közti kölcsönhatás rendszeren keresztül képesek-e javítani a növény valamelyik tulajdonságát?

A fent leírt vizsgálataink alapján, és figyelembevételével a Biofactor projekt 2012-2017 közötti eredményeit is, azt a választ lehet adni, hogy megfelelő tápanyagellátottsági szint esetén, kontrollált környezeti tényezők mellett (kertészeti üvegházi alkalmazás), megfelelő partner növény-mikroba kapcsolat kiválasztásával tudnak igazán hatékonyak lenni a talajoltóanyagok. Azonban amint sikerült bizonyítanunk, még abban az esetben is, ha ezek a feltételek nem mind adottak, képesek lehetnek az oltóanyagok pozitív hatást kifejteni. A mi esetünkben a BE3, BE3+BR2 és BR1+BR2 oltóanyagokról sikerült bizonyítanunk, hogy szabadföldi körülmények és kedvezőtlen abiotikus környezeti tényezők ellenére is javította a paradicsombogyók egy beltartalmi tulajdonságát.

Az oltóanyagok kombinációinak hatékonyságát az egykomponensű oltóanyagokhoz képest tenyészedényes és szabadföldi körülmények között vizsgáltuk. A paradicsombogyók Brix-fokának növelésében tenyészedényben a BE1+RP és a BE3+TSP, szabadföldön pedig a BR1+BR2 és a BE3+BR2 oltóanyagok nagyobb hatékonyságát igazoltuk, egyes egykomponensű oltóanyagokhoz képest.

A zamatosság megállapítása során szabadföldi termesztésben a BR1+BR2 és a BE3+TDM oltóanyagról bizonyítottuk be, hogy hatékonyabbak a BE1 és BE2 egykomponensű oltóanyagokhoz képest.

A projekt partnerek eredményei alapján is az látszott, hogy a BE-kombinációk közötti szinergizmusok kihasználása hatékonyabb volt, mint az egyes BE-termékek alkalmazása. A kombinációkkal a szinergikus hatásokat is ki lehet használni, és a stressz-rezisztens BE törzsek bevezetésével, valamint megfelelő műtrágyákkal, például cinkkel, mangánnal és stabilizált ammóniummal kombinálva, amely növeli a BE stresszvédő és tápanyagtranszport hatásait, még hatékonyabbá lehetne tenni a talajoltásokat. Ezen eredményekkel arra a kérdésre is tudtunk válaszolni, hogy az oltóanyagok kombinációi hatékonyabbak lehetnek-e mintha csak egykomponensű oltóanyaggal kezelnénk a növényeket.

5.4. OLTÓANYAGOK VIZSGÁLATA NEHÉZFÉM STRESSZ ESETÉN

5.4.1. NEHÉZFÉMEK HATÁSÁNAK LABORATÓRIUMI VIZSGÁLATI EREDMÉNYEI

Ezek a vizsgálatok annak megértését hivatottak elősegíteni, hogy nehézfém terhelés esetén a mikrobák jelenlétének változása mutat-e törvényszerűséget? Amennyiben igen, szükséges-e az oltóanyagok előállítása során, vagy alkalmazásakor figyelembe venni ezt?

1.)

A kísérlet során az első megválaszolendő kérdésünk az volt, hogy a négy évig a talajba került nehézfémadagok a rövid idejű, de nagy dóziszú alkalmazás során megindítják-e a nehézfém-tűrésben jelentkező szelekciós hatásokat. Valamint, hogy van-e különbség a különféle szennyvíziszapok hatásai között, illetve a nehézfém típusa vagy a talajtípus lehet-e befolyásoló tényező a tűrőképesség alakulására (Matics et al. 2013a). Akkor azt találtuk, hogy a szennyvíziszapok tartamjellegű kiadagolásával a *Rhizobium* baktériumok sejtszáma, nitrogén-kötő képessége és faji diverzitása is lecsökkenhet. Az eredeti *Rhizobium* populáció a nehézfémek tartós kitettségeinek hatására szelektálódik, vagy fokozatosan olyan adaptációs folyamatokon megy keresztül, ami elvezethet a nitrogén-kötő képesség vagy a szimbiózisos struktúrák kialakítási képességének az elvesztéséhez is. Azt mutatták az eredmények, hogy a nagy dóziszú nehézfémet kapott törzsek érzékenyebbeknek bizonyultak az adott fémekre (Matics et al. 2013a).

Egy további kérdés is felmerült azonban a kísérletek során. Mégpedig az hogy a rezisztens és szenzitív törzsek nehézfém stresszre adott válasza, élő sejtszámának alakulása között van-e olyan eltérés, amit törvényszerűnek lehet mondani. Ha találunk jellemző mintázatot, ezzel a viselkedés mintázattal a nehézfém szennyezett talajok remediációja során az oltóanyagok előállításánál esetlegesen számolni kell. Ennek érdekében megvizsgáltuk, hogy mutatkozott-e különbség a különböző (kommunális és börgyári) szennyvíziszap kezelést kapott és a nem kapott izolátumok log CFU eredményei között a növekvő (Cr és Zn) dózisoknál. Vagyis, hogy a szenzitív törzs viselkedése eltért-e a rezisztens törzsekétől (26. táblázat).

Mivel a börgyári iszap, csak Cr-ot tartalmazott a Zn-re nézve szenzitívnek tekinthetők az ilyen iszap kezelést kapott törzsek. Tehát ezektől a baktériumoktól és a nehézfém terheléstől mentes talajból izolált kontroll törzsektől azonos viselkedést vártunk el. A feltevésünk nagyrészt igazolódott is, mert a börgyári iszappal kezelt törzsek abundanciája Zn esetén a kezelést nem kapott törzsekhez képest csak a 45 mgkg^{-1} dózisonál mutatott különbséget.

Cr esetén a börgyári iszappal kezelt törzsek abundanciája a kezelést nem kapott törzsekhez képest a 600 mgkg^{-1} dózist leszámítva mindegyik dózisonál mutattak különbséget. Ez szintén nagyrészt megegyezett az elvárt eredménnyel, hiszen a börgyári iszap Cr-t tartalmazott, így az ilyen kezelést kapott tenyészedények *Rhizobium* törzsei toleránsnak tekinthetők. Más válasz várható el tőlük, mint a szenzitív törzsektől.

A kommunális iszappal kezelt törzsek abundanciája Zn esetén azonban éppen az elvárt viselkedés ellenkezőjét mutatta. Annak ellenére, hogy a Zn-re nézve rezisztens törzseket vizsgáltunk, mégis azonosan viselkedtek a növekvő Zn dózisok esetén, mint a szenzitívek.

Cr esetén a kontroll baktériumok és a kommunális iszap kezelést kapott törzsek viselkedése között hol mutatkozott eltérés, hol pedig nem. A kommunális iszap jelentős mennyiségű krómot is tartalmazott, így egyértelműen eltérő választ vártunk Cr

terhelésre. Az elvárásaink nem igazolódtak a kommunális kezelésben részesült törzsek esetén sem a Zn-kel, sem a Cr-mal történt vizsgálataink során.

26. táblázat: A Zn és Cr növekvő dózisaira a bőrgyári és kommunális iszap kezelést kapott *Rhizobium* törzsek és a kezelést nem kapott törzsek abundanciájának alakulásában megfigyelt eltérések

+ : különbség mutatkozott (eltérően viselkedtek)

- : nem mutatkozott különbség (azonos módon viselkedtek)

Különbség mutatkozott	Bőrgyári kezelés és kontroll között	Kommunális kezelés és kontroll között
Zn		
45	+	-
90	-	-
180	-	-
360	-	-
720	-	+
Cr		
37,5	+	-
75	+	+
150	+	-
300	+	+
600	-	-

2.,3.)

Az 1.) kísérlet folytatásaként a 2.) és 3.) kísérletek kapcsán is megpróbáltunk egy lehetséges törvényszerűséget felismerni az adott baktérium rezisztens és szenzitív törzseinek nehézfém koncentráció változásra adott válaszaiból. Az alkalmazott nehézfémek sóit (Co, Mn, Co, Zn, Cd, Ni), 0, 1, 10, 100, 1000 és 10.000 mg⁻¹ koncentrációban tartalmazó folyékony Yem táptalajokban a törzsek szaporodását spektrofotométerrel ellenőriztük 560 nm hullámhosszon.

A kontroll törzs (K) *Rhizobiumok* baktérium hazai, nem-szennyezett mezőgazdasági területről, Gödöllőről származott és a nehézfém-hatásokkal szemben érzékenynek tekinthető minden fém esetén. A Braunschweighből származó (B) *Rhizobiumok* baktérium 10 évig folyamatos terhelésnek volt kitéve, kadmiumot, rezet, cinket és nikkelt tartalmazó talajban, így ezekre nézve rezisztensnek tekinthető. Tehát választ kerestünk arra, hogy a rezisztensnek tekinthető törzs és a kontroll törzs nehézfém terhelésre adott válasza között van-e eltérés. Más szavakkal, hogy egy rezisztens törzs abundanciájában bekövetkező változások nehézfém stressz esetén eltérnek-e egy szenzitív törzsetől. Ennek érdekében az egyes nehézfém sók esetén a két törzs közötti lineáris regressziót vizsgáltuk meg (27. táblázat).

27. táblázat: A két (szenzitívnek és toleránsnak gondolt) törzs közötti lineáris regresszió erőssége a vizsgált nehézfémek esetében

Ezekre a nehézfémekre rezisztensnek tekinthető a B törzs		
	klorid	szulfát
kadmium	0,05	-
réz	0,87	0,56
cink	-	0,1
nikkel	0,8	0,9
Ezekre a nehézfémekre nem tekinthető rezisztensnek a B törzs		
mangán	0,37	0,56
kobalt	0,66	0,88

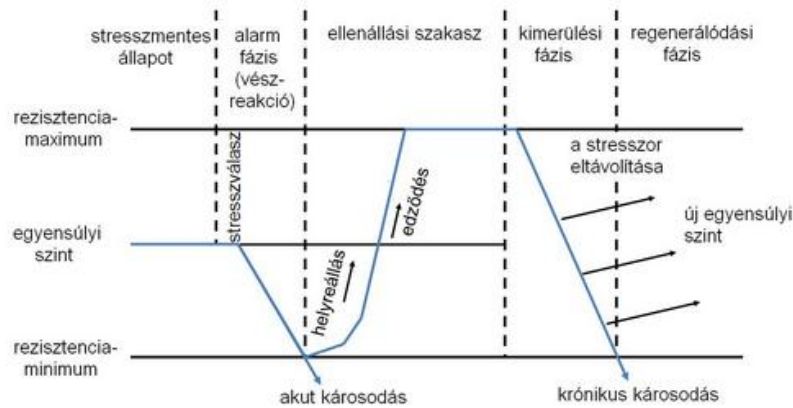
A kadmium, réz, cink és a nikkel esetén arra számítottunk, hogy gyenge kapcsolat fog mutatkozni a két törzs között, mert eltérően alakul az kitenyészhető sejtszámuk, azonban a réz-klorid és a nikkel mindkét sója esetén nagyon hasonló volt a két törzs viselkedése. Mangán és kobalt esetén pedig, ahol mindkét törzs szenzitív volt, erős kapcsolatot vártunk a viselkedésükben, csak a kobalt-szulfát esetén látszott az erős hasonlóság.

Más szemszögből is értékeltük az eredményeket. A koncentrációk függvényében mért fotometriás értékeket nehézfémeként és baktériumokként lineáris és másodfokú polinomiális regresszió analízissel vizsgáltuk meg és ábrázoltuk őket. Az eredmények elemzése során, azt találtuk, hogy a másodfokú polinomiális regresszió minden esetben szorosabb összefüggéseket mutatott. Az 28. táblázatban pirossal kiemelve láthatók ezek az értékek. A számokat látva elmondható, hogy a nehézfém terhelés várható hatása az abundanciára egy baktérium törzsnél (esetünkben *Rhizobium* törzsek) polinomiális regresszióval jobban megbecsülhető, mint lineárisal.

28. táblázat: A regresszió analízisek eredményei

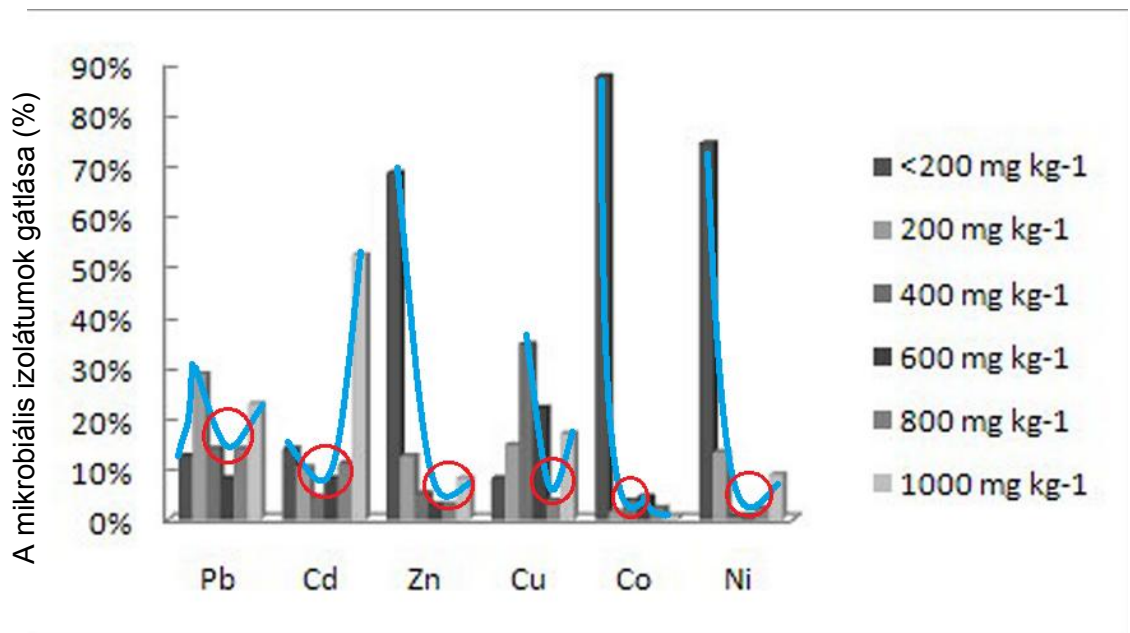
Ezekre a nehézfémekre rezisztensnek tekinthető a B törzs			Kontroll törzs	
Polinomiális regresszió R ²	klorid	szulfát	klorid	szulfát
Lineáris regresszió R ²				
kadmium	0,003	0,74	0,15	0,74
réz	0,72	0,85	0,81	0,89
cink	-	-	-	-
nikkel	0,78	0,998	0,83	0,88
Átlag Poli. R ²	0,5	0,86	0,6	0,84
Átlag Lin. R ²	0,53	0,66	0,35	0,69
Ezekre a nehézfémekre nem tekinthető rezisztensnek a B törzs			Kontroll törzs	
Polinomiális regresszió R ²	klorid	szulfát	klorid	szulfát
Lineáris regresszió R ²				
mangán	0,29	0,58	0,69	0,82
kobalt	0,61	0,71	0,88	0,92
Átlag Poli. R ²	0,45	0,65	0,79	0,87
Átlag Lin. R ²	0,64	0,86	0,8	0,89

A grafikonok áttekintése alapján megfigyelhető volt egy azonos jelenség mindkét törzsnél, ami bár a dózisokra adott válaszreakció, mégis a szakirodalomban az állat és növényvilágban jól ismert időbeli stressz szindróma jelenségének képét mutatja. A lényege, hogy kisebb stressz, esetünkben nehézfém terhelés esetén, a mért paraméter (diverzitás, élősejtszám, vitalitás stb.) nagyobb mértékben esik vissza, mint magasabb terhelésnél (24. ábra). Ha az egyed képes rá, bekövetkezik a második fázis, az ellenállás stádiuma, amelyben védekező és alkalmazkodási folyamatok eredményeként ismét normálissá válik az életműködés, sőt a funkcionális aktivitás a korábbi standard értéknél magasabb is lehet. A harmadik szakasz a kimerülés.

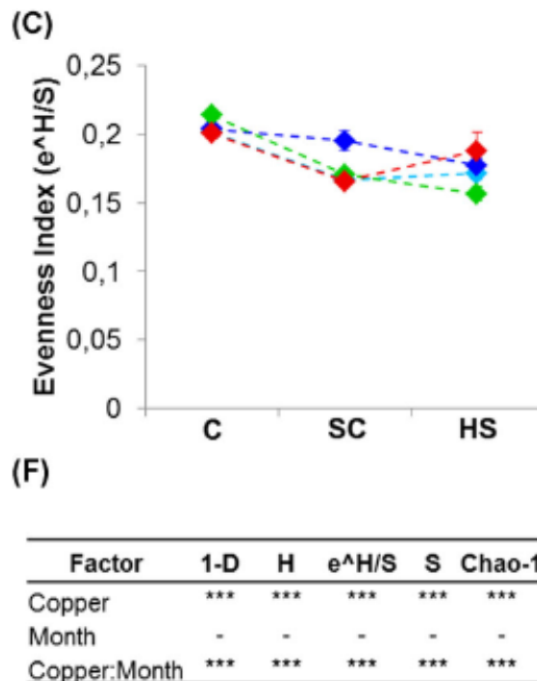


24. ábra: A stressz szindróma (http 11)

A mikroorganizmusok nehézfém tűrés vizsgálatainál alig van szerző, aki említést tesz erről, pedig több cikk ábráin is megfigyelhető a jelenség például a 24-25. ábrák. Igen sok szakmai közlemény írja körül a jelenséget, így például a Braunschweigenben végzet kísérletek többsége is (Del Val et al. 1999, Stöven et al. 2005).



25. ábra: A stressz szindróma dinamikája nehézfém-dózisokra adott válaszként Yu (2014) eredményeiből kiemelve



26. ábra: Stressz szindróma (Nunes 2016) eredményeiből kiemelve C=kontroll; SC= alacsony szintű terhelés; HS=nagy mennyiségű réz

Ez a jelenség több kísérlet során is megfigyelhetővé vált. Austin (1989), Giller et al. (1997; 2009), Tayebi és Ahangar (2014) is arra jutottak, hogy a fajok diverzitása és produktivitása nem lineárisan csökkent egy zavaró tényező hatására, inkább a púpos kapcsolat megjelenése látszott. Ez a modell normális a növény és állatvilágban és ilyen modelleket lehetne érvényesíteni a környezeti tényezőkre adott mikrobiológiai válaszoknál is (Giller 2009).

Wardle (1995) a herbicidek által kiváltott stressz esetén is arról ír, hogy a talaj faunájának különféle fajai a púpos modell szerinti választ adták. Ezért célszerű lenne a mikrobiális folyamatok dózis függősége esetén is ennek a figyelembe vétele és tanulmányozása.

Az oka ennek a jelenségnek, lehet egyrészt, hogy a fém toxicitás eltolódik a fém érzékeny és toleráns egyedek miatt a populációban. Másrészt pedig az igen variábilis plazmidok jelenléte a mikroorganizmusok genomjában.

Az elsőként említett ok miatt azonban elmondható, hogy nem lehet külön küszöb értéket megállapítani az egyes törzsekre, inkább csak hely-specifikusan lehet megadni azokat (Bunemann et al. 2006). A határérték megállapításakor pedig figyelembe kell venni a helyspecifikus tényezőket, mint például a fémek természetes háttér-koncentrációját a talajban. Másrészt pedig, hogy nem lehet meghatározni a talajnak azt a fém koncentrációját vagy fém töltési arányát amely garantálja, hogy a mellékhatások kockázata nulla lesz. Giller et al., (2009) szerint az ökoszisztéma sokfélesége és stabilitása közötti kapcsolatokról folytatott további kutatások segíthetnek hozzá minket a fém stressz megértéséhez, ez adhat kulcsot a folyamatok megértéséhez.

A másodikként említett feltételezhető ok, azaz a plazmidok jelenléte, is magyarázat lehet a várttól eltérő válaszokra, a púpos modellre és a lineáristól eltérő kapcsolatra. Hiszen amint azt az irodalmi áttekintés során bővebben kifejtettük, a tolerancia és rezisztencia fogalmainak elkülönítése nem könnyű. Lakzain (2002) kísérlete is a

plazmidok befolyásoló szerepét szemlélteti. Braunschweig különböző Zn (50-400 mgkg⁻¹) dózissal terhelt parcelláiból származó *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* törzseket vizsgált. Mi az előzetes vizsgálataink b,c részében foglalkoztunk szintén ezekből a parcellákból izolált *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* törzsekkel. Lakzain azt mutatta ki, hogy a kontroll talaj és a kis mennyiségű (50 mgkg⁻¹) Zn-et tartalmazó parcellák sejtszámához képest a legnagyobb dózist kapott parcellában csak 2-3 nagyságrenddel volt alacsonyabb a kitenyészhető sejtszám. Az izolátumok vizsgálatakor pedig azt találták, hogy 3-9 plazmid variálódott a 100-850 kb közül. A riboszomális DNS-en PCR RFLP-vel a 16S és 23S rRNS régiók közötti különbségek alapján 20 különböző ITS (internal transcribed spacer) csoportot hoztak létre. Ezeknek az ITS csoportoknak az eloszlását tovább vizsgálták a minta területen. 10 darab különböző ITS csoport megtalálható volt a kontroll, 6 a közepes szennyezésnek kitett és csak 2 a legnagyobb dózist elszenvedő parcellákban. Mérsékelt fém adagolással a plazmid profil csoportok száma növekedett, de 300 mgkg⁻¹ Zn koncentrációnál erősen redukálódott. Majd a különböző ITS csoportokon belül elvégezték a plazmidok vizsgálatát is. Egy ITS csoport (1. jelű) megtalálható volt az összes parcellában és az ebből az ITS csoportból származó izolátumoknál a kontroll parcellából származó *Rhizobium*ok csak 3-4 plazmidot tartalmaztak és kisebb Zn toleranciát mutattak, addig a legterheltebb parcella izolátumaiban 8-9 plazmid volt jelen. A fémterhelés tolerálása a kibocsátott plazmidok számával nőtt. Bizonyította ezt az is, hogy a másik ITS csoporthoz tartozó izolátum esetén a legnagyobb koncentrációnál csak 3 komplexebb plazmid volt jelen és ennek a törzsnek kisebb is volt a toleranciája. A 400 mgkg⁻¹ Zn tartalmú parcellából izolált, 1. jelű ITS csoporthoz tartozó és egy kontroll parcellából származó és más ITS csoporthoz besorolt törzs szekvencia analízise 100%-os homológiát mutatott a (National Center for Biotechnology) törzsgyűjteményi törzsszel. Réz és kadmium tolerancia tesztek esetén, ugyanezekkel a törzsekkel nem volt szignifikáns különbség kimutatható. A mi vizsgálati eredményeink is ezt mutatták a 28. táblázat tanúsága alapján, bár a mi kísérleteinkben is réz és kadmium is jelen volt a talajban. Lakzain (2002) pufferezt folyékony táptalajon 0 - 50 mgkg⁻¹ Zn dózisokon tovább vizsgálták a törzsek toleranciáját, azok a törzsek amelyek csak három plazmiddal rendelkeztek, azok már 72 óra múlva 30 és 50 mgkg⁻¹ Zn terhelés mellett elpusztultak. A kísérlet eredménye azért is érdekes, mert egy törzsön belül, 100%-os törzsgyűjteményi egyezés és még azonos ITS csoportok esetén is eltérő lehet a rezisztencia.

A Matics et. al 2013a tett megállapításunk, hogy mind a kontroll és mind a szennyvíziszappal kezelt területéről származó gyökérgümőről izolált törzsek nehézfém-tűrése igen nagy változatosságot mutat, mivel a kontroll törzsek in vitro megnyilvánuló toleranciáját valószínűleg nagymértékben befolyásolja azok genotípusos tulajdonsága, ismételten bebizonyosodott.

A célkitűzésben megfogalmazott harmadik kérdésünk az volt hogy a nehézfém terhelés esetén a mikrobák jelenlétének változása mutat-e törvényszerűséget?"

Erre a kérdésre vonatkozó válaszukat, mint javaslatot az alábbiak szerint fogalmazhatjuk meg:

A talajlakó baktériumok nehézfém stresszre adott válaszreakciói során is az állat- és növényvilágból ismert stressz szindróma jelenségével érdemes számolni. Ezért a nehézfém-tolerancia közösségi alakulásánál a lineáris összefüggések helyett, célszerűbb a válaszreakciót jobban leképező összefüggéseket alkalmazni a tolerancia fokának és a mikrobás működőképességnek a megítéléséhez. Ebből következően oltóanyagok

alkalmazásakor érdemes figyelembe venni a várható visszaesést és azzal a beoltási sejtszám megállapításakor számolni.

5.5. A NEHÉZFÉM STRESSZ VIZSGÁLATA LIZIMÉTERES SZABADFÖLDI KÍSÉRLETBEN

Ezen kísérleteink során a célkitűzésekben felsorolt kérdések közül az alábbiakra kerestük a választ:

- A talaj-növény rendszerben a hasznos szimbionta gombákkal történő növényoltás képes-e változtatni a növény Mn toleranciáját, vagy akkumulációját?
- Az úrkúti vas-mangán tartalmú melléktermék mezőgazdasági célokra felhasználható-e?

Liziméter csövekben kísérletet állítottunk be nehézfém stresszre vonatkozóan úrkúti mangániszap elhelyezésével. Az előzetes kísérletek eredményeinek kiértékelése során vetődtek fel olyan további gyakorlati és tudományos kérdések, amelyek megválaszolását is céloomul tűztem ki.

Az adatok kiértékelésekor az alábbiak szerint rendszereztük az eredmények ismertetését:

- kezelés
- évjárat
- mikorrhiza gombával oltott/ nem oltott

5.5.1. A MANGÁN KEZELÉSEK HATÁSA

A kifejezetten energiaszolgáltatásra nemesített fűféle Szarvas-1, kiválóan alkalmasnak bizonyult fitoremediációs célra is. A növényben az első évben a 29. táblázatban szereplő mennyiségű mangán tartalom volt mérhető.

29. táblázat: Mangán tartalom három növényi részben és makroelemek mennyisége a hajtásban ICP analízis alapján az első évben

Mn-kezelés (mgkg ⁻¹)	Mn tartalom (mgkg ⁻¹)		Makroelemek a hajtásban		
	hajtás	gyökér	N %	P mgkg ⁻¹	K mgkg ⁻¹
Mikorrhizával oltott					
M0	891	265	0,607	1332	6855
M00	573	241	0,655	1136	5459
M500	727	4908	0,572	824	4286
M1000	1471	5590	0,517	736	3820
M2500	2074	12723	0,731	1133	5528
M12500	5610	28858	0,690	1184	5451
Mikorrhizával nem oltott					
0	619	1065	0,621	1159	5165
00	338	414	0,683	949	4471
500	590	2305	0,662	1004	8626
1000	2302	5215	0,641	1037	4674
2500	1878	5521	0,676	1128	4266
12500	1714	13967	0,683	1273	7068

Az eredményekből látható, hogy az energiafű a Mn-t nagy mennyiségben felvette, és a gyökerében akkumulálta. A hajtásban az elemtartalom 1000 mgkg^{-1} dózistól azonos nagyságrendű volt, ami a $0-500 \text{ mgkg}^{-1}$ közötti dózisokhoz képest egy nagyságrenddel nagyobb értéket jelentett.

A gyökérrendszerben növekvő Mn-mennyiségek voltak megfigyelhetők. A növény a gyökerébe közel egyenletesen vette fel a mangánt a mikorrhiza gombával oltott kezelések esetén 1000 , nem oltottak esetén pedig 2500 mgkg^{-1} mennyiségekig. A legnagyobb dózissnál a gyökér által adszorbált Mn-tartalom az oltott kezelések esetén egy nagyságrendet nöött. A négy év során azonban a növények átlagos Mn tartalmában csak a 0 és az 1000 , valamint a 0 és a 12500 mgkg^{-1} kezelések között mutatkozott szignifikáns különbség.

A makroelemek növényi hajtásban való előfordulása nem követte arányosan a kiadagolt Mn-dózisokat. Mn-adagoktól függetlenül közel azonos N és P-mennyiségeket mértünk. A hajtás és gyökér ICP analízisével kapott eredményei közötti korreláció vizsgálatának eredményeit a 30. táblázat szemlélteti. Amelyből látszik, hogy a kezelések pozitívan befolyásolták a gyökér réz tartalmát, míg a talaj cink tartalmát pedig negatívan.

30. táblázat: A Mn kezelt Szarvas-1 energiafű hajtás és gyökér ICP analízis eredményei közötti Pearson-féle korrelációk

		Korreláció erőssége
kezelés	gyökér Cu	0,786**
	talaj Zn	-0,735**
	talaj Mn	0,994**
	gyökér Mn	0,960**
hajtás Al	hajtás Mn	0,777**
	gyökér Mn	0,849**
	talaj Mn	0,704*
hajtás Ba	hajtás Mn	0,983**
hajtás Cd	hajtáshossz	0,766**

A kezeletlen talaj felvehető mangán tartalma saját méréseink alapján átlagosan 191 mgkg^{-1} volt. Más forrás alapján is szinte teljesen azonos 154 mgkg^{-1} volt a mért mennyisége. ([http 11](http://11))

A korreláció analízis alapján szoros ($0,994^{**}$ és $0,960^{**}$) korreláció mutatkozott a kezelések és a talajban mért Mn, illetve a gyökérben mért Mn mennyiségek között.

A hozzáadott eredetileg nem oldható (MnO és MnO_2) hatására az adatok alapján nőtt a felvehető Mn mennyisége is és ez visszahatott a talajban eredetileg oldhatatlan formában jelen lévő Mn mennyiségére. Az 31. táblázat alapján látható, hogy a talaj-növény rendszerben a hozzáadott Mn mennyiségen túl, azzal arányosan nőtt az összes Mn mennyisége és a rendszerben pluszként megjelenő felvehető mangán mennyisége. Ezt a pluszban felvehetővé vált mangán mennyiséget az alábbiak szerint számoltuk ki :

$$b+c-a-191 \text{ mgkg}^{-1}=x$$

ahol:

a: Mn kezeléssel kijuttatott Mn mennyisége (mgkg^{-1})

b: talaj felvehető Mn mennyisége (mgkg^{-1})

c: a növény Mn mennyisége (mgkg^{-1})

x: többlet felvehetővé vált mangán mennyisége (mgkg^{-1})

A kapott eredményeket a 31. táblázat szemlélteti.

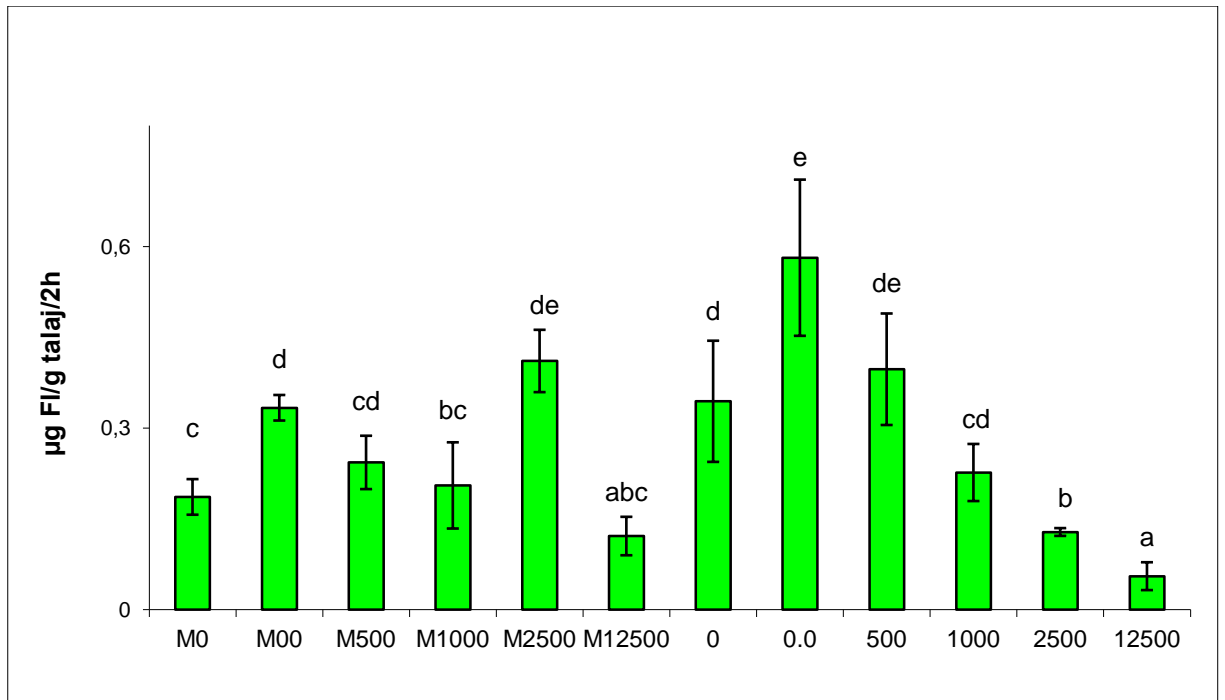
31. táblázat: Többletként a növény-talaj rendszerben megjelent felvehető Mn mennyisége

Mn-kezelés (mgkg ⁻¹)	Többlet Mn a talaj- növény rendszerben (mgkg ⁻¹)	
	1. év	3. év
Mikorrhizával oltott		
M0	882	445
M00	336	397
M500	1889	1390
M1000	3784	706
M2500	2601	-
M12500	2460	-
Mikorrhizával nem oltott		
0	2082	438
00	389	471
500	3384	180
1000	3921	2131
2500	7443	2522
12500	11618	-

A többletként megjelölt felvehető mangán vélhetően a mikrobák aktivitásának köszönhetően vált felvehetővé. Ennek tisztázására FDA méréseket végeztünk az 1. évben (32. táblázat és 27. ábra). Games-Howell próbát alkalmazva azt láttuk, hogy szignifikáns különbségek voltak.

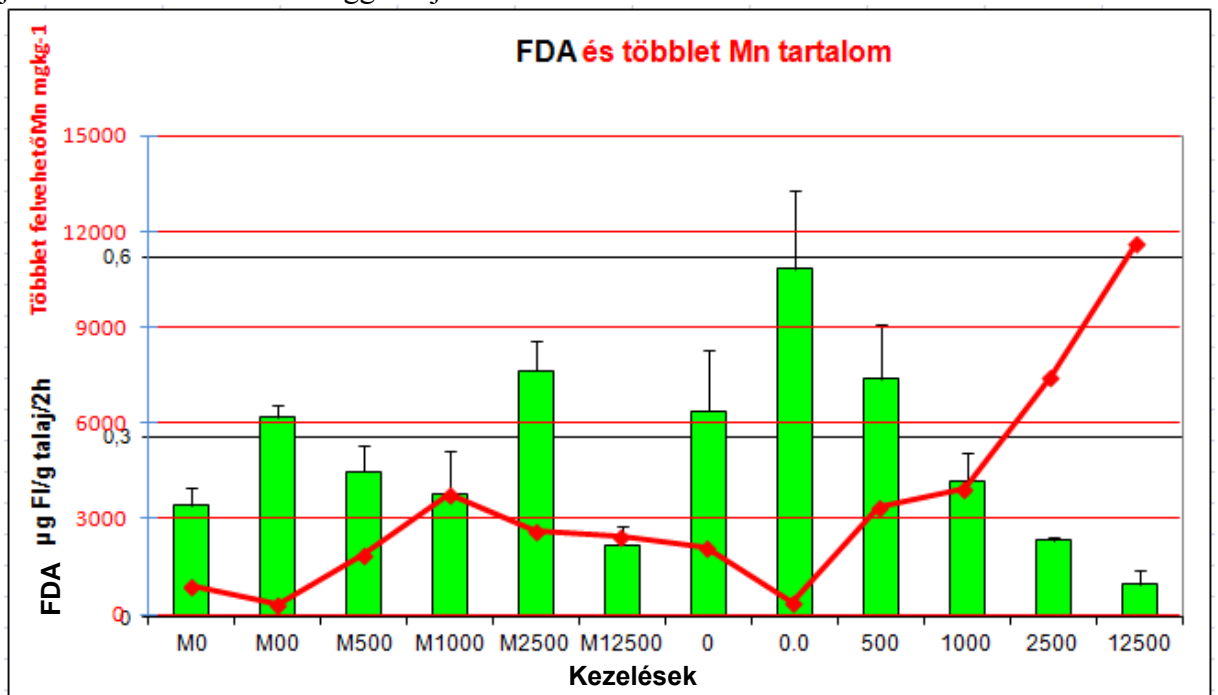
32. táblázat: A talaj katabolikus enzim aktivitásának mérése során a kezelések között jelentkező szignifikáns különbségek

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezelések között	
M0	M12500
	2500
M00	12500
	M12500
M500	12500
	M12500
	2500
	125000

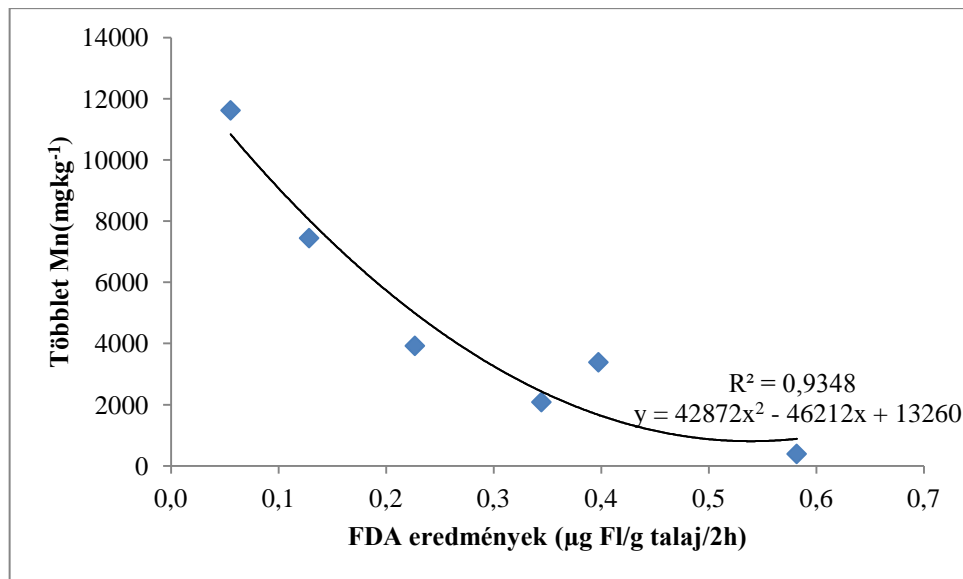


27. ábra: FDA vizsgálat eredményei SzD5%=0,40

A többletként a rendszerben megjelent Mn mennyiségi adatai (31. táblázat) és az FDA (27. ábra) eredmények alapján feltételezhető volt, egy fordított arányosság. Ennek szemléltetésére a két grafikont egyben ábrázoljuk (28. ábra), majd a két változót egymás függvényében is bemutatjuk (29. ábra). Ez a tendencia azonban csak a mikorrhizával oltott, illetve nem oltott kezelések szétválasztásával érhető tetten, mégpedig a nem oltott csövek esetén. A mikorrhizával oltott kezeléseknél az FDA eredményekben az a folyamat figyelhető meg, mint a toleráns törzseknél a nehézfém terhelés hatására az abundanciában. A nem oltott kezelések esetén azonban a nem toleráns törzsekre jellemző abundancia haranggörbéje látható.

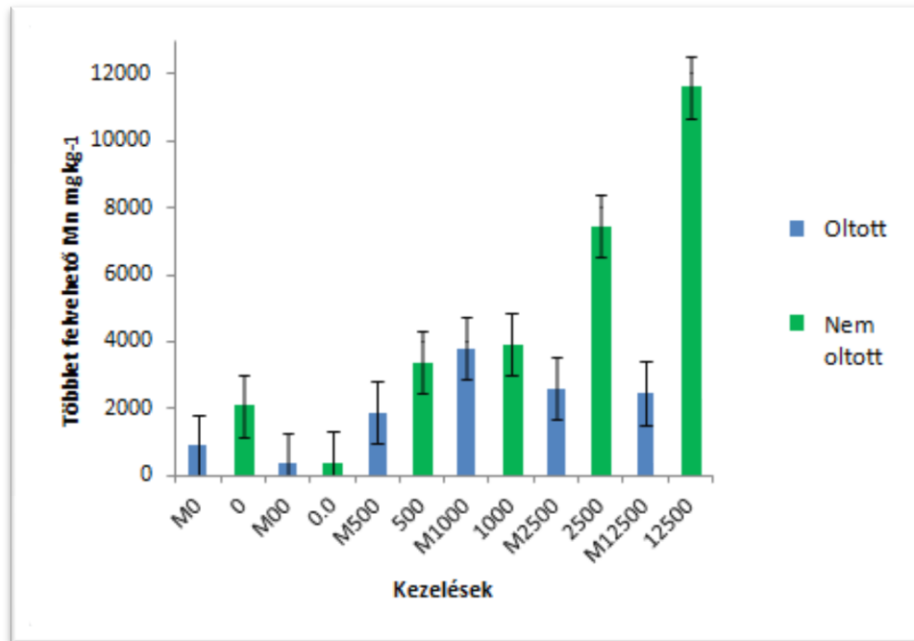


28. ábra: FDA eredmények alakulása a mikorrhizával oltott és nem oltott talaj-növény rendszerben



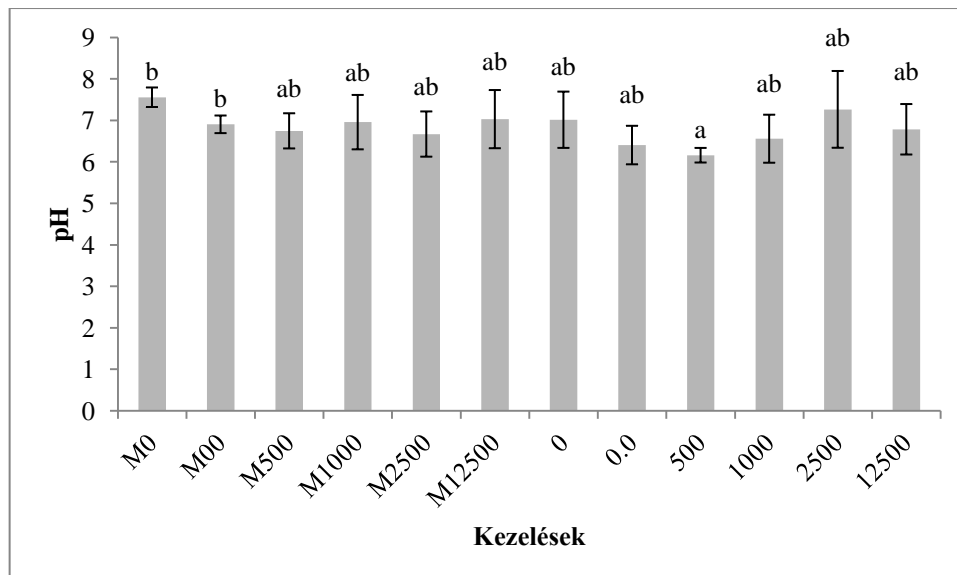
29. ábra: Mikorrhiza gombával nem oltott csövek FDA eredményei a többlet Mn függvényében

A fluoreszcein-diacetát aktivitás mérésével a talajok mikrobiológiai katabolikus aktivitása jellemezhető, vagyis az a folyamat, mely során a komplex molekulák lebontása történik egyszerűbbé, s a kémiai kötésekben tárolt energia felszabadul. Mi azonban oldhatatlan mangán-oxidokat (MnO és MnO₂) juttattunk a talajba. Ezek pedig csak komplexebb formában két vegyértékű mangán-ion és oldható mangán-szulfát, mangán-kloridként felvehetőek a növények által. Ez esetben a mikrobák anabolikus folyamatokban történő szerepe válhatott fontossá. Az anabolikus folyamatokban az egyszerű molekulák összekapcsolódása révén összetett molekulák képződnek. Ezt támasztja alá a 27. ábra is, ahol a mikorrhizával nem oltott kezelések esetén a nagyobb mennyiségű felvehetővé alakított mangánhoz, kisebb mennyiségű katabolikus aktivitás kapcsolódott. A regresszió vizsgálatnál a grafikonon a szorosabb kapcsolatot mutató másodfokú polinomiális függvényt ábrázoltuk, nem pedig a lineáris függvényt ($R^2=0,0276$). A mikorrhiza gombával kezelt liziméter csövek esetén viszont elmondható, hogy a két vizsgált változó között ilyen kapcsolat nem állt fenn (polinomiális $R^2=0,1035$ lineáris $R^2=0,0276$). A 30. ábrán is látszik, a mikorrhiza gombával oltott és nem oltott csövek esetén eltérő mennyiségű volt a rendszerben megjelent plusz felvehető Mn. A Mn felvehetővé tétele a mikorrhizával kezelt csövek esetén 2500 és 12500 mg kg⁻¹-os Mn terhelési szinteknél jóval kisebb, mint a nem oltottnál.



30. ábra: Többlet felvehető mangán tartalom a kezelések függvényében (számolt mennyiségek, standard szórással)

A felvehető Mn tartalmat a talaj pH-ja is befolyásolja, hiszen a mangán mozgékony formáinak mennyisége annál magasabb, minél savanyúbb a talaj. A mangán iszap pH értéke 7-7,7 között volt. A liziméter csövek talajának átlag pH értéke pedig 6,8. Részletesen az 31. ábra mutatja be a talaj pH alakulását a négy év átlagában, ahol az is látszik, hogy a mikorrhizával nem oltott 500 mgkg⁻¹ kezelésnél a legalacsonyabb az értéke (6,16), míg az oltott 0 és 00 kezelések esetén szignifikánsan magasabb (7,56; 6,9).



31. ábra: A négy év pH értékeinek alakulása a kezelések hatására ($p=0,200^*$; $p>0,05$); $F(11;37)=2,143$; $p=0,041$

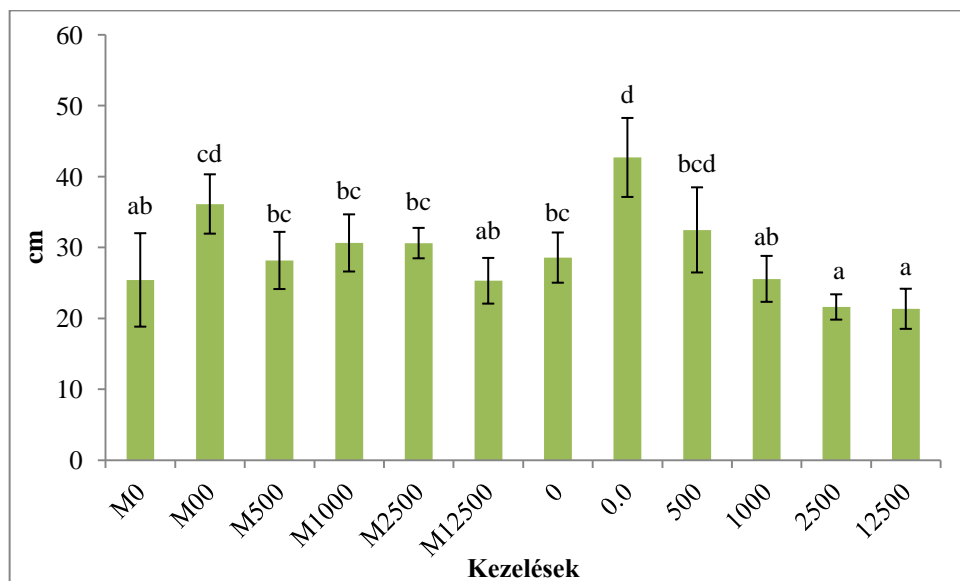
A hidrogénion-koncentrációja, a mikroorganizmusok tevékenységét és szaporodását lényegesen befolyásoló ökológiai tényező, azonban a baktériumok többségét csak 4,0 alatti pH, az élesztő- és a penészgombákat pedig a 2-9 pH tartományon kívüli értékek

gátolják. A vizsgált talajaink pedig a mangánkezelés ellenére is a talajokra általában jellemző <4,5 erősen savanyú és a 9 < erősen lúgos tartományban maradt, ami megfelel a legtöbb mikroorganizmus szaporodási igényeinek. A vizsgált mikroorganizmusok logMPN számában és a többi talaj, illetve növényi tulajdonság esetén azonban az eddig bemutatottakon kívül csak a hajtáshossz esetén voltak statisztikailag igazolható eltérések a kezelésekre nézve.

A hajtáshosszban a kezeléseket 4 év alatt szignifikáns különbségeket eredményeztek. (33. táblázat, 32. ábra Games-Howell próbával).

33. táblázat: Kezelések hatása a hajtáshosszra a kísérlet négy éve alatt

Szignifikáns különbségek mutatkoztak az alábbi kezeléseket között			
M0	M00	M2500	00
	00		2500
M00	M12500	M12500	12500
	1000		00
	2500		00
M500	12500	0	2500
	00		12500
	2500		1000
M1000	12500	00	2500
	00		12500
	2500		12500
M1000	00	500	12500
	2500		2500
	12500		12500

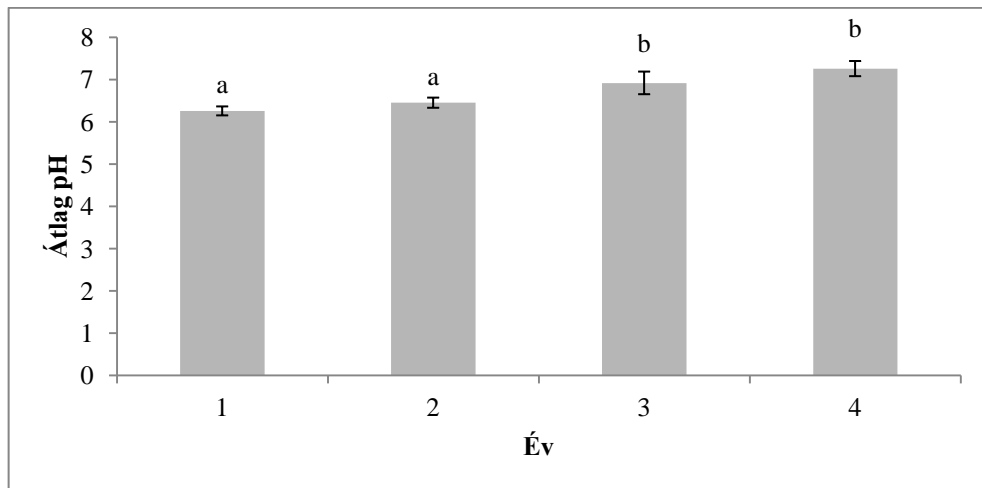


32. ábra: A kezelések hatása a hajtáshosszra a 4 év alatt ($p=0,200^*$; $p>0,05$); $F_{11;503}=10,897$; $p=3,73 \cdot 10^{-18}$

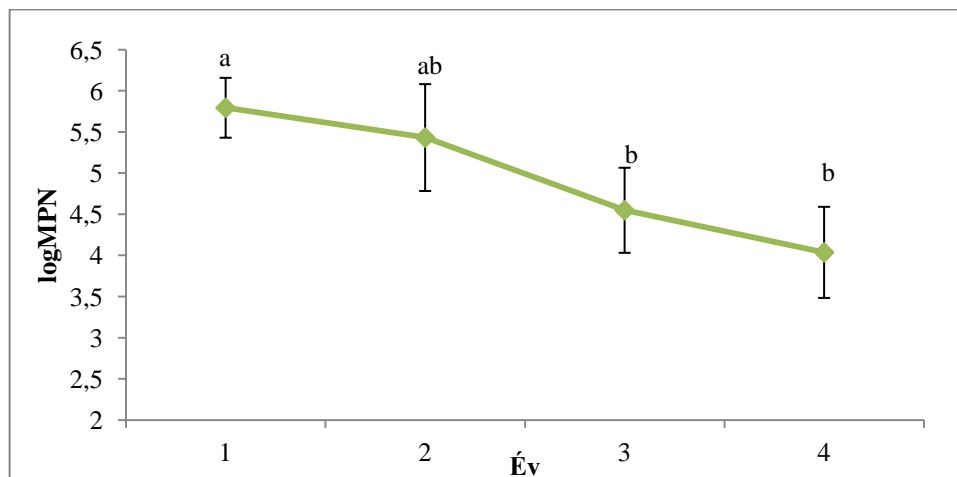
A kezelések hatására a 00 kontrollhoz képest, szinte minden liziméterben szignifikánsan alacsonyabbra nőtt az energiafű. Csak az M00 és az 500 mgkg⁻¹ kezeléseket esetén nem volt szignifikáns a különbség. Az előzőekben tárgyaltakhoz hasonlóan (többetként megjelent felvehető mangán mennyisége és az FDA értékek), itt a 2500-as dózis esetén látható különbség abban, hogy oltott vagy nem oltott csövekről van szó.

5.5.2. AZ IDŐ BEFOLYÁSOLÓ HATÁSA

A átlagos pH-értékek évről-évre szignifikánsan nőttek, a kezdeti 6,3-ról 7,3-ra (33. ábra). A növények mangán tartalma az első évi átlagos 3296 mgkg^{-1} -ról csaknem a negyedére 886 mgkg^{-1} -ra csökkent a 3. évi mintavételre. A kitenyészthető spórás baktériumok log MPN számában csökkenés volt megfigyelhető a négy év folyamán. A kezdeti magasabb 5, 8-ról az utolsó évre 4-re csökkent a log MPN érték (34. ábra).



33. ábra: A kezelések pH eredményeinek átlaga a 4 év alatt



34. ábra: A kitenyészthető spórás baktériumok átlagának alakulása a 4 év alatt

Korreláció analízis végeztünk és a spórás baktériumok és az idő között erős negatív kapcsolatot találtunk (34. táblázat). Az idő és a talaj pH között azonban csak közepesen erős korreláció volt 0,673.

34. táblázat: A korreláció analízis eredménye

Csoportok		Korreláció mértéke
spórás	idő	-0,729**

**=0,01-es szignifikancia szinten szignifikáns a korreláció

5.5.3. A MIKORRHIZA GOMBÁVAL TÖRTÉNŐ OLTÁS HATÁSA

Az arbuszkuláris mikorrhiza gombával (AMF) történő növényoltás hatására a kolonizált gyökér kevesebb exudátumot termel (Marschner et al. 1997), ami rendszerint a rizoszféra bakteriális biomaszájának csökkenéséhez vezet (Christensen és Jakobsen 1993), illetve összetételbeli különbségeket is eredményezhet (Marschner et al. 2001 cited in: Füzy 2007). A mikorrhizák részt vehetnek a biológiai védekezésben és stimuláló hatást is kifejthetnek a tápanyag-felvételre amellet, hogy morfológiai változásokat indukálhatnak a gyökereken, mellyel a talaj szerkezetére és minőségére is hatást gyakorolnak (Füzy 2007). Ezeknek a hatásoknak a tettenérése végett több szemszögből is vizsgáltuk az oltott és nem oltott liziméter csöveket. Az egyik első vizsgálat a mikorrhizáltság megállapítása volt (35. táblázat).

35. táblázat: A mikorrhiza gombák kolonizációja (F%, A%) növekvő Mn dózisok hatására

AMF	Mn kezelések mgkg ⁻¹					
	0	00	500	1000	2500	12500
F%	67,65	87,88	90,48	90,32	83,33	93,94
A%	10,38	8,71	33,79	20,60	13,10	20,18

Mikorrhiza-képletek jelenléte (F%) A teljes gyökér arbuszkulum-tartalma (A%) (Endresz et al. 2005)

A mikorrhiza-képletek jelenléte (F%) az előzetesen gombaölő szerrel kezelt liziméterben a kontrollhoz képest kimagaslóan nagy értéket mutatott, nyilvánvalóan a konkurens gombák kizárása segítette ezt a folyamatot. A többi koncentráció esetén a 2500 mgkg⁻¹-nál látható visszaesést leszámítva a koncentrációval együtt nő az értéke. A teljes gyökér arbuszkulum-tartalma (A%) esetén nem fedezhető fel ilyen egyértelmű összefüggés a kezelésekkel.

A mikorrhizáltságon túl az alábbi mért tulajdonságokat vizsgáltuk:

Összes, felvehető Mn, a növényben mért Mn, összcsíra szám, kitenyészhető gomba és spórás baktérium log MPN érték, pH.

Annak alapján végeztük az adatokat elemzését, hogy az adott liziméterbe vetett növényeket oltottuk vagy nem oltottuk mikorrhiza gombával. A normál eloszlású adatokat az Spss program csomag OneWay Anova vizsgálatával ellenőriztük először a kezelésekre, illetve az időre vonatkozóan.

A kezelésekre nézve szignifikáns eltérés volt az alábbi esetekben:

Mikorrhizával oltott kezeléseknél a felvehető Mn mennyiségében, a növények Mn tartalmában.

Mikorrhizával nem oltott kezelések esetén: a pH értékében.

Az idő előrehaladtával, 4 év alatt szignifikáns eltérés mutatkozott az alábbi esetekben:

Mikorrhizával oltott kezeléseknél a spórás baktérium log MPN értékében és a pH értékben.

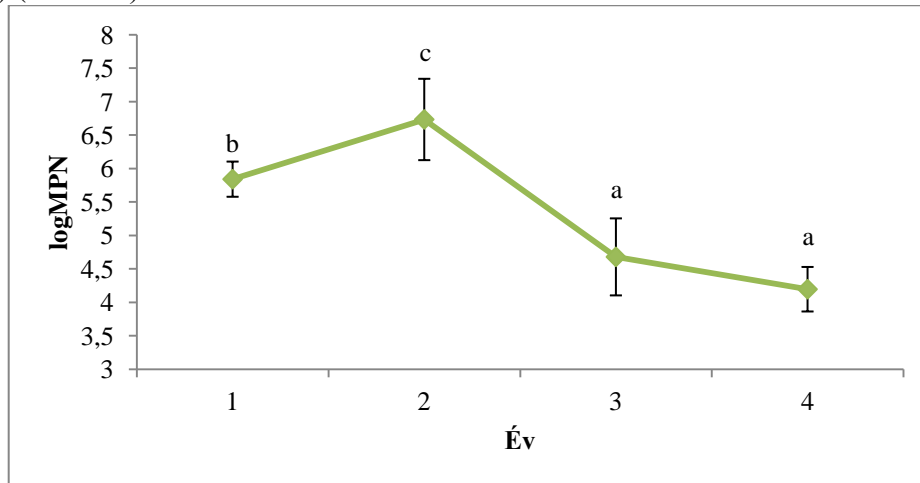
Mikorrhizával nem oltott kezelések esetén összcsíraszám log MPN értékében, spórás baktérium log MPN értékében és pH értékben.

Ezt követően kielemeztük ezeket a különbségeket. A mikorrhizával oltott lizimétereknél azt tapasztaltuk a kezelések hatásának vizsgálatakor, hogy a talajból felvehető Mn mennyiségénél a 12500 mgkg⁻¹ kezelés szignifikánsan magasabb értéket mutatott a kontroll, az 500 és az 1000 mgkg⁻¹ Mn-t tartalmazó liziméterekhez képest. A 2500 mgkg⁻¹ dózisú Mn-t tartalmazó cső nem különbözött szignifikánsan egyetlen másik kezeléstől sem.

A növények Mn tartalmában a 12500 mgkg⁻¹ kezelés szignifikánsan nagyobb eredményt mutatott, mint a többi kezelés.

A mikorrhizával nem oltott kezelések esetén a pH értékében a 2500 mgkg⁻¹ (7,8) Mn-t kapott liziméterben volt szignifikánsan a legmagasabb a pH érték. Szignifikánsan savanyúbb volt a talaj a kontroll (6,4) és 500 mgkg⁻¹-os (6) kezeléseknél.

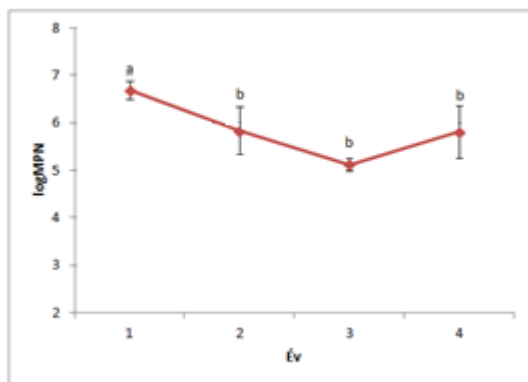
Az idő hatása a **mikorrhizával oltott** kezeléseknél a kitenyészthető spórás baktérium log MPN értéke az első évhez (5,8) képest a második évben magasabbak volt (6,7), majd az utolsó két évben az első évhez viszonyítva is alacsonyabb volt a sejtszám (4,7 és 4,2) (35. ábra).



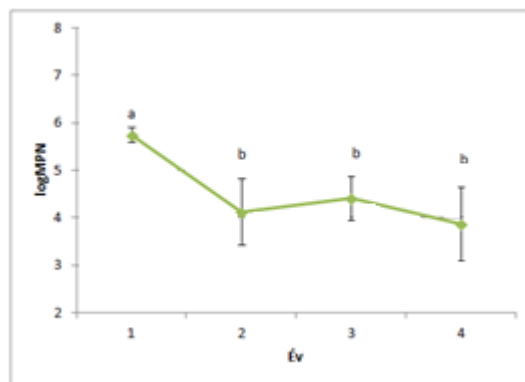
35. ábra: Mikorrhizával oltott kezeléseknél a kitenyészthető spórás baktériumok log MPN számának alakulása az idő függvényében. ($p=0,188$, $p>0,05$; $F(3;32)=2,587$; $p=0,07$)

A pH értékről elmondhatjuk, hogy az első évben az oltott kezeléseknél mért átlagos 6,4-ről a harmadik (7,2) és negyedik (7,3) évre igazolhatóan lúgosabbá vált a talaj kémhatása.

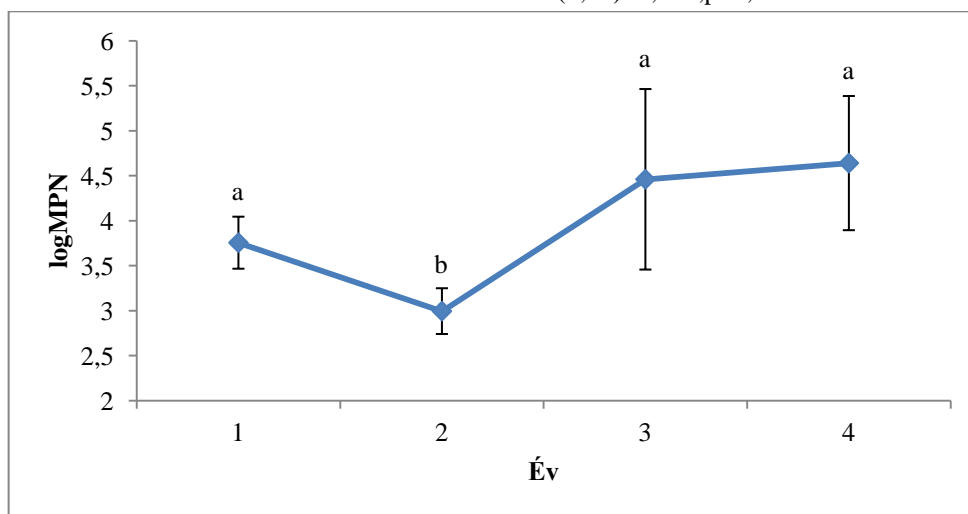
A **mikorrhizával nem oltott** kezelések mikrobiológiai hatását a 36.-38. ábrák szemléltetik. Idővel az élőcsíraszám log MPN értéke a kezdeti (1. év: 6,68) magasabb értékről szignifikánsan visszaesett a többi évben mért szintre (5,83; 5,12; 5,80) (36. ábra). A kitenyészthető gomba log MPN értékében az idő múlásával történt változást Games-Howell próbával vizsgáltuk és szignifikáns különbséget találtunk a 1. év (3,75) és a 2. év (2,99) között, valamint a második és negyedik év (4,64) között. Az 39. ábra grafikonján megfigyelhető, hogy a második évben tapasztalt statisztikailag is igazolt visszaesést leszámítva azonban nem volt szignifikáns különbség a kitenyészthető gombák esetén. A spórás baktériumok log MPN értékében (37. ábra) az idő azonos történést eredményezett, mint a összecsíra logMPN számában (36. ábra). A 36. és 37. ábrákon megfigyelhető a hasonló tendencia.



36. ábra: Kitenyészhető élőcsíraszám log MPN számának alakulása az idő függvényében ($p=0,151$; $p>0,05$; $F(3;32)=2,448$; $p=0,082$)



37. ábra: Kitenyészhető spóraszám log MPN számának alakulása az idő függvényében ($p=0,178$; $p>0,05$; $F(3;32)=0,952$; $p=0,427$)



38. ábra: Kitenyészhető gombák log MPN számának alakulása az idő függvényében. ($p=0,200^*$; $p>0,05$; $F(3;32)=4,311$; $p=0,012$)

A pH érték változásban ugyanaz a folyamat játszódott le, mint amit a mikorrhiza gombával oltott csövek esetén leírtunk. Az első évi savanyúbb (6,12) pH-nál egyre lúgosabb lett a talaj és a 4. évben már 7 volt az átlagos pH érték.

Az egyes tulajdonságok vizsgálata esetén találtunk szignifikáns különbségeket a Mn kezelésekre, illetve az idő hatására vonatkozóan a mikorrhiza gombával oltott liziméterek között, valamint a nem oltott csöveknél is. A 36. táblázat ezeket az eredményeket foglalja össze.

36. táblázat: A kezelések hatása a mikorrhiza gombával oltott és nem oltott liziméterekben

Faktor	Mikorrhizával oltott vagy nem oltott liziméter	Mely tulajdonságra hatása	vizsgált volt	Milyen hatása volt
Kezelés hatása	Oltott	talaj felvehető Mn tartalma		12500 mgkg ⁻¹ kezelés szignifikánsan a legmagasabb értéket mutatta
		növény Mn tartalma		12500 mgkg ⁻¹ kezelés szignifikánsan a legmagasabb értéket mutatta
	Nem oltott	talaj pH		2500 mgkg ⁻¹ kezelés szignifikánsan a legmagasabb értéket mutatta
Idő	Oltott	kitenyészthető gombák log MPN száma		a második két évben magasabb
		kitenyészthető spórás baktériumok log MPN száma		a második két évben alacsonyabb
		talaj pH		lúgosabb lett
	Nem oltott	kitenyészthető összcsírák log MPN száma		Első évhez képest a többi évben alacsonyabb
		kitenyészthető spórás baktériumok log MPN száma		Első évhez képest a többi évben alacsonyabb
		talaj pH		lúgosabb lett

Ezt követően a mikorrhiza gombával oltott, illetve nem oltott csöveket összehasonlítottuk és megvizsgáltuk, hogy az egyes tulajdonságok esetén statisztikailag igazolható-e különbség közöttük. A 4 év összesítésében nem volt statisztikailag igazolható különbség a mikorrhiza gombával oltott és a nem oltott liziméterek között. Azonban attól függően, hogy mikorrhiza gombával történt-e talajoltás, a 28. és 30. ábra alapján láthatóan volt eltérés a felvehető többlet Mn mennyiségében, illetve a 36. táblázat alapján látható, hogy a kezelések és az idő befolyásoló hatása is másként nyilvánult meg. Vagyis a mikorrhiza gomba jelenléte más „viselkedésre” ösztönözte az ott élő mikroba közösséget, bár az összesített eredményt szignifikánsan ez nem befolyásolt annak ellenére, hogy a tápanyagfeltárás, tápanyagtranszport és a stressz elviselésének elősegítése a szakirodalom alapján elvárt hatás lett volna a mikorrhiza oltások alkalmazása esetén.

Korreláció vizsgálat

A korreláció analízis eredményeit a 37. táblázat szemlélteti. A kezelésekkel a mikorrhiza gombával oltott csövekben a talaj felvehető mangán tartalma és a mikorrhiza gombával oltott liziméterekben a növények mangán tartalma mutatott erős korrelációt. Az idő a pH 24h-val pozitív korrelációt mutatott. Ezt előzőleg, már tárgyaltuk, amikor is a négy év folyamán megfigyelhető volt a talaj lúgosodása. Ez a pH emelkedés, pedig pozitívan hatott a mikorrhizával nem oltott csövekben a gombák log MPN számára és negatívan, az ugyan ilyen kezeléseknél mért spórás baktériumokra. A többi esetben a mangán mennyiség növényben, illetve talajban történt növekedését jelzik a korrelációk.

37. táblázat: A vizsgált tényezőkre vonatkozó korreláció analízis eredménye

Csoportok		Korreláció mértéke
idő	oltott gomba	0,720**
	oltott spórás baktérium	-0,744**
	nem oltott spórás baktérium	-0,750**
	oltott pH24 h	0,791**
nem oltott gomba	nem oltott pH30 min	0,707**
nem oltott spórás	nem oltott pH30 min	-0,818**
	nem oltott pH 24 h	-0,713**
oltott talaj felvehető Mn	kezelés	0,766**
	oltott növény Mn	0,829**
nem oltott talaj felvehető Mn	nem oltott talaj összes Mn	0,767**
	nem oltott növény Mn	0,923**
oltott talaj összes Mn	oltott növény Mn	0,997**
nem oltott össz. Mn	nem oltott talaj felvehető Mn	0,767**
oltott növény Mn	kezelés	0,829**
	oltott talaj felvehető Mn	0,930**
	oltott talaj összes Mn	0,997**
nem oltott növény Mn	nem oltott talaj felvehető Mn	0,923**

**=0,01-es szignifikancia szinten szignifikáns a korreláció.

5.6. MN TOLERÁNS TÖRZSEK IZOLÁLÁSA ÉS AZONOSÍTÁSA

Az 1. mintavétel mind a három izolátuma a spórás baktériumok Gram-pozitív sejtfalú szervezetek un. kis G+C mol %-ú törzsébe tartoznak, a *Bacillus* sp. nemzetség tagjai (100%). Pontosabb faji besorolásra a vizsgált V1-V9 variábilis régiót tartalmazó teljes 16S rRNS gén szakasza alapján nem volt lehetőség, mivel több *Bacillus* sp. fajjal is mutattak >98%-os azonosságot. Az 1. izolátomban az 1426 nukleotid hosszúságú parciális 16S rRNS gén szakasz 2 db (1 db Y=C vagy T; 1db R=A vagy G) polimorf nukleotidot tartalmazott. A 2. izolátumban az 1426 nukleotid hosszúságú parciális 16S rRNS gén szakasz 1 db (Y=C vagy T) polimorf nukleotidot tartalmazott. A 3. izolátumban az 1425 nukleotid hosszúságú parciális 16S rRNS gén szakasz 7 db (3 db Y=C vagy T; 4 db R=A vagy G) polimorf nukleotidot tartalmazott. Megnéztük mind a három beküldött mintánk esetén, hogy volt-e olyan faj, ami mindkét adatbázis szerint lehetett az izolátumunk (38. táblázat).

38. táblázat: Az NCBI és az Ez-Taxon-e adatbázis eredményeinek összevetése

	Mindkét adatbázis szerinti lehetséges faj	NCBI szerinti egyezés	NCBI szerinti eltérés	EzTaxon-e szerinti egyezés	EzTaxon-e szerinti eltérés
1. izolátum	siamensis	99%	2/1426	99,93%	1/1424
2. izolátum	pumilus	99%	8/1429	99,58%	6/1428
3. izolátum	amyloliquefaciens	100%	0/1418	99%	7/1425

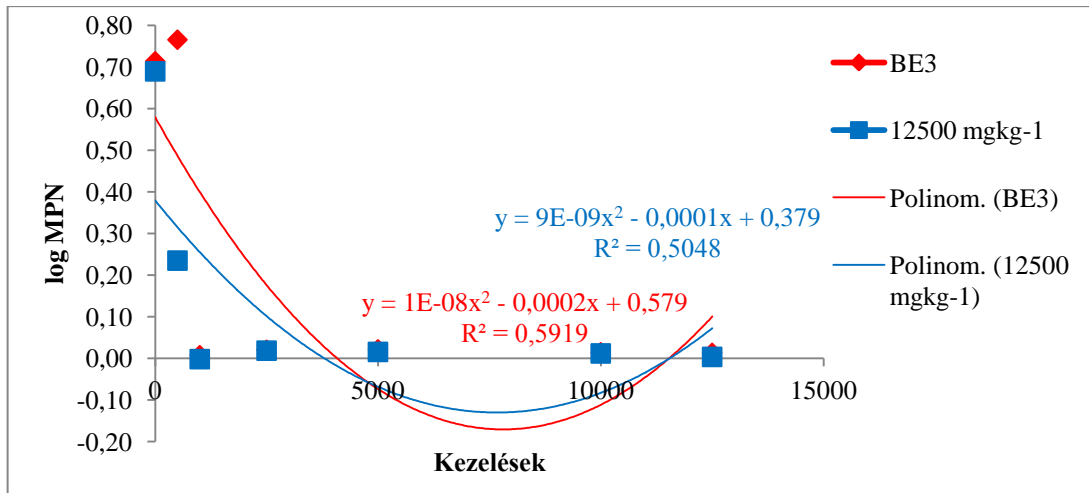
A Mn redukció jellemzően anaerob körülmények között megy végbe. A Mn redukáló baktériumok között megtalálhatóak *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Streptomyces* fajok is (Nogueira et al. 2007). A redukció biológiai és kémiai úton is végbe mehet. Ennek megfelelően az 1. évi mintavételből spóra képző fakultatív anaerob *Bacillus* fajokat azonosítottunk.

A 3. mintavételből származó izolátumokat Horváth (2017) és Farkas (2014) által már közöltük. A mikorrhiza gombával nem oltott 0 kezeléssel (kontroll), *Bacillus pumilus*-t

azonosítottunk, amelynek hasonlósági aránya 99,1% volt. A mikorrhiza gombával nem oltott 12.500 mgkg⁻¹ kezeléssel izolált törzsünk pedig 99,9% -os hasonlóságot mutatott az *Arthrobacter phenantrenivorans*-sal. További két izolátumról csak azt sikerült megállapítani, hogy azok szintén az *Arthrobacter* nemzetséghez tartozóak voltak. A hasonlósági arányuk 98,4% és 97,0% volt. A kontroll mintából izolált és az 1. mintavételből származó törzsekkel ellentétben az *Arthrobacter* genus tagjai nem spóráképzők, azaz az izolált törzs nem kitartóképlet segítségével élt túl a mangán-stressznek kitett környezetben. A 3. évre a a komplexebb mangán formák és a redukciós folyamatoknak köszönhetően, már megjelenhettek a mangán talajbéli átalakításának másik fontos szereplő is, a mangán oxidáló mikroorganizmusok. Hiszen a Mn oxidáció aerob körülményeket igényel és kizárólag biológiai úton megy végbe. A Mn oxidáló baktériumok számos nemzetsége ismert, mint a *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Variovorax* és *Ralstonia*, *Escherichia*, *Agromyces*, *Cellulomonas*, *Cupriavidus*, *Microbacterium* és olyan fajok, mint a *Leptothrix discophora*, *Citrobacter freundii* (Yang et al. 2013). Ezek a mikroorganizmusok sok esetben egy Mn-oxid tartalmú tokot képeznek maguk körül, amely védelmet nyújt a környezeti tényezőkkel szemben. Ezen baktériumok PGPR-ek, így hozzájárulhatnak a növény nehézfém stressz csökkentéséhez (Nicoară et al. 2013) és kedvező metabolizmusuknak, és adaptációjuknak köszönhetően élhetnek túl ilyen nagymértékű nehézfém stresszt. Míg a kontroll mintát érő és az 1. évben bekövetkezett hirtelen nehézfém stressz a kitartóképlettel rendelkező, fakultatív anaerob, Mn redukáló baktériumokra szelektált, később azonban már nemcsak a spórások nyerhettek teret, hanem olyan mikroba csoportok is, amik alkalmazkodtak a 3 év alatt a 12500 mgkg⁻¹-os mangánterheléshez. Ezen feltevéseinket bizonyítandó mangán-terhelési tesztekkel végeztünk az izolált törzsekkel.

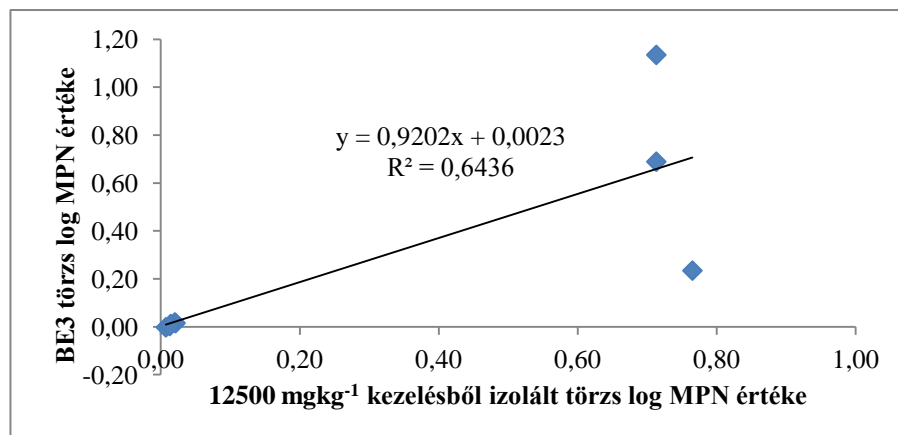
Mangán-terhelési teszt

A beazonosított törzseket és az egyik biológiailag effektív oltóanyagot a BE3-at 0, 500, 1000, 2500, 5000, 10000 és 12500 mg l⁻¹ Mn koncentrációjú folyékony táptalajokban szaporítottuk fel. Az 1. mintavétel során a 12500 mgkg⁻¹ mikorrhizával nem oltott kezeléssel izolált törzset (3 darab izolátum), ami nagy valószínűséggel *Bacillus amyloliquefaciens* és a BE3 (*Bacillus amyloliquefaciens*) törzs eredményeit a 39. ábra mutatja be. A BE3 oltóanyagot előzőleg Mn stressz nem érte, míg a másik törzs már egy éve igen magas Mn dózissal volt kitéve.



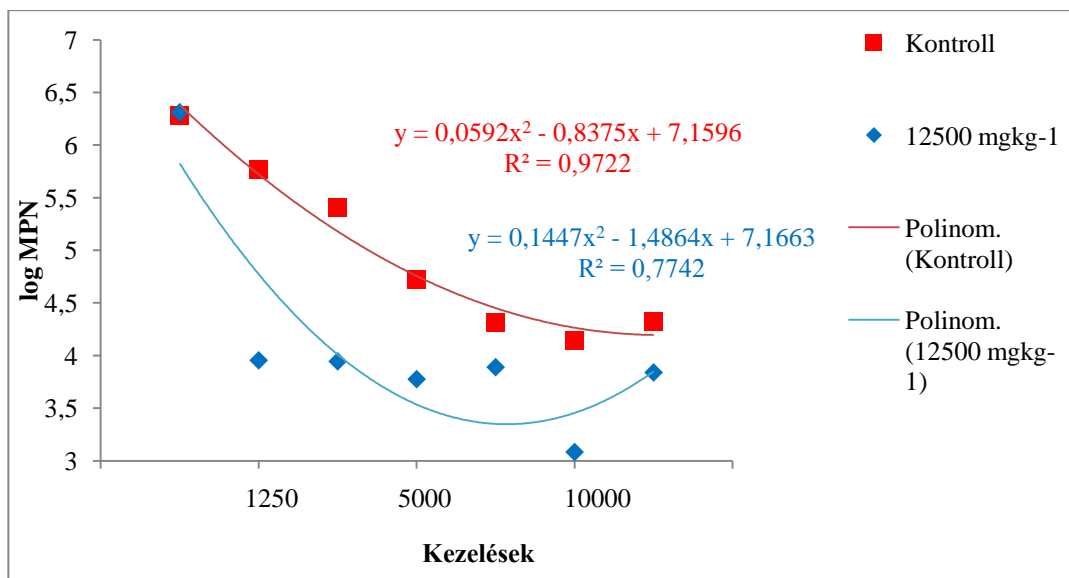
39. ábra: Az 1. mintavételből izolált *Bacillus amyloliquefaciens* (12500 mgkg⁻¹ kezelésből) és a biológiailag effektív oltóanyagok közül a BE3, ami szintén *Bacillus amyloliquefaciens* (kontroll) Mn terhelési tesztje

Amint az előzetes kísérleteknél is tettük, ebben az esetben is megvizsgáltuk, hogy a két törzs között a regresszió mértéke mekkora volt (40. ábra). Az elvártak szerint nem mutatott nagy hasonlóságot ($R^2=0,64$) a két törzs a Mn terhelésre adott válaszaikban.



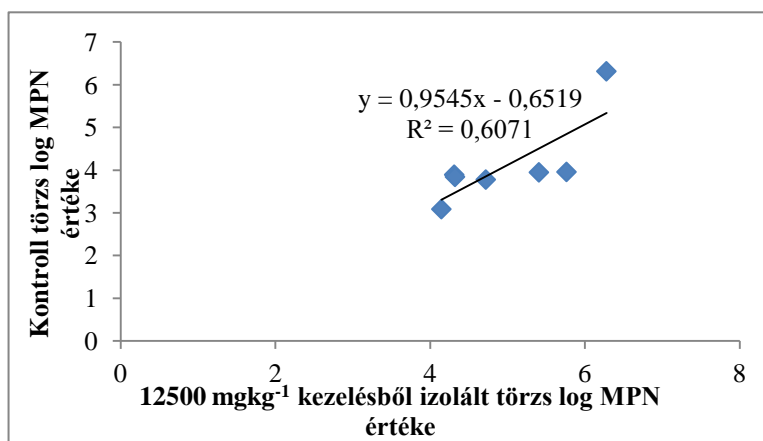
40. ábra: BE3 és az 1. mintavételből izolált két törzs közötti különbség regresszió vizsgálata

A 3. mintavételből származó a mikorrhiza gombával nem oltott 0 kezelésből (kontroll) izolált *Bacillus* nemzetséghez tartozó törzset és a szintén nem oltott 12500 mgkg⁻¹ kezelésből izolált *Arthrobacter* nemzetséghez tartozó törzset vizsgáltuk növekvő mangán dózisokat alkalmazva. Az 41. ábra mutatja be, a két törzs kitenyészthető sejtszámának változását.



41. ábra: 3. évi mintavételből izolált *Bacillus* nemzetséghez tartozó törzs (kontroll) és *Arthrobacter* nemzetséghez tartozó törzs (12500 mgkg⁻¹ kezelésből) két törzs Mn terhelési tesztje

A mangánra szenzitív törzsre kevésbé hatott a mangán stressz. A két törzs viselkedése közti hasonlóságot vizsgálva a 42. ábráról leolvasható, hogy az hasonlóan ($R^2=0,61$) alakult, mint a 40. ábrán bemutatott 1. mintavétel során folytatott kísérletnél. Kijelenthető tehát, hogy ebben az esetben sem mutatott a két törzs viselkedése nagy hasonlóságot, sőt a toleránsnak tekinthető törzs fitnessze gyengébb volt, mint a szenzitív, hiszen már a kisebb mangán dózisokra is fokozott sejtszám romlással válaszolt.



42. ábra: A 3. mintavételből izolált kontroll (*Bacillus*) és 12500 mgkg⁻¹ kezelésből izolált (*Arthrobacter*) törzsek regresszió vizsgálata

Mind a négy törzsnél megfigyelhető volt továbbá, hogy 10000 mgkg⁻¹ mangán koncentrációnál már egy igen erős gátlás alakult ki. Ez azonban a szabadföldi vizsgálatoknál egyetlen vizsgált mikroba csoport esetén sem nyilvánult meg. Nem volt szignifikáns eltérés tapasztalható a kezelések hatására. Annak ellenére sem, hogy a talaj adszorpciós kapacitása (2. táblázat) kicsi volt 10-20 mge/100g közötti érték, ami a fém toxicitás erősödését eredményezné, mivel a fém toxicitás és a T-érték között fordított arányosság van. Arra, hogy mégsem volt nagyobb mértékű toxicitás a növény nagymértékű akkumulációja lehet a magyarázat.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

A **biológiailag effektív oltóanyagok** sikerességét egy értékes és élelmiszer-minőségi szempontból kiemelendő tulajdonságban igazolták a vizsgálataink. A beltartalmi értékek közül az oltóanyagok képesek voltak javítani a bogyók Brix-fokát. Ezzel pedig az ökológiai körülmények között termelt és bioeffektív oltóanyagokkal kezelt paradicsom jobb íz hatáshoz képesek hozzájárulni, még alacsony foszfor ellátottsági szint mellett és kedvezőtlen csapadékeloszlás esetén is.

Megállapítható, hogy a mikrobák esetén is érvényes a Liebig-féle minimum-elv. Kísérleteinkben a talaj tápanyag ellátottsága megfelelő volt, kivéve a növények számára könnyen felvehető, csak a növények számára könnyen felvehető foszfor esetén állítottunk be ettől eltérő szinteket. Az alacsony szinteknél, így a foszfor bizonyult a mikrobiális talajoltóanyagok hatékonyságát korlátozó tápanyagnak.

A Biofactor projekt eredményei azt igazolták, hogy a BE 1-3 oltóanyagok képesek legyenek a növényi növekedést elősegíteni az ajánlott felvehető P szint a talajban minimum $65\text{-}80\text{ mgkg}^{-1}$ ($150\text{-}180\text{ mgkg}^{-1}\text{ P}_2\text{O}_5$).

A BE beoltás hozzájárulhat a talajban a szerves P forrásokból a mineralizációhoz. Annak azonban nem volt jele, hogy a BE oltóanyagok a nehezen oldódó P forrásokat mobilizálták volna.

A Biofactor projektnek egyéb megállapításai is voltak az általunk is vizsgált oltóanyagokkal kapcsolatban. Megfelelő foszfor ellátási szinten a BE 1-3 talajoltóanyagok által előidézett növényi növekedésserkentés korrelált a gyökér növekedéssel és sűrűséggel. Hatékonysági sorrendben: $\text{BE01} < \text{BE02} < \text{BE03}$. A BE3 FZB42 törzsről bizonyítást nyert, hogy jelen van a kukorica és paradicsom növények belső szöveteiben, függetlenül attól, hogy a vizsgált növény a növekedésének melyik szakaszában volt (fiatal és felnőtt növényekben egyaránt). Vagyis kijelenthető, hogy megfelelő foszfor ellátottság mellett a BE 1-3 oltások által indukált gyökérnövekedés, mint fő hatásmechanizmus a P és más tápanyagok nagyobb mértékű felvételét a (kukorica, paradicsom) növényekben javítani képes.

Az előzetes kísérletek és a szakirodalmi források összevételére alapján megállapítást nyert, hogy a stressz szindróma jelenségével számolni kell a talajlakó baktériumok nehézfém stresszre adott válaszreakciói során. Ezért a lineáris összefüggések helyett célszerűbb, ezt a válaszreakciót jobban leképezni tudó matematikai, statisztikai összefüggést keresni. A grafikus ábrázolásnál a lineáris regresszió helyett másodfokú polinomiális regresszió jobb közelítést ad.

A mangán stressznek, mint környezeti tényezőnek a vizsgálatáról összefoglalásul elmondható, hogy a Szarvas-1 energiafű fitoremediációra is alkalmasnak bizonyult az energia termelés mellett, hiszen a növekvő Mn-dózisokat a növény a gyökerében és a hajtásában sikeresen akkumulálta. Vizsgálataink alapján az *Elymus elongatus* L-Szarvas-1 Mn-stressz toleráns növénynek tekinthető, amely mangán szennyezett talajok rekultivációjára alkalmas. Az energiafű átlagos növekedése és a talajban előforduló kitenyészhető baktériumok és gombák abundanciája kiegyensúlyozott volt nem befolyásolta közvetlenül a megnövekedett Mn dózis. Közvetetten az idő előrehaladtával a talaj lúgosodásán keresztül a kitenyészhető gombák log MPN számára pozitívan, míg a kitenyészhető spórás baktériumokéra negatívan hatott. Így a talajban a mikrobiális közösség idővel változott, de folyamatosan segítette a növények mangán felvételét. Az első évben a spórás baktériumok jutottak jelentősebb szerephez a talajban, a mangán stressz és főleg a nem oldható mangán formák miatt. A stresszre adott válaszuk során az oldhatatlan mangán formákat komplexebb formába alakították át és redukálták a talaj

mikrobiontái. Ennek hatására a harmadik évben már *Arthrobacter* nemzetséghez tartozó baktériumok jelenlétét is bizonyítottuk. A talaj mikroorganizmusai jelentős szerepet töltenek be a Mn körforgalmában, a felvehető Mn mennyiségét a Mn oxidáló és redukáló mikrobák aránya is meghatározza. Az oxidáló baktériumok megjelenése ezt a helyreállt egyensúlyt igazolták. Az Úrkútról származó Mn-iszap ilyen módon felhasználható.

Az izolált és mangán terhelési teszttel vizsgált baktériumok dózis-érzékenysége nem volt azonos. A mangán stressznek előzetesen kitett és az érzékeny baktérium törzsek viselkedése eltért. A fém toxicitás eltolódik a fém érzékeny és toleráns egyedek miatt a populációban, így azt lehet mondani, hogy nem lehet külön küszöb értéket megállapítani az egyes törzsekre, inkább hely-specifikusan lehet megadni Bunemann et al. (2006).

A határérték megállapításkor figyelembe kell venni a helyspecifikus tényezőket, mint például a fémek természetes háttér-koncentrációját a talajban, másrészt, hogy nem lehet meghatározni a talajnak azt a fém koncentrációját vagy fém töltési arányát amely garantálja, hogy a mellékhatások kockázata nulla lesz. Bizonyos nehézfémek koncentrációi javíthatja mikrobiális közösség szerkezetét és a szén hasznosításának sokféleségét (Ding 2016). A előzőekben leírtak és a kutatásunk alapján a vizsgált területünkről megállapíthatjuk, hogy 12500 mgkg⁻¹ mennyiségben bekevert úrkúti mangán iszap terhelés nem számít toxikusnak a talaj kitenyészthető mikroba közösségére és a vizsgált *Elymus elongatus* L-Szarvas-1energiafüre nézve.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Kutatásunk során laboratóriumi, tenyészedenyes és szabadföldi kísérletekben vizsgáltuk egyes környezeti tényezőknek a kereskedelmi forgalomban is kapható mikrobiológiai talajoltóanyagokra gyakorolt hatásait. A vizsgált környezeti tényezők oltóanyagokra gyakorolt hatását a talajok fizikai, kémiai és mikrobiológiai tulajdonságainak, valamint az alkalmazott tesztnövény mért paramétereinek változásán keresztül mértük.

Az Európai Unió által támogatott Biofactor projekt keretében a **populációk és egyedek közti kölcsönhatásokat** vizsgáltuk biológiailag effektív kereskedelmi forgalomban lévő talajoltóanyagokkal a Szent István Egyetem Kertészettudományi Kar két Tanszékének a bevonásával. A tenyészedenyes kísérletek a Talajtan és Vízgazdálkodás Tanszékének fényszobájában, a szabadföldi kísérletek többnyire ugyanazokkal az oltóanyagokkal pedig az Ökológiai és fenntartható gazdálkodási rendszerek Tanszékhez tartozó Soroksári Tangazdaság Ökológiai Ágazatának területén folytak. A tenyészedenyes kísérleteket a szabadföldi kísérletek előzetes vizsgálataihoz állítottuk be és 2+10 hétig tartottak. A következő bioeffektor mikroorganizmusok hatásait vizsgáltuk: *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus amyloliquefaciens*. A kontroll edényekbe nem történt oltás a mikrobiológiai készítményekből. N és K kiegészítést követően, 0 mgkg⁻¹ foszforral, könnyen felvehető foszforral, tripla-szuperfoszfáttal (TSP), valamint nehezen felvehető Rock-foszfáttal (RP) kezeltük a tenyészedenyeket 12 kezeléskombinációban négy ismétlésben. Az alkalmazott tesztnövény a *Solanum lycopersicum* Mill. 'Mobil' féldeterminált paradicsomfajta volt.

A szabadföldi kísérletben a már előzőleg a tenyészedenyes kísérletben is vizsgált, az Európai Unió által rendelkezésünkre bocsátott oltóanyagokon túl hazai előállítású és forgalmazású termékeket is vizsgáltunk. A Biorex 1 (BR1) és Biorex 2 (BR2), valamint a TDM jelölésű hazai *Trichoderma* gomba törzset tartalmazó készítményeket 8 kombinációban 4-4 ismétlésben. Tápanyagból N és K utánpótlás történt a területen, a felvehető foszfor szintje alacsony volt.

Vizsgálataink alapján a következőket állapítottuk meg: A Biofactor projekt eredményeivel összhangban azt találtuk, hogy a talajoltóanyagok a növényi növekedést a talaj 65-80 mgkg⁻¹ felvehető foszfor szintje felett tudták segíteni. A BE3 (*B. amyloliquefaciens*), amitől a legjobb teljesítményt reméltük, 65 mgkg⁻¹ P szint alatt rontotta a növény teljesítményét, annak nem megfelelő tápláltsága miatt. A mi vizsgálataink azonban egy nagyon értékes tulajdonságban igazolták a BE oltóanyagok sikerességét, méghozzá a beltartalmi értékek közül az oltóanyagok képesek voltak javítani a bogyók Brix-fokát. Ezzel pedig a jobb íz hatáshoz képesek hozzájárulni, még alacsony foszfor ellátottsági szint mellett és kedvezőtlen csapadékeloszlás esetén is. Ez a tulajdonság nagymértékben teszi élvezetessé a termés fogyasztását, ami egy kertészeti növényünk esetén fontos szempont.

Stressz körülmények (nehézfém terhelés) között laboratóriumban vizsgáltunk az adott nehézfémre toleránsnak és szenzitívnek tekinthető baktérium törzseket, valamint szabadföldi liziméteres kísérletben vizsgáltuk a bennszülött törzsek túlélését nagy mennyiségű mangánterhelésnél mikorrhiza gombás oltással és a nélkül. A kísérlet helyszíne a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont Talajtani és Agrokémiai Intézet Órbottyáni kísérleti telepe volt. A 4 éves szabadföldi liziméteres kísérlet során a leásott liziméter csövek felső 20 cm-es talajrétegébe a Mn-izap növekvő dózisa (12. táblázat) kerültek bedolgozásra. Talajmintavételekre évente

egyszer, a vegetációs időszak végén került sor. A Mn-iszap pH értéke 7-7,7 körüli volt. Az iszapról készült vegyelemzés eredményeit a 13. táblázat mutatja be.

Az előzetes kísérletek és a szakirodalmi források összevetése alapján megállapítást nyert, hogy a stressz szindróma jelenségével számolni kell a talajlakó baktériumok nehézfém stresszre adott válaszreakciói során. Ezért a lineáris összefüggések helyett célszerűbb, ezt a válaszreakciót jobban leképezni tudó matematikai, statisztikai összefüggést keresni. A grafikus ábrázolásnál a lineáris regresszió helyett másodfokú polinomiális regresszió jobb közelítést ad.

A mangán elhelyezési kísérletről összefoglalásul elmondható, hogy a Szarvas-1 energiafű fitoremediációra is alkalmasnak bizonyult az energiatermelés mellett, hiszen a növekvő Mn-dózisokat a növény a gyökerében és a hajtásában akkumulálta. Vizsgálataink alapján az *Elymus elongatus* L-Szarvas-1 Mn-stressz toleráns növénynek tekinthető, amely mangán szennyezett talajok rekultivációjára alkalmas. Az energiafű átlagos növekedése és a talajban előforduló kitenyészhető baktériumok és gombák abundanciája kiegyensúlyozott volt, nem befolyásolta közvetlenül a megnövekedett Mn dózis. Közvetetten az idő előrehaladtával a talaj lúgosodásán keresztül a kitenyészhető gombák log MPN számára pozitívan, míg a kitenyészhető spórás baktériumokéra negatívan hatott, így a talajban a mikrobiális közösség idővel változott, de folyamatosan segítette a növények mangán felvételét. Az első évben a spórás baktériumok jutottak jelentősebb szerephez a talajban, a mangán stressz és főleg a nem oldható mangán formák miatt. A stresszre adott válaszuk során az oldhatatlan mangánformákat komplexebb formába alakították át és redukálták a talaj mikrobiontái. Ennek hatására a harmadik évben már *Arthrobacter* nemzetséghez tartozó baktériumok jelenlétét is bizonyítottuk. A talaj mikroorganizmusai jelentős szerepet töltenek be a Mn körforgalmában, a felvehető Mn mennyiségét a Mn oxidáló és redukáló mikrobák aránya is meghatározza. Az oxidáló baktériumok megjelenése ezt a helyreállt egyensúlyt igazolták. Vizsgálataink alapján, megállapítható, hogy az Úrkútról származó Mn-iszap ilyen módon felhasználható lenne.

Az izolált és mangán terhelési teszttel vizsgált baktériumok dózis-érzékenysége nem volt azonos. A mangán stressznek előzetesen kitett és az érzékeny baktérium törzsek viselkedése eltért. A fém toxicitás eltolódik a fém érzékeny és toleráns egyedek miatt a populációban, így nem lehet külön küszöb értéket megállapítani az egyes törzsekre, inkább hely-specifikusan lehet megadni (Bunemann et al. 2006).

A határérték megállapításkor figyelembe kell venni a helyspecifikus tényezőket, mint például a fémek természetes háttér-koncentrációját a talajban, másrészt, hogy nem lehet meghatározni a talajnak azt a fém koncentrációját vagy fém töltési arányát, amely garantálja, hogy a mellékhatások kockázata nulla lesz. Bizonyos nehézfémek koncentrációi javíthatják a mikrobiális közösség szerkezetét és a szén hasznosításának sokféleségét (Ding 2016). Az előzőekben leírtak és a kutatásunk alapján a vizsgált területünkről megállapíthatjuk, hogy 12500 mgkg⁻¹ mennyiségben bekevert úrkúti mangán iszapterhelés nem számít toxikusnak a talaj kitenyészhető mikroba közösségére és a vizsgált *Elymus elongatus* L-Szarvas-1energiafűre nézve.

8. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- ✚ Kimutattuk, hogy a talajoltóanyagok a termés minőségi tulajdonságait képesek szignifikánsan javítani. A vizsgált biológiailag effektív oltóanyagok közül egy többkomponensű (BR2) *Azotobacter chroococcum*; *Azospirillum lipoferum*; *Pseudomonas putida* és egy egykomponensű (BE3) *Bacillus amyloliquefaciens* a talaj alacsony foszfor ellátottsági szintjén is javította a paradicsom Brix-fokát. Ezzel hozzájárultak a paradicsom jobb ízhatásának kialakításához.
- ✚ Megállapítottuk, hogy a több törzset tartalmazó talajoltóanyagok nem feltétlenül hatékonyabbak az egykomponensűekhez viszonyítva, illetve ezt a talaj eredeti mikroba-összetétele befolyásolja.
- ✚ A Szarvas-1 energiafű az adott kísérleti elrendezésben fitoremediációra is alkalmasnak bizonyult. A növekvő Mn-dózisokat a növény a gyökerében tudta akkumulálni a mikorrhiza oltás hatására. A talajban a mikrobiális közösség idővel változott, de folyamatosan javította a növények mangán felvételét. A harmadik évre a mangán stressznek kitett talajban már a mangán redukáló és oxidáló baktériumok is jelen voltak. Vizsgálataink alapján az *Elymus elongatus* L-Szarvas-1 Mn-stressz toleráns növénynek tekinthető, amely mangán szennyezett talajok rekultivációjára alkalmas.
- ✚ A vizsgált területünkről megállapíthatjuk, hogy 12500 mgkg⁻¹ mennyiségben bekevert úrkúti mangán iszap terhelés nemszámít toxikusnak a talaj kitenyészthető mikroba közösségére és a vizsgált *Elymus elongatus* L-Szarvas-1 energiafűre nézve.

9. NEW SCIENTIFIC ACHIVEMENTS

- ✚ Microbial soil biofertilizers have shown significant improvement not only the quantitative, but also the qualitative value of the crop. Among the bioeffective inoculums, one of the multicomponent product (BR-2), containing *Azotobacter chroococcum*; *Azospirillum lipoferum*; *Pseudomonas putida* strains and a mono-component (BE-3) with *Bacillus amyloliquefaciens* strain also improved the Brix-degree of tomato even at low phosphorus levels. This phenomena/fact provided better taste of the tomato friuts.
- ✚ It has been found that soil inoculums, containing more than one strain, are not necessarily resulting a greater efficiency, than those products with only one-component strain. The inoculums are affected by the original, indigenous microbial composition of the soil.
- ✚ The "Szarvas-1" energy grass has been validates to be suitable for remediation purposes in the field-trial. Increasing Mn doses could be accumulating in the root of the host-plant due to the inoculation with arbuscular mycorrhiza fungi (AMF). The microbial community has changed in the soil over time but the inoculation continuously improved the growth of manganese-treated energy-grass. By the third year in the manganese-stressed soil manganese -reducing and oxidizing bacteria were already present. Based on the studies, *Elymus elongatus* L "Szarvas-1" can be considered as a Mn-tolerant plant, which is suggested for recultivation and remediation purposes in case of Mn-contamination.
- ✚ Considering the examined area and soils, it can be concluded that the amount of manganese (Mn) loaded in the Mn-sludge of the Úrkút Ore, industrial site can be even 12500 mgkg^{-1} in the soil, without toxicity to the soil- microbial community and to the *Elymus elongatus* L "Szarvas-1" energy-grass was tested/examined.

10. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

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. 2000. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 943-951.
2. Aleksandrova, L.N., Naidenova, O.A., (1976): *Laboratory Practice in Soil Science*. Kolos, Leningrad.
3. Almás A.R., Mulder, J., Bakken, L.R., (2005): Trace metal exposure of soil bacteria depends on their position in the soil matrix. *Environmental Science and Technology* 39: 5927-5932.
4. Alvino, A., Frusciante, L., Marti, L. M. (1980): Yield and quality traits of two new tomato varieties for peeling under different irrigation regimens. *Acta Horticulturae*, 100,173-180.
5. Anda, A., Burucs, Z., Kocsis, T. (2011): Globális környezeti problémák és néhány társadalmi hatásuk Digitális Tankönyvtár http://www.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop425/0032_fenntarthato_fejlodes/ch05.html
6. Antoun, H., Prévost, D. (2005): Ecology of plant growth promoting rhizobacteria Springer Z.A., Siddiqui (ed.). *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, 1-38.
7. Artursson, V., Finlay, R.D., Jansson, J. (2005): Combined bromodeoxy-uridine immunocapture and terminal-restriction fragment length polymorphism analysis highlights differences in the active soil bacterial metagenome due to *Glomus mosseae* inoculation or plant species. *Environmental Microbiology* 7:1952–1966.
8. Atzél, B. (2008): Bioaugmentációs eljárások biológiai monitoringja Doktori (PhD.) értekezés Szent István Egyetem Gödöllő
9. Austin, M.P., Smith, T.M., (1989): A new model for the continuum concept. *Vegetatio* 83, 35-47.
10. Balestrini, R., Salvioli, A., Dal Molin, A., Novero, M., Gabelli, G., Paparelli, E., Marroni, F., Bonfante, P. (2017): Impact of an arbuscular mycorrhizal fungus versus a mixed microbial inoculum on the transcriptome reprogramming of grapevine roots. *Mycorrhiza*; 27(5):417-430.
11. Ball, D.F., (1964): Loss-on-ignition as an estimate of organic matter and organic carbon in non-calcareous soils. *J. Soil Sci.* 15: 84–92.
12. Ballenger, R., di Gléria, J. (1962): *Talaj- és trágyavizsgáló módszerek*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest. 174. p
13. Barajas-Aceves, M., (2005): Comparison of different microbial biomass and activity measurement methods in metal-contaminated soils. *Bioresource Technology* 96, 1405–1414.
14. Baranyai, F., Fekete, A., Kovács, I. (1987): *A Magyarországi talajanalízisek eredményei* Budapest, Mezőgazdasági Kiadó
15. Bararunyeretse, P., Yao, J., Dai, Y., Bigawa, S., Guo, Z, Zhu, M (2017): Toxic effect of two kinds of mineral collectors on soil microbial richness and activity: analysis by microcalorimetry, microbial count, and enzyme activity assay. *Environ Sci Pollut Res Int.* (2):1565-1577.
16. Barea, J.M., Azcon-Aguilar, C., Azcon, R. (1987): Vesicular arbuscular mycorrhiza improve both symbiotic N₂-fixation and N-uptake from soil as assessed with a N technique under field conditions. *New Phytologist* 106. 717-725.

17. Barea, J.M., Azcon, R., Azcon-Aguilar, C. (1992): Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen-fixing systems. *Methods Microbiol.* 24: 391-416.
18. Barea, J.M., Azcon, R., Azcon-Aguilar, C. (2002): Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 81:343–351
19. Barea, J.M., Pozo, M.J., Azcon, R., Azcon-Aguilar, C. (2005): Microbial cooperation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 56, 417:1761-78.
20. Bashan, Y., Hernandez, L.A., Bacilio, M. (2002): Alginate microbeads as inoculant carriers for plant growth-promoting bacteria *BiolFertil Soils* 35:359-368 DOI:10.1007/s00374-002-0481-5
21. Bashan, Y., Holguin, G., de-Bashan, L. E. (2004): *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003) *Canadian Journal of Microbiology* 50: 521-577
22. Bánfalvi, G. (2011): "Heavy Metals, Trace Elements and their Cellular Effects". In Bánfalvi, G. *Cellular Effects of Heavy Metals.* Springer 3–28.
23. Bennet, H. (1986): *Concise Chemical and Technical Dictionary*, 4th enlarged ed., Edward Arnold, London 452.
24. Berendsen, R.L., Pieterse, C.M.J., Bakker, P.A.H.M. (2012): The rhizosphere microbiome and plant health *Trends in Plant Science* 17, 8: 478–486
25. Bethlenfalvai, G.J., Franson, R. (1989): The Glycine-Glomus-Bradyrhizobium symbiosis. IX. Nutritional, morphological and physiological responses of nodulated soybean to geographic isolates of mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Physiologist Plant.*, 76: 226–232. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1989.tb05637.x
26. Bihari, Z., Antal, Zs., Gyüre, P. (2008): *Természetvédelmi ökológia Digitális Tankönyvtár*
http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0032_okologia/ch02s02.html
27. Birkás, M. (2006): *Földművelés és földhasználat.* Mezőgazda Kiadó, Budapest, 203-224.
28. Biró, B., Jakab, J., Máté, A., Kecskés, M. (1980): Comparative investigations of *Coronilla Rhizobium* strains. *Acta Microbiologica Hungarica* 27: 254-255.
29. Biró, B., Szabó, I., Kecskés, M., Timári, S. (1984): Effect of herbicides and N-fertilizers on a rhizobium-legume system. Fight against hunger through improved plant nutrition. *Goltze-Druck Publ. Comp., Göttingen* 159-162.
30. Biró, B., Köves-Péchy, K., Vörös, I., Takács, T., Eggenberg, P., Strasser, R.J. (2000): Interrelation between *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixers and arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of alfalfa at sterile, AMF-free or normal soil conditions. *J. Applied Soil Ecology*, 15: 159-168.
31. Biró, B. (2002 a): Talaj és rhizobiológiai eszközökkel a fenntartható növénytermesztés és környezetminőség szolgálatában. *Acta Agronomica Hungarica* 50:77-85.
32. Biró, B., Pacsuta, J. (2002 b): Újgenerációs szemlélet és lehetőségek a talajbiológiai aktivitás és a talajtermékenység irányított fokozására, *Gyakorlati Agrofórum* 11:72-74.
33. Biró, B. (2006 a): A környezeti állapot megőrzésének, indikálásának és helyreállításának mikrobiológiai eszközei a növény-talaj rendszerben *Akadémiai doktori értekezés és tézisei*, 105+28. Magyar Tudományos Akadémia
34. Biró B., Köves-Péchy K, Tsimilli-Michael M, Strasser RJ (2006 b): Role of the beneficial microsymbionts on the plant performance and plant fitness. In: *Soil Biology, Vol. 7, Microbial Activity in the Rhizosphere* (eds: KG Mukerji, C Manoharachary, J Singh). Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 2006. p. 265-296.

35. Borriss, R. (2011): Use of plant-associated *Bacillus* strains as biofertilizers and biocontrol agents in agriculture. Maheshwari D. K. (ed.) *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. Singer-Verlag, Berlin, Germany 41-76
36. Brandt, S. (2007): A termesztési körülmények és a fajta hatása a paradicsom beltartalmi értékeire Doktori (PhD.) értekezés Szent István Egyetem Gödöllő
37. Braun, S.D., Hofmann, J., Wensing, A., Weingart, H., Ullrich, M.S., Spiteller, D. (2010): In vitro antibiosis by *Pseudomonas syringae* Pss22d, acting against the bacterial blight pathogen of soybean plants, does not influence in planta biocontrol. *J Phytopathol* 158: 288-295.
38. Brookes, P.C., McGrath, S.P., (1984): Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass. *Journal of Soil Science* 35, 341–346.
39. Bulgarelli D., Rott M., Schlaeppi K., Ver Loren Van Themaat E., Ahmadinejad N., Assenza F., et al. (2012). Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature* 488, 91–95 10.1038/nature1133
40. Bunemann, E.K., Schwenke, G.D., Van Zwieten, L., (2006): Impact of agricultural inputs on soil organisms – a review. *Australian Journal of Soil Research* 44, 379–406.
41. Buzás, I. (1983): A növénytáplálás zsebkönyve Mezőgazdasági Kiadó Budapest
42. Calderon, C.B., Sabundayo, B.P. (2007): Antimicrobial classifications: drugs for bugs. In Schwalbe R, Steele-Moore L, Goodwin AC. *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*. CRC Press. Taylor & Frances group
43. Carvalhais, L.C., Dennis, P.G., Fan, B., Fedoseyenko, D., Kierul, K., Becker, A., von Wiren, N., Borriss, R. (2013): Linking Plant Nutritional Status to Plant-Microbe Interactions *PLOS ONE* 8 (7), DOI: 10.1371/journal.pone.0068555
44. Chakravathy, S.K., Nagamani, A. (2007): Efficacy of non-volatile and volatile compounds of *Trichoderma* species on *Rhizoctonia solani* *J. Mycol. Plant Pathol.*, 37 82–86
45. Christensen H, Jakobsen I (1993): Reduction of bacterial growth by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in the rhizosphere of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Biol. Fertil. Soils*. 15: 253-258.
46. Chun, J., Huq, A., Colwell, R. R. (1999): Analysis of 16S–23S rRNA intergenic spacer regions of *Vibrio cholerae* and *Vibrio mimicus*. *Appl. Env.Microbiol.*,65:2202–2208.
47. Claridge, A.W., Trappe, J.M., Hansen, K. (2009): Do fungi have a role as soil stabilizers and remediators after forest fire? *Forest Ecology and Management* 257(3):1063-1069.
48. Cochran, W. G. (1949): Estimation of bacterial densities by means of the „Most Probable Number” *Biometrics* 6 (2): 105-116.
49. Csathó, P. (2002): Környezetkímélő növénytáplálás jegyzet, Környezet- és Tájjagazdálkodás. Szent István Egyetem, Gödöllő
50. Darvas, I., Polgár, A. L., Schwarczinger, I., Turóczy, Gy. (2008): A biológiai növényvédelem és helyzete Magyarországon MTA NKI, Budapest ISBN 978-963-87178-2-5
51. Deák, T., Kiskó, G., Maráz, A., Mohácsiné F., Cs. (2006): Élelmiszer mikrobiológia Mezőgazda Kiadó, Budapest
52. Degefu, T., Wolde-meskel, E., Woliy, K., Frostegárg, Á. (2017): Phylogenetically diverse groups of *Bradyrhizobium* isolated from nodules of tree and annual legume species growing in Ethiopia *Systematic and Applied Microbiology* 40 (4) 205-214

53. Del Val, C., Barea, J. M., Azcón-Aguilar C. (1999): Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungus Populations in Heavy-Metal-Contaminated Soils Appl. Environ. Microbiol. 65., 2: 718-723
54. Ding, Z., Jinping, W., Chunhai, J., Cougui, C. (2016): Analysis of Bacterial Community in the Rhizosphere of Rice subjected to Heavy Metal Pollution International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences DOI: 10.20546/ijcmas.2016.509.092
55. Donahue, R. L., Miller, R. W., Shickluna, J. H. (1977): Soils: an introduction to soils and plant growth (4 ed.). Inglewood Cliffs, New Jersey 07632: Prentice- Hall. 115-116.
56. Dudás, A., Szalai, Z.M., Vidéki, E., Wass-Matics, H., Kocsis, T., Végvári, Gy., Kotroczó, Zs., Biró, B. (2017a): Sporeforming Bacillus bioeffectors for healthier fruit quality of tomato in pots and field APPLIED ECOLOGY AND ENVIRONMENTAL RESEARCH 15:(4): 1399-1418
57. Dudás, A., Kotroczó, Zs., Vidéki, E., Wass-Matics, H., Kocsis, T., Szalai, M. Z., Végvári, Gy., Biró, B. (2017): Fruit quality of tomato affected by single and combined bioeffectors in organically system Pakistan Journal of Agricultural Sciences 54:(4) 847-856.
58. Djukic, I., Kepfer-Rojas, S., Kappel Schmidt, I., Steenberg Larsen, K., Beier, C., Berg, B., Verheyend, K., Seres A., Hornung E., Fekete I., Kotroczó Zs., Tóth Zs. (2018): Early stage litter decomposition across biomes. Science of The Total Environment 628-629: 1369-1394
59. D'Souza, M., Singha, S., Ingle, M. (1992): Lycopene concentration of tomato fruit can be estimated from chromaticity values. HortScience 27, (5) 465-466.
60. Elad, Y. Chet, I., Boyle, P., Henis, Y. (1983). Parasitism of Trichoderma spp. on Rhizoctonia solani and Sclerotium rolfsii – SEM studies and fluorescence microscopy. Phytopathology 73:85-88.
61. Elad, Y. (2000): Biological control of foliar pathogens by means of Trichoderma harzianum and potential modes of action Crop Prot., 19 (8-10) 709–714.
62. Endresz, G., Zöld-Balogh, Á., Kalapos, T. (2005): Local distribution pattern of *Brachypodium pinnatum* (Poaceae) – Field experiments in xeric loess grasland in North Hungary PHYTON (Horn, Austria) 45:249-265.
63. Fallik, E., Sarig, S., Okon, Y. (1994): Morphology and Physiology of plant roots associated with *Azospirillum* In: Okon, Y. ed. *Azospirillum*/Plant Associations. London CRC Press Inc. 77-86.
64. Farkas, J.(1985): A paradicsom biológiája. 19-63. p. In: Balázs S. Paradicsomtermesztés, Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 312 p.
65. Farkas, E. A. (2014): Fitotoxikus Mn dózisok elviselésének mikrobiológiai háttere homoktalajon Budapest Eötvös Loránd Tudományegyetem Msc szakkolgozat
66. Feddermann, N., Finlay, R.R., Boller, T., Elfstrand, M. (2010): Functional diversity in arbuscular mycorrhiza-the role of gene expression, phosphorous nutrition and symbiotic efficiency. Fungal Ecology 3:1–8.
67. Ferrera-Cerrato, R., Villerias, S.J. (1985): The VA endomycorrhiza and its effect of the development of three arboreous legumes, in: Proceedings of the Sixth North American Conference on Mycorrhizae held at Bend, Oregon, USA, 328.
68. Fekete, I., Lajtha, K. Kotroczó, Zs., Várbíró, G., Varga, Cs., Tóth, J.A., Demeter, I., Veperdi, G., Berki, I. (2017): Long term effects of climate change on carbon storage and tree species composition in a dry deciduous forest. Global Change Biology 23(8): 3154–3168.

69. Fekete, Z., Hargitai, L., Zsoldos, L. (1967): Talajtan és agrokémia. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
70. Felföldy, L.(1981): A vizek környezettana. Általános hidrobiológia. Mezőgazdasági Kiadó. Bp. 131-156.
71. Filep, Gy., Füleky, Gy., Stefanovits, P., (2010): Talajtan. Budapest.
72. Fleming, A. (1980): „Classics in infectious diseases: on the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae* by Fleming A., Reprinted from the British Journal of Experimental Pathology, 10: 226-236., 1929”. Rev. Infect. Dis. 2 (1):129–39. DOI:10.1093/clinids/2.1.129 PMID 6994200
73. Flexner, S. B. (1987): The Random House Dictionary of the English Language, 2nd ed., Random House, New York
74. Fodor, J., Gullner, G., Ádám, A. L., Barna, B., Kómíves, T., Király, Z. (1997): Local and Systemic Responses of Antioxidants to Tobacco Mosaic Virus Infection and to Salicylic Acid in Tobacco. Plant Physiology. 114, 1443-1451.
75. Fodor, F. (2013): A növényi anyagcsere élettana, egyetemi jegyzet, ELTE TTK Biológiai Intézet
76. Franche, C., Lindström, K., Elmerich, C. (2009): Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. Plant Soil 321:35-59.
77. Friedland, A. J. (1989): The movement of metals through soils and ecosystems In: Shaw, A.J. (ed.): Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. CRC Press, Inc., Boca Raton, 7-20.
78. Füleky, Gy. (1976a.): A talaj könnyen oldható P-tartalmának meghatározására használt kivonószerek vizsgálata I. Az AL-, DL-, CAL-, Bray I-, NaHCO₃-os, NaHCO₃+NH₄F-os és CaCl₂-os kivonószerekkel oldott P és szervesetlen foszfátfrakciók korrelációja. Agrokémia és Talajtan 25. 271-283.
79. Füleky, Gy. (1976b.): A talaj könnyen oldható P-tartalmának meghatározására használt kivonószerek vizsgálata II. Az AL-, DL-, CAL-, Bray I-, NaHCO₃-os, NaHCO₃+NH₄F-os és CaCl₂-os kivonószerekkel oldott P és szervesetlen foszfátfrakciók korrelációja. Agrokémia és Talajtan 25. 284-296.
80. Füleky, Gy. (2009):Geokémiai körfolyamatok egyetemi jegyzet, Gödöllő
81. Füleky, Gy., Sárdi, K. (2014): Tápanyag-gazdálkodás mezőgazdasági mérnököknek. Mezőgazda Kiadó, Budapest
82. Füzy, A. (2007): Néhány sziki növény és a rizoszféra mikroorganizmusok közötti interakciók Doktori értekezés, Gödöllő
83. Garbaye, J. (1994): Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis New Phytologist, 128 (2):197-210.
84. Gergely, J. (2004): Emlősök, rovarok és növények immunvédekezésének közös eredete és hasonlósága Védekezési mechanizmusok az élővilágban Magyar Tudomány, 2004/10 1064.
85. Gerretsen, F.C. (1948): The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant. Plant Soil 1:51-81.
86. Giller, K.E.; Beare, M.H.; Lavelle, P.; Izac A.-M.N.; Swift, M.J. (1997): Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function Applied Soil Ecology 6: 3-16
87. Giller, K.E., Witter, E., McGrath, S.P. (1998): Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils a review. Soil Biology and Biochemistry 30, 1389 1414.

88. Giller, K.E., Witter, E., McGrath, S.P. (2009): Heavy metals and soil microbes *Soil Biology & Biochemistry* 41: (2009) 2031–2037 DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.04.026
89. Godó, Z. (2011): *Agro-ökológia Digitális Tankönyvtár*
90. Goldman, G., Hayes, C., Harman, G. E. (1994): Molecular and cellular biology of biocontrol by *Trichoderma* spp. *Trends Biotechnol.* 12:478-482.
91. Grace, C., Stribley, D. P. (1991): A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research* 95: 1160-1162.
92. Graham, P.H. (1992): Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. *Canadian Journal Microbiology*, 38:475–484.
93. Grayston, S.J., Vaughan, D., Jones, D. (1997): Rhizosphere carbon flow in trees in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Applied Soil Ecology*, 5: 29–56.
94. Gruiz, K., Horváth, B., Molnár, M. (2001): *Környezettoxikológia. Műegyetemi Kiadó, Budapest*
95. Gulyás, F., Abdalla, T.E.B. (1987): Assessment of N₂-fixation by lucerne affected by NPK application and inoculation. *Proceedings of the 9th International Symposium on Soil Biology and Conservation of the Biosphere. Vol. 1 Akadémiai Kiadó Budapest*, 309-314.
96. Gveroska, B., Ziberoski, J. (2012): *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent against *Alternaria alternata* on tobacco *Appl. Technol. Innov.*, 7 (2), 67–76
97. Halder, A., Banerjee, J., Bhattachryya, K. Pramanik, K., Debnath, A. (2016): Isolation of lentil-specific salt tolerant nitrogen fixing bacteria from Murshidabad district of West Bengal *J. Crop and Weed*, 12(3): 14-19
98. Haoab, X., Taghavib, S., Xiea, P., Orbachc, M. J, Alwathnanid, H. A., Rensinge, C., Weia, G. (2014): Phytoremediation of heavy and transition metals aided by legume-rhizobia symbiosis In: *International Journal of Phytoremediation* 16 (2), 179-202.
99. Haran, S., Schickler, H., Oppenheim, A., Chet. I. (1996): Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. *Phytopathology* 86:980-985.
100. Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. (2004): *Trichoderma* species-Opportunistic, avirulent plant symbionts *Nat. Rev.*, 2 43–56
101. Harrier, L.A., Watson, C.A. (2003): The role of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable cropping systems. *Advances in Agronomy*, 79: 185–225.
102. Hasan, A., Fariduddin, Q., Ali, B., Ahmad, A. (2009): Cadmium Toxicity and tolerance in plant *Journal of Environmental Biology* ISSN : 0254-8704 30(2),165-174.
103. Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I. (2010): Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals Microbiol.*, 60 (4): 579-598.
104. Hegyi, Gy., Kardos, J., Kovács, M., Málnási-Czizmadia, A., Micsonai, A., Nyitray, L., Pál, G., Radnai, L., Reményi, A., Venekei, I. (2013): *Bevezetés a biokémiába gyakorlati jegyzet ELTE TTK Biológiai Intézet*
105. Helmecki, B. (1994): *Mezőgazdasági mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest*
106. Hellriegel, H., Wilfarth, H. (1888): *Untersuchungen über die Stickstoff-nahrung der Gramineen und Leguminosen. Beilageheft zu der Zeitschrift des Vereins für die*

- Rübenzucker-Industrie des Deutschen Reiches, Buchdruckerei der "Post." Kayssler & Co., Berlin
107. Helyes, L. (1999): A paradicsom és termesztése. Budapest: SYCA Szakkönyvszolgálat, 234. p.
 108. Helyes, L., Brandt, S., Pék, Z., Barna, É., Hóvári, J., Lugasi, A. (2002): Az oltás és a szedési időpont hatása a hajtított paradicsom beltartalmi összetevőire. *Kertgazdaság*, 34. 4:30-35
 109. Hertenberger, G., Zampach, P. Bachmann, G. (2002): Plant species affect the concentration of free sugars and free amino acids in different types of soil. *Journal Plant Nutrition and Soil Science*, 165, 557–565.
 110. Heszky, L., Fésüs, L., Hornok, L. (2005): *Mezőgazdasági biotechnológia* Agroinform, Budapest
 111. Hirsch, A. M. (2009): Brief history of the discovery of nitrogen-fixing organisms. Online Published www.mcdb.ucla.edu/Research/Hirsch
 112. Hoeksema, J.D., Chaudhary, B.V., Catherine, A.G., Johnson, N.C., Karst, J., Koide, R.T., Pringle, A., Zabinski Bever, J.D.C., Moore, J.C., Wilson, G.W.T., Klironomos, J.N., Umbanhowar, J. (2010): A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. *Ecology Letters* 13: 394-407.
 113. Horváth, E. (2011): Talaj- és talajvízvédelem online http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0021_Talajvizvedelem/ch01.html
 114. Horváth, N. (2017): Basics of research in soil remediation practices by using microbiological tools PhD értekezés Pannon Egyetem Fesztetics Doktori Iskola Keszthely
 115. Horváth, B., Pestiné, R.É.V. (2011): *Ökológia* http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0021_Okologia/ch03.html
 116. Howell, C.R. (1998): The role of antibiosis in biocontrol. In: Harman, G.E., Kubicek, C.P. (eds), *Trichoderma and Gliocladium*, Vol 2., Taylor and Francis Ltd., London, UK, 173-184.
 117. Howell, C.R. (2003): Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts *Plant Dis.*, 87, 4–10
 118. Inbar, J., Chet, I. (1992): Biomimics of fungal cell-cell recognition by use of lectin-coated nylon fibres. *J. Bacteriol.* 174: 1055-1059.
 119. Inbar, J., Chet, I. (1997): Lectins and biocontrol. *Crit. Rev. Biotechnol.* 17:1-20.
 120. Innerebner, G., Knief, C., Vorholt, J.A. (2011): Protection of *Arabidopsis thaliana* against Leaf-Pathogenic *Pseudomonas syringae* by *Sphingomonas* Strains in a Controlled Model System *Appl. Environ. Microbiol.* 77. 10: 3202-3210 DOI: 10.1128/AEM.00133-11
 121. Jay, S.S. (2013): Plant growth promoting rhizobacteria potential microbes for sustainable. *Agriculture Resonance*, 18 (3):275-281.
 122. Jakab, A. (2014): Műtrágyák és biokészítmények hatása a talaj mikrobiológiai aktivitására és termékenységére Doktori Értekezés, Debrecen
 123. Johnson, N.C., Gehring, C.A. (2007): Mycorrhizas: Symbiotic mediators of rhizosphere and ecosystem processes. In: *The Rhizosphere -- An Ecological Perspective*. Z. Cardon and J. Whitbeck, eds. Elsevier Academic Press, New York: 73-118.

124. Jones, D.L. (1998): Organic acids in the rhizosphere: a critical review. *Plant Soil* 205, 25-44.
125. Juhos K, Szabó Sz, Ladányi M. 2015. Influence of soil properties on crop yield: A multivariate statistical approach. *INTERNATIONAL AGROPHYSICS* 29:(4) pp. 433-440.
126. Kádár, I. (1999): Tápanyaggazdálkodás Magyarország homoktalajain MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest
127. Kafkas, S., Ortas, I. (2009): Various mycorrhizal fungi enhance dry weights, P and Zn uptake of four *Pistacia* species. *Journal of Plant Nutrition*, 32: 146–159.
128. Kalocsai, R., Schmidt, R. (2011): A mikroelemek növénytáplálási jelentősége [www.uis.hu/download/A mikroelemek novenytoplalasi jelentosege.pdf](http://www.uis.hu/download/A_mikroelemek_novenytoplalasi_jelentosege.pdf)
129. Kátai, J. (2011): Alkalmazott talajtan. Debreceni Egyetem, Nyugat-Magyarországi Egyetem, Pannon Egyetem, Digitális Tankönyvtár
130. Katznelson, H., Bose, B. (1959): Metabolic activity and phosphate dissolving capability of bacterial isolates from wheat roots, rhizosphere, and non-rhizosphere soil. *Can J Microbiol* 5:79-85.
131. Kecskés, M. (1976): Xenobiotikumok mikroorganizmusok és magasabb rendű növények közötti kölcsönhatások. Akadémiai doktori értekezés és tézisei, MTA, Budapest
132. Kerpely, K. (1896): Köztelek, p.p. 103-104., 1839-1842.
133. Khalvati, M.A., Hu, J., Mozafar, A., Schmidlalter, U. (2005): Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations and gas exchange of Barley subjected to drought stress. *Plant Biology*, 7:1-7
134. Kim, O. S., Cho, Y. J., Lee, K., Yoon, S. H., Kim, M., Na, H., Park, S. C., Jeon, Y. S., Lee, J. H. (2012): Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int J Syst Evol Microbiol* 62, 716–721.
135. Kingston, W. (2008): Irish contributions to the origins of antibiotics. *Irish journal of Medical Science* 177 (2), 87–92. DOI:10.1007/s11845-008-0139-x PMID 18347757
136. Király, Z. (2004): A növényi rezisztencia típusai és mechanizmusai Védekezési mechanizmusok az élővilágban *Magyar Tudomány*, 2004/10: 1090.
137. Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M.N. (1980): Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286, 5776:885-886
138. Kloepper, J.W., Lifshitz, R., Zablutowicz, R.M. (1989): Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*, 7:39–43.
139. Knief, C., Frances, L., Vorholt, J.A. (2010a): Competitiveness of diverse *Methylobacterium* strains in the phyllosphere of *Arabidopsis thaliana* and identification of representative models, including *M. extorquens* PA1. *Microb Ecol* 60: 440-452.
140. Knief, C., Ramette, A., Frances, L., Alonso, B.C., Vorholt, J.A. (2010b): Site and plant species are important determinants of the *Methylobacterium* community composition in the plant phyllosphere. *ISME J* 4: 719-728.
141. Kocsis, T., Biró, B., Kotroczó, Zs. (2018): Time-lapse effect of ancient plant coal biochar on some soil agrochemical parameters and soil characteristics. *Environmental Science And Pollution Research* 25(2): 990-999.

142. Koide, R.T. (1991): Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytologist*, 117: 365-386.
143. Kowalchuk, G.A., Yergeau, E., Leveau, J.H.J., Sessitsch, A., Bailey, M. (2010): Plant-associated microbial communities In: Lui, W., Jansson, J.K. (eds). *Environmental Molecular Microbiology* Caister Academic Press: New York. 131-148.
144. Kozák, L. (2008): Élőhely-kezelés Debreceni Egyetem TÁMOP 4.1.2. Digitális Tankönyvtár
145. Kődöböcz, L., Kárpáti, É., Dusha, I., Biró, B. (2005): Asszociatív nitrogénkötő oltóanyag törzsek túlélőképességét befolyásoló tényezők két potenciális vivőanyagban *Agrokémia és Talajtan* 54;1-2: 177-188.
146. Köves-Péchy, K., Bakondi-Zámory, É., Szegi, J. (1987): The effect of some pesticides on lucerne-Rhizobium symbiosis (szerk.) Szegi, J.: *Proceedings of the 9th International Symposium on Soil Biology and Conservation of the Biosphere* 1. 572 Akadémiai Kiadó, Budapest 387-394.
147. Köves-Péchy, K., Bakondi-Zámory, É., Szili-Kovács, T., Szegi, J. (1990): Investigation of natural Rhizobial populations in Hungarian soils, demonstrated on four leguminous plants 335-342 (szerk.) Szegi J.: *Soil Biology and Conservation of the Biosphere Proceedings of the 10th International Symposium on Soil Biology* *Agrokémia és Talajtan* 39: 606.
148. Kubicek, C.P., Mach, R.I., Peterbauer, C.K., Lorito, M. (2001): Trichoderma from genes to biocontrol *J. Plant. Pathol.* 83:11-23.;
149. Kucey, R. M. N.; Janzen, H. H.; Legget, M. E. (1989): Microbial mediated increases in plant available phosphorus. *Adv. Agron.* 42:199 - 228.
150. Lakanen, E., Erviö, R. (1971): A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soil. *Acta Agr. Fenn.* 123:223-232.
151. Lakzian, A., Murphy, P., Turner, A., Beynon, J.L., Giller, K.E. (2002): Rhizobium leguminosarum bv. viciae populations in soils with increasing Soil Biology & Biochemistry 34: 519-529.
152. Láng, I. (szerk.) (2002): *Környezet és természetvédelmi lexikon I-II.* Akadémiai Kiadó. Budapest 1256.
153. Landsberg, H. (1949): Prelude to the discovery of penicillin. *Isis* 40 (3): 225–227. DOI:10.1086/349043
154. Lékfeldt JDS, Rex M, Lékfeldt JDS, Rex M, Tlustoš P, Magid J, de Neergaard A (2016): Effect of bioeffectors and recycled P-fertiliser products on the growth of spring wheat. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 3:22 DOI 10.1186/s40538-016-0074-4
155. Li, P., Zhang, T., Wang, X., Yu, D., 2013. Development of biological soil quality indicator system for subtropical China. *Soil & Tillage Research* 126, 112–118.
156. Li M., Cozzolino V., Mazzei P., Monda H., Drosos M., Piccolo A (2017) Effects of microbial bioeffectors and P amendments on P forms in a maize cropped soil as evaluated by ³¹P-NMR spectroscopy. *Plant Soil* in press
157. Libisch, B., French, H. K., Hartnik, T., Anton, A., Biró, B. (2012): Laboratory-scale evaluation of a combined soil amendment for the enhanced biodegradation of propylene glycol-based aircraft de-icing fluids *Environmental Technology* 33. 6. 717-724
158. Lisansky, S. G., Quinlan, R. J., Coombs, J. (1997): *Biopesticides: Markets, Technology, Registration & IPR Companies.* 578. 4th edition. CLP Scientific Information Services Limited.

159. Lozet, J., Mathieu, C. (1991): Dictionary of Soil Science, 2nd ed., A. A. Balkema, Rotterdam
160. Lőrincz, Zs. (2011): Mesterséges nitrogénkötő együttélések tanulmányozása *in vitro* szamóca- baktérium asszociációban és egysejtű zöldalga-baktérium- gomba modellrendszerben Doktori értekezés, Budapest
161. Lugtenberg, B., Kamilova, F. (2009): Plant-growth-promoting rhizobacteria, Annual Review of Microbiology 63:541–556.
162. Lundberg D. S., Lebeis S. L., Paredes S. H., Yourstone S., Gehring J., Malfatti S., et al. (2012). Defining the core Arabidopsis thaliana root microbiome. Nature 488, 86–90 10.1038/nature11237
163. Manninger, E., Kerpely, A., Zámory, É. (1960): Adatok a rhizobium-baktériumokkal végzett tenyészedény kísérletek megbízhatóságához Agrokémia és Talajtan 9: 11-18.
164. Manninger, E., Kővári, B. (1983): Rhizobium-törzsek izolálása és hatékonyságuk vizsgálata 1981-ben Agrokémia és Talajtan 32: 225-238.
165. Mantelin, S., Touraine, B. (2004): Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. Journal of Experimental Botany 55:27-34.
166. Marschner, H., Dell, B. (1994): Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil, 159: 89-102.
167. Marschner, H. (1995): Mineral nutrition of higher plants, Academic Press, London
168. Matics, H. (2008): Mezofil és termofil gomba oltóanyagok vivőanyagainak összehasonlító vizsgálata BIOHULLADÉK 3:(1) 17-20.
169. Matics, H., Kaltenecker, B., Horváth, N.; Biró, B. (2013 a): Az adaptáció szerepe borsó gyökérgümő-baktériumok Cr- és Zn-érzékenységének alakulására XVII. Apáczai-nap Tudományos konferencia Mobilis in mobili: egyszerűség és komplexitás a tudományokban tanulmánykötet szerk: Lőrincz Ildikó 30-37.
170. Matics, H., Ferenczy, A., Domonkos, M., Horváth, N., Biró, B. (2013 b): Cink és nikkel hatásának vizsgálata két szerveződési szinten bio-tesztekkel Publikáció In: Újabb kutatási eredmények a növénytudományokban. DE tudományos képzési műhelyeinek támogatása TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0024. ISBN 978-615-5183-40-9 Szerk: Sándor Zsolt, Szabó András Debrecen, 35-40.
171. Matics, H., Tiricz, H., Horváth, N., Biró, B. (2013 c): Érzékeny és toleráns rhizobiumok szaporodása növekvő toxikus elem dózisok függvényében Publikáció In: Fiatal kutatók az egészséges ételmiszerért. DE tudományos képzési műhelyeinek támogatása TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0024. ISBN 978-963-473-601-1 Szerk: Bódi Éva, Fekete István, Kovács Béla, Debrecen, 141-146.
172. Matics, H., Biró, B. (2013): History of soil fertility enhancement with inoculation methods. A termékenység javító baktériumos talajoltás történeti áttekintése. JOURNAL OF CENTRAL EUROPEAN AGRICULTURE 16:(2): 231-248.
173. Marschner, P., Crowley, D.E., Higashi, R.M. (1997): Root exudation and physiological status of a root-colonizing fluorescent pseudomonad in mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant and Soil 189 (1): 11-20.
174. Marschner, P., Crowley, D.E., Lieberei, R. (2001): Arbuscular mycorrhizal infection changes the bacterial 16S rDNA community composition in the rhizosphere of maize. Mycorrhiza. 11: 297-302
175. Márton, L. (2012): Crop demand of manganese Environ Geochem Health 34:123-134.

176. Mayanna, S., Schäffner, F., Gube, M., Merten, D., Kothe, E., Büchel, G. (2012): Isolation and characterization of manganese-oxidizing bacteria (MOB) from a former uranium mining district, contaminated with heavy metals. Book of proceedings 5th International Symposium on Biosorption and Bioremediation 29-32.
177. McLaughlin, M.J., Smolders, E., (2001): Background zinc concentrations in soil affect the zinc sensitivity of soil microbial processes – a rationale for a metalloregion approach to risk assessments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 2639–2643.
178. Medina, A., Azcon, R. (2010): Effectiveness of the application of arbuscula mycorrhiza fungi and organic amendments to improve quality and plant performance under stress conditions *Journal of Soil Science Plant Nutrition* 10 (3): 354-372.
179. Mertens, J., Degryse, F., Springael, D., Smolders, E., (2007): Zinc toxicity to nitrification in soil and soilless culture can be predicted with the same biotic ligand model. *Environmental Science and Technology* 41, 2992–2997.
180. Millaleo, R., Reyes-Diaz, M., Ivanov, A.G., Mora, M.L., Alberdi M. (2010): Manganese essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms *Journal of soil science and plant nutrition* 10 (4): 470 - 481 (2010) doi /10.4067/S0718-95162010000200008
181. Miransari, M., Smith, D.L. (2008): Using signal molecule genistein to alleviate the stress of suboptimal root zone temperature on soybean–*Bradyrhizobium* symbiosis under different soil textures. *Journal of Plant Interactions*, 3:287–295.
182. Miransari, M. (2011): Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 89:917-930.
183. Morris, C. (1992): *Academic Press Dictionary of Science and Technology*, Academic Press, San Diego
184. Nebbioso, A., De Martino, A., Eltlbany, N., Smalla, K., Piccolo, A. (2016): Phytochemical profiling of tomato roots following treatments with different microbial inoculants as revealed by IT-TOF mass spectrometry. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 20163:12 DOI: 10.1186/s40538-016-0063-7
185. Neilson, A. H., Allard, A.-S. (2013): *Organic Chemicals in the Environment: Mechanisms of Degradation and Transformation* 2nd ed. Taylor & Francis CRC Press 159-162.
186. Németh, T. (2006): Nitrogen in the soil-plant system, nitrogen balance. *Cereal Research Communications* 34: 61–64.
187. Nieboer, E., Richardson, D.H.S. (1980): The replacement of the nondescript term “heavy metals” by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Env. Pollut. B1*, 3-26.
188. Nikitin, B.A., (1999): A method for soil humus determination. *Agric. Chem.* 3: 156–158.
189. Nkebiwe, P.M., Weinmann, M., Müller, T. (2016): Improving fertilizer-depot exploitation and maize growth by inoculation with plant growth-promoting bacteria: from lab to field. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 3:15 DOI: 10.1186/s40538016-0065-5
190. Nkebiwe, P.M., Neumann, G., Müller, T. (2017): Densely rooted rhizosphere hotspots induced around subsurface NH₄⁺-fertilizer depots: a home for soil PGPMs? *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* (under Review)

191. Nogueira, M. A. & Nehls, U. & Hampp, R. & Poralla, K. & Cardoso, E. J. B. N.. Mycorrhiza and soil bacteria influence extractable iron and manganese in soil and uptake by soybean. 2007. *Plant Soil* 298: 273–284.
192. Nunes, I., Jacquioid, S., Brejnrod, A., Holm, P. E., Johansen, A., Brandt, K. K., Sorensen, S. J. (2016): Coping with copper: legacy effect of copper on potential activity of soil bacteria following a century of exposure. *F E M S Microbiology Reviews*, 92(11), 175. DOI: 10.1093/femsec/fiw175
193. Olsen, P. E., Sanda, E. S., Keyser, H. H. (1996): The enumeration and identification of Rhizobial bacteria in legume inoculant quality control procedures. NifTAL Center, USA, 96.
194. Orlov, D.S., Grisina, L.A., (1981): Guide in Chemistry of Humus. MGU, Moscow
195. Oorts, K., Bronckaers, H., Smolders, E., (2006): Discrepancy of the microbial response to elevated Cu between freshly spiked and long-term contaminated soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25, 845–853.
196. Oorts, K., Ghesquiere, U., Smolders, E., (2007): Leaching and aging decrease nickel toxicity to soil microbial processes in soils freshly spiked with nickel chloride. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26, 1130–1138.
197. Ortas, I., Kaya, Z., Cakmak, I. (2001): Influence of VA mycorrhiza inoculation on growth of maize and green pepper plants in phosphorus and zinc deficient soils. In *Plant Nutrition: Food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied research* 632-633.
198. Ortas, I. (2003): Effect of selected mycorrhizal inoculation on phosphorus sustainability in sterile and non-sterile soils in the Harran Plain in south Anatolia. *Journal of Plant Nutrition*, 26: 1-17.
199. Petti, C.A., Polage, C.R., Schreckenberger, P. (2005): The role of 16S rRNA gene sequencing in identification of microorganisms misidentified by conventional methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 43 (12) 6123-6125.
200. Pitt, J. I., Hocking, A. D. (1997): *Fungi and Food Spoilage*. 2nd ed., Blackie Academic and Professional, London 593
201. Polgári, M., Hein, J.R., Vigh, T., Szabó-Drubina, M., Fórizs, I., Biró, L., Müller, A., Tóth, A.L. (2012): Microbial processes and the origin of the Úrkút manganese deposit, Hungary *Ore Geology Reviews* 47:87-109.
202. Qiao JQ, Wu HJ, Huo, RGao XW, Borriss R (2014) Stimulation of plant growth and biocontrol by *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 engineered for improved action. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 1:12
203. Quilambo, O. A. (2003): The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis, *African Journal of Biotechnology*, 2:539-546.
204. Rao, S.N., Anahosur, K.H., Kulkarni, S. (2004): Evaluation of antagonistic microorganisms against *Sclerotium rolfsii* causing wilt of potato *J. Mycol. Plant Pathol.*, 34, 298–299
205. Renella, G., Chaudri, A.M., Brookes, P.C., (2002): Fresh additions of heavy metals do not model long-term effects on microbial biomass and activity. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 121–124.
206. Richardson, A. E., Barea, J-M., McNeill, A. M., Prigent-Combaret, C. (2009): Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil* 312:305-339
207. Saha, R., Saha, N., Donofrio, R.S., Bestervelt, L.L. (2013): Microbial siderophores: a mini review *Journal of Basic Microbiology* 53, 4, 303–317, DOI: 10.1002/jobm.201100552

208. Salamone, I. E., Hynes, R. K., Nelson, L. M. (2005): Role of cytokinins in plant growth promotion by rhizosphere bacteria. *PGPR:Biocontrol and Biofertilization*, Springer 173-195.
209. Sándor, R. (2014): A talaj-növény-légkör rendszer modellezésének léptékfüggő problémái Ph.D. értekezés, Szeged
210. Schippers, B., Geels, F.R., Hoekstra, O., Lamers, J.G., Maenhout, C.A., Scholte, K. (1985): Yield depressions in narrow rotations caused by unknown microbial factors and their suppression by selected pseudomonads In: *Ecology and management of soilborne plant pathogens*. St. Paul (MN): The Amer. Phyt. Soc., 462, 127-130.
211. Schirmböck, M., Lorito, M., Wang, Y.L., Hayes, C.K., Arsian-Atac, I., Scala, F., Harman, G.E., Kubicek, C.P. (1994): Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptabiol antibiotics: molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi *Appl. Environ. Microbiol.* 60:4364-4370.
212. Schnürer, J., Rosswall, T., (1982.a): Estimation of the hydrolysis of fluorescein diacetate. In: Alf Kassen; Nannipieri Paolo (eds.) (1995) *Methods in Applied Soil Microbiology and Biotechnology*. Academic Press. 232-233.
213. Schnürer, J., Rosswall, T., (1982.b); Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied Environmental Microbiology*, 43: 1256-1261.
214. Schreiter S, Ding GC, Heuer H, Neumann G, Sandmann M, Grosch R, Kropf , Smalla K (2014): Effect of the soil type on the microbiome in the rhizosphere of fieldgrown lettuce. *Front Microbiol.* 2014 Apr 8;5:144. doi: 10.3389/fmicb.2014.00144
215. Schreiter S, Sandmann M, Smalla K, Grosch R (2014): Soil type dependent rhizosphere competence and biocontrol of two bacterial inoculant strains and their effects on the rhizosphere microbial community of field-grown lettuce. *PLoS ONE* 9: 1-11
216. Şeker, C., Hüseyin Özyaytekin, H., Negiş, H., Gümüş, I., Dedeoğlu, M., Atmaca, E., Karaca, Ü., 2017. Assessment of soil quality index for wheat and sugar beet cropping systems on an Entisol in Central Anatolia. *Environmental Monitoring and Assessment* 189:135 DOI 10.1007/s10661-017-5848-z.
217. Selvaraj, T., Chellappan, P., (2006): Arbuscular mycorrhizae: A diverse personality *Journal of Central European Agriculture* 7 (2):349-358.
218. Sharma, K.L., Kusuma Grace, J., Suma Chandrika, M., Vittal, K.P.R., Singh, S.P., Nema, A.K., Chauhan, S.P.S, Maruthi Sankar, G., Mandal, U.K., Korwar, G.R., Venkateswarlu, B., Ramesh, G., Ravindra Chary, G., Madhavi, M., Gajbhiye, P.G., Lal, M., Satish Kumar, T., Usha Rani, K., 2014. Effects of soil management practices on key soil quality indicators and indices in pearl millet (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke)-based system in hot semi-arid inceptisols. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 45, 785–809.
219. Shionoya, S., Yen, W. M., Yamamoto, H. (2006): *Phosphor Handbook* 2. Auflage, CRC Press, Boca Raton, FL, 153
220. Simon, L., Tamás, J., Kovács, E., Kovács, B., Biró, B. (2006): Stabilisation of metals in mine spoil with amendments and growth of red fescue in symbiosis with mycorrhizal fungi. *Plant, Soil and Environment*, 52: 385-391.
221. Singh, D. (2007): Role of fungicides and biocontrol agents in the management of fusarial wilt of chilli J. *Mycol. Plant Pathol.*, 37, 361–362

222. Singer, M. J., Donald, N. M. (2006): Soils: an Introduction. Pearson Education Inc. New Jersey
223. Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L. (1998): Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium* In: Harman GE, KubicekCP (eds.) *Trichoderma and Gliocladium* Taylor and Francis, London 139-192.
224. Smith, S.B., Bowen, G.D., (1979): Soil temperature, mycorrhizal infection and nodulation in *Medicago Inoculum* and *Trifolium subterraneum*. *Soil Biology and Biochemistry* II, 469-473.
225. Smolders, E., Buekers, J., Oliver, I., McLaughlin, M.J., (2004): Soil properties affecting toxicity of zinc to soil microbial properties in laboratory-spiked and field-contaminated soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23, 2633–2640.
226. Smolders, E., Oorts, K., Van Sprang, P., Schoeters, I., Janssen, C.R., McGrath, S.P., McLaughlin, M.J., (2009): The toxicity of trace metals in soil as affected by soil type and ageing after contamination: using calibrated bioavailability models to set ecological soil standards. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28, 1633–1642.
227. Stefanovits, P. (1981): Talajtan. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
228. Stefanovits, P., Filep, GY., Füleky, GY. (1999) : Talajtan. Mezőgazda Kiadó, Budapest
229. Stevens, M. A., Kader, A. A., Albright- Holton, M., Algari, M. (1977): Genotypic variation for flavour and composition in fresh market tomatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 102, 680-689.
230. Stöven, K., Rogasik, J., Schnug, E., Al-Issa, A., Kratz, S. (2005): Effect of long term sewage sludge applications on micro-organisms in an arable soil *Landbauforschung Völkenrode* 55, 4:219-226
231. Subba-Rao, N.S. (1985): Effect of combined inoculation of *Azospirillum brasilense* and vesicular arbuscular mycorrhiza on pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Plant Soil* 81: 283-286.
232. Swisher, R., Carroll, G.C. (1980): Fluorescein diacetate hydrolysis as an estimator of microbial biomass on coniferous needle surfaces. *Microbial Ecology* 6, 217–226.
233. Sylvia, D., Fuhrmann, J., Hartel, P., Zuberer, D. (2005): Principles and Applications of Soil Microbiology. Pearson Education Inc. New Jersey
234. Sykes, R. (2001): „Penicillin: from discovery to product”. *Bulletion World Health Organization*, 79 (8), 778.
235. Szabó, I. M. (1988): A bioszféra mikrobiológiája I-III 1-2476.
236. Szabó, Sz., Csámer, Á. (2002): Környezetföldrajz-földtan, Eszterházy Károly Főiskola, főiskolai jegyzet, 110-116.
237. Szabó Sz., Juhos K., Gosztonyi Gy. 2009. Az üledék nehézfém tartalmának statisztikai elemzése a Felső-Tisza hullámterén. *Hidrológiai Közlemény* 89 (1): 50-54.
238. Szegi, J. (1979): Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
239. Szende, K. (1987): *Növénytermelés* 36: 125-133.
240. Tayebi, B., Ahangar, A. G. (2014): The influence of heavy metals on the development and activity of soil microorganisms *The International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences* 4, 4: 74-85
241. Taylor, A. (1986): Some aspects of the chemistry and biology of the genus *Hypocrea* and its anamorphs *Trichoderma* and *Gliocladium* *Proc. Nova Scotia Inst. Sci.* 36: 27-58.

242. Thakali, S., Allen, H.E., Di Toro, D.M., Ponizovsky, A.A., Rooney, C.P., Zhao, F.J., McGrath, S.P., (2006): A terrestrial biotic ligand model. 1. Development and application to Cu and Ni toxicities to barley root elongation in soils. *Environmental Science and Technology* 40, 7085–7093.
243. Thonar, C., Lekfeldt, J.D.S., Cozzolino, V., Kundel, D., Kulhánek, M., Mosimann, C., Neumann, G., Piccolo, A., Rex, M., Symanczik, S., Walder, F., Weinmann, M., de Neergaard, A., Mäder, P. (2017): Potential of three microbial bio-effectors to promote maize growth and nutrient acquisition from alternative phosphorous fertilizers in contrasting soils *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 4:7 DOI 10.1186/s40538-017-0088-6.
244. Tóth, J. A., Nagy, P. T., Krakomperger, Zs., Veres, Zs., Kotroczó, Zs., Kincses, S., Fekete, I., Papp, M., Lajtha, K. (2011): Effect of litter fall on soil nutrient content and pH, and its consequences in view of climate change (Síkfőkút DIRT Project). *Acta Silvatica et Lignaria Hungarica* 7: 75-86.
245. Tóth, J. A., Nagy, P. T., Krakomperger, Zs., Veres, Zs., Kotroczó, Zs., Kincses, S., Fekete, I., Papp, M., Mészáros, I., Viktor, O., (2013): The Effects of Climate Change on Element Content and Soil pH (Síkfőkút DIRT Project, Northern Hungary). In: J. Kozak, et al. (eds.), *The Carpathians: Integrating Nature and Society Towards Sustainability*, Environmental Science and Engineering, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 77-88.
246. Trouvelot, A., Kough, J.L., Gianinazzi-Pearson, V. (1986): Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de methods d'estimation ayant une signification fonctionnelle. *Mycorrhizae: physiology and genetics-Les mycorrhizes: physiologie*. Proceedings of the 1st ESM/1^{er} ESM, Dijon, 1-5 July 1985.- INRA, Paris, pp. 217-221.
247. Unger, H. (1968): Über den Ausangewert mit dem Gazebeutelert erhaltenen Zelluloseabbau Ergebnisse. *Tagungsberichte DAL Berlin*, 98. 16.
248. Vance, D. B. (1996): Redox reactions in remediation *Environmental Technology* 6 (4) 24-25
249. Van De Peer, Y., Chapelle, S., De Wachter, R. (1996): A quantitative map of nucleotide substitution rates in bacterial rRNA. *Nucleic Acid Research*, 24 (17) 3381-3391.
250. Várady, Gy., Biró, B., Kucsma, N., Bayoumi, H. E. A. F., Kecskés, M. (2002): Rhizobaktérium törzsek szaporodásának és vasmegkötő képességének nehézfém-érzékenysége *Agrokémia és Talajtan* 513 (4): 479–490.
251. Vessey, J.K. (2003): Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers, *Plant and Soil* 255: 571-586.
252. Villányi, I., Füzy, A., Angerer, I., Biró, B. (2006): Total catabolic enzyme activity of microbial communities. Fluorescein diacetate analysis (FDA). In: *Understanding and modelling plant-soil interactions in the rhizosphere environment. Handbook of methods used in rhizosphere research. Chapter 4.2. Biochemistry* (ed.:D. L. JONES). Swiss Federal Research Institute WSL, Birmensdorf. 441-442.
253. Vincent, J. M. (1970): A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. IBP Handbk* 15. Oxford and Edinburgh: Blackwell Scientific Publications, 164.
254. Vivas, A., Biró, B., Németh T., J.M., Barea, J.M, Azcón, R. (2006): Nickel-tolerant *Brevibacillus brevis* and arbuscular mycorrhizal fungus can reduce metal acquisition and nickel toxicity effects in plant growing in nickel supplemented soil. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 2694-2704.

255. Vorholt, J.A. (2012): Microbial life in the phyllosphere *Nature Reviews Microbiology* 10, 828-840 DOI:10.1038/nrmicro2910
256. Wallander, H., Johansson, L., Pallon, J. (2002): PIXE analysis to estimate the elemental composition of ectomycorrhizal rhizomorphs grown in contact with different minerals in forest soil. *FEMS Microbiology Ecology* 39, 147–156.
257. Waksman, S.A. (1947): „What is an antibiotic or an antibiotic substance?“ *Mycologia* 39 (5): 565–569. DOI:10.2307/3755196
258. Wang, X., Llopis, P. M., Rudner D. Z. (2013): Organization and segregation of bacterial chromosomes *Nature Reviews Genetics* 14, 191–203 doi:10.1038/nrg3375
259. Wardle, D.A. (1995): Impacts of disturbance on detritus food webs in agro-ecosystems of contrasting tillage and weed management practices. *Adv. Ecol. Res.*, 26: 105-185
260. Weindling, R. (1937): Isolation of toxic substances from the culture filtrates of *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Phytopathology* 27: 1175 1177.
261. Weindling, R. (1941): Experimental consideration of the mold toxins of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopathology*, 31: 991-1003.
262. Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Lane, D.J., (1991): 16S ribosomal amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology* 173, 697 703.
263. Wensing, A., Braun, S. D., Büttner, P., Expert, D., Völksch, B., Ullrich, M. S., Weingart, H. (2010): Impact of siderophore production by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 22d/93 on epiphytic fitness and biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* 1a/96. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 2704-2711.
264. Whipps, J.M. (1997): Ecological considerations involved in commercial development of biological control agents for soil-borne diseases. In: van Elsas JD, Trevors JT, Wellington EMH, eds. *Modern soil microbiology*. New York: Marcel Dekker, 525–546.
265. Whitelaw, M. A. (2000): Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Adv. Agron.* 69:99-151.
266. Xavier, I. J., Holloway, G., Leggett, M. (2004): Development of rhizobial inoculant formulations. *Plant Management Network* DOI:10.1094/CM-2004-0301-06-RV.
267. Yadav, S.S., McNeil, D.L.; Stevenson, P. C. (2007): Rhizobium Management and Nitrogen Fixation In: *Lentil An Ancient Crop for Modern Times* Springer Netherlands 127-143 DOI: 10.1007/978-1-4020-6313-8 8.
268. Yu, X., Li, Y., Zhang, C., Liu, H., Liu, J., Zheng, W., Kang, X., Leng, X., Zhao, K., Gu, Y., Zhang, X., Xiang, Q., Chen, Q. (2014): Culturable Heavy Metal-Resistant and Plant Growth Promoting Bacteria in V-Ti Magnetite Mine Tailing Soil from Panzhihua, China *PLoS One.* 2014; 9(9): e106618. doi: 10.1371/journal.pone.0106618
269. Yang, W., Zhang, Z., Zhang, Z., Chen, H., Liu, J., Ali, M., Liu, F., Li, L. Population Structure of Manganese-Oxidizing Bacteria in Stratified Soils and Properties of Manganese Oxide Aggregates under Manganese–Complex Medium Enrichment. 2013. *Plos One* 8: 9.

Internetes hivatkozások:

1. https://net.jogtar.hu/jr/gen/hjegy_doc.cgi?docid=A0600036.FVM
2. <https://termesnovelo.nebih.gov.hu/Engedelykereso/kereso>
3. <http://www.biofactor.info/index.html>
4. http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0010_1A_Book_adaptalt_01_Talajokologia/ch01s03.html
5. <https://darvasbela.atlatszo.hu/2017/04/05/hatas-kontra-ellenhatas-a-tolerancia-es-rezisztencia-alapjai/>
6. <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/ay/ay-238.html>
7. http://www.kwizda.hu/talajok_mangan_ellatottsaga_2011
8. <http://periodusos-rendszer.krissz.hu/mn/mang%C3%A1n/>
9. <https://www.metnet.hu>
10. <http://enfo.agt.bme.hu/drupal/keptar/3711>
11. <http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/ANovenyiAnyagcsere/ch10.html>

Szabványok:

MSZ 21470-2:1981
MSZ 21976-17/1988
MSZ 21470-77:1988
MSZ 21470-50:2006
MSZ 21978-8:1985
MSZ EN 12143
MSZ-08-1722/1-1989
MSZ 08-0206/12

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet mondok témavezetőimnek, Dr. Anda Angélának és Dr. Biró Borbálának segítségükért és hogy a munkámat kísérték. Köszönöm dr. Kotroczó Zsoltnek a hatékony szakmai segítségét, támogatását.

Köszönöm továbbá dr. Ladányi Márta, dr. Kovács József és dr. Czakóné Vér Klára segítségét.

Tanáraimnak, és doktorandusz társaimnak (dr. Horváthné Domonkos Mónika, Simonné Dudás Anita, Horváth Nikoletta, Kocsis Tamás) akikkel egymást segítettük és együttesen gyarapítottuk tudásunkat, tapasztalatainkat.

Köszönet illeti a kutatási helyszínek biztosításáért az MTA ATK TAKI és a Szent István Egyetem Kertészettudományi Kar Talajtan és Vizgazdálkodás Tanszékét, valamint az ott dolgozó kollégáimat és egyes analitikai vizsgálatok elvégzésében nyújtott önzetlen segítségéért a Bálint Analitikát.

Köszönöm továbbá családomnak, barátaimnak, valamint mindazoknak a megértését és támogatását is, akik a doktori cselekmény sikeréhez valamilyen módon hozzájárultak.

Kísérleti munkámhoz a háttérrel a Pannon Egyetem, Georgikon Kar Festetics Doktori Iskola biztosított. A BIOFEKTOR projektet az Európai Unió 7-es keretprogramja támogatta (FP7/2007-2013), 312117 (BIOFEKTOR) szerződés-számon, melyből személyi támogatásban nem részesültem. A projekt folyamán személyi támogatásom a TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program című kiemelt projekt keretében zajlott, az Európai Unió támogatásával, és az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

12. MELLÉKLETEK

A jelenleg Magyarországon forgalomban lévő talajoltóanyagok

	Név	Mikroorganizmusok	Érvényesség
1	AgroFerment felszaporított mikrobiológiai készítmény	EM1 mikrobiológiai törzsoldat (3%)	2021.06.15
2	AGROSOIL™- N NITROGÉNKÖTŐ BAKTÉRIUMTRÁGYA	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Azotobacter beijerinckii</i> , <i>Bacillus polymixa</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2019.07.24
3	AGROSOIL™- P FOSZFORFELTÁRÓ ÉS MOBILIZÁLÓ BAKTÉRIUMTRÁGYA	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Azotobacter beijerinckii</i> , <i>Bacillus polymixa</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2019.07.24
4	AGROSOIL™- PLEX NITROGÉNKÖTŐ BAKTÉRIUMTRÁGYA	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Azotobacter beijerinckii</i>	2019.07.24
5	AGROSOIL™ KOMPOSZT-A	n.a.	2019.07.24
6	Algafix	<i>Scenedesmus obtisauculus</i> alga vizes szuszpenziója	2020.04.27
7	Algafix sűrítmény	<i>Scenedesmus obtisauculus</i> alga vizes szuszpenziója	2020.04.27
8	AlgaSanBa	<i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i> és <i>Pseudomonas fluorescens ssp. baktériumok</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> és <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> algák	2025.03.23
9	Allgrow algás levéltrágya	Bioplasma algatrágya (oldat) 1,00 %	2018.03.03
10	Allgrow algatrágya	<i>Clorella</i> algasűrítmény vizes szuszpenziója	2018.03.03
11	AMYKOR® GYÖKÉRZET VITALIZÁLÓ GRANULÁTUM	<i>Glomus intraradices</i> AM-27 mykorrhiza gomba	2018.10.14
12	ARTIS mikrobiológiai készítmény	<i>Arthrobotrys oligospora</i> gomba AO1 (NCAIM 153/2012) törzse	2023.06.06
13	AZORHIZ	<i>Azospirillum brasiliense</i> , <i>Rhizobium japonicum</i>	2022.06.29
14	AZOTER BAKTÉRIUMTRÁGYA	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Azospirillum brasiliense</i>	2014.03.03
15	AZOTER-F kétkomponensű mikrobiológiai készítmény	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Azospirillum brasiliense</i> , <i>Trichoderma aureoviride</i>	2022.06.29

	Név	Mikroorganizmusok	Érvényesség
16	AZOTER-L	<i>Herbaspirillum seropediacae</i>	2027.04.06
17	AZOTER-Sc	<i>Azospirillum brasiliense, Bacillus megaterium, Coniothyrium minitans, Azotobacter chroococcum</i>	2022.06.29
18	Bacid Humusz +	<i>Bacillus subtilis, Bacillus thuringiensis, Bacillus megaterium</i>	2015.10.21
19	Bacid Nitro	<i>Azotobacter chroococcum, Azospirillum lipoferum, Pseudomonas putida</i>	2015.10.21
20	Bacto Vital Mikrogranulátum	<i>Arthrobacter chlorophenolicus</i> GY 34 (NCAIM 291/2016 törzse	2027.04.18
21	Bacto Vital WP	<i>Arthrobacter chlorophenolicus</i> GY 34 (NCAIM 291/2016 törzse	2027.04.18
22	BACTOFIL A	<i>Azospirillum brasilense, Azotobacter vinelandii, B. megaterium, B. polymyxa, Pseudomonas fluorescens, Streptomyces albus</i>	2011.01.17
23	Bactofil A 10 talajbaktérium készítmény	<i>Bacillus polymyxa, Pseudomonas fluorescens, Streptomyces albus</i>	2021.02.03
24	BACTOFIL A10	<i>Azospirillum brasilense, Azotobacter vinelandii, Bacillus megaterium, B. polymyxa, Pseudomonas fluorescens, Streptomyces albus</i>	2011.01.17
25	BACTOFIL B	<i>Azospirillum lipoferum, Azotob. vinelandii, B. megaterium, B. circulans, B. subtilis, Pseudomonas fluorescens, Micrococcus roseus</i>	2011.01.17
26	BACTOFIL B10	<i>Azospirillum lipoferum, Azotob. vinelandii, B. megaterium, B. circulans, B. subtilis, Pseudomonas fluorescens, Micrococcus roseus</i>	2011.01.17
27	BactoFil Carbon cellulóz bontó készítmény	<i>Azotobacter vinelandii, Micrococcus roseus, Pseudomonas fluorescens, Cellvibrio ostraviensis</i>	2027.03.29
28	BACTOFIL CELL® CELLULÓZBONTÓ KÉSZÍTMÉNY	<i>Azotobacter vinelandii, Pseudomonas fluorescens, Cellvibrio ostraviensis</i>	2018.08.25
29	BACTOFIL GYÖNGY A	<i>Azospirillum brasilense, Azotobacter vinelandii, Bac. megaterium, B. polymyxa, Pseudomonas fluorescens, Streptomyces albus</i>	2013.03.04
30	BACTOFIL GYÖNGY B	<i>Azospirillum lipoferum, Azotob. vinelandii, B. megaterium, B. circulans, B. subtilis, Pseudomonas fluorescens, Micrococcus roseus</i>	2013.03.04
31	BactoFil Szójaoltó talajbaktérium készítmény	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	2026.03.30
32	BactoFil® A 10 talajbaktérium készítmény	n.a.	2021.02.03

	Név	Mikroorganizmusok	Érvényesség
33	BACTOFIL® A POR	<i>Azospirillum brasiliense</i> , <i>Azotobacter vinelandii</i> <i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Streptomyces albus</i>	2018.10.10
34	BactoFil® B 10 talajbaktérium készítmény	n.a.	2021.02.03
35	BACTOFIL® B POR	<i>Azospirillum lipoferum</i> , <i>Azotob. vinelandii</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. circulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Pseudomonas fluororescens</i> , <i>Micrococcus roseus</i>	2018.10.10
36	Baktomix UN folyékony talajoltó	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Cellulomonas uda</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2026.03.24
37	BAKTOMIX UN FOLYÉKONY TALAJOLTÓ ANYAG	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Cellulomonas uda</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2015.10.19
38	BAKTOMIX UN MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Cellulomonas uda</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2012.06.20
39	Baktomix UN mikrobiológiai készítmény	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Cellulomonas uda</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2026.03.24
40	BioAlga algatrágya	<i>Chlorella vulgaris</i> alga	2025.03.26
41	BioeGO kétkomponensű mikrobiológiai készítmény	Baktérium komponens: - mikroorganizmusok (<i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Streptomyces albus</i>) Gomba komponens: - mikroorganizmusok (<i>Trichoderma asperellum</i> , <i>Trichoderma harzianum</i>)	2025.03.23
42	BioFil Borsó talajoltó baktérium készítmény	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	2025.03.02
43	BioFil Lúgos talajoltó baktérium-készítmény	<i>Exiguobacterium acetylicum</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Azospirillum largimobile</i> , <i>Azospirillum irakense</i> , <i>Pseudomonas jessenii</i> , <i>Arthrobacter crystallopoietes</i> , <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	2024.02.11
44	BioFil Normál talajoltó baktérium-készítmény	<i>Pseudomonas jessenii</i> , <i>Arthrobacter crystallopoietes</i> , <i>Kocuria rosea</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> törzsek, <i>Azospirillum largimobile</i>	2024.02.11
45	BioFil Savanyú talajoltó baktérium-készítmény	<i>Bacillus simplex</i> , <i>Pseudomonas frederikbergensis</i> , <i>Agreia pratensis</i> , <i>Paenibacillus peoriae</i> , <i>Exiguobacterium acetylicum</i> , <i>Azospirillum largimobile</i> , <i>Azospirillum brasilense</i>	2024.02.11
46	BioFil Szárbontó készítmény	<i>Brevundimonas mediterranea</i> , <i>Achromobacter spanius</i> , <i>Celvibrio fibrivorans</i> , <i>Azotobacter croococcum</i>	2024.08.07
47	BioFil Szója talajoltó baktérium-készítmény	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	2024.02.11

Név	Mikroorganizmusok	Érvényesség	
48	BIOMASS Kappa oltóanyag	n.a.	2020.10.22
49	BIOMEX PLUS MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Streptomyces cellulosae</i> : <i>Polyangum cellulosum</i> , <i>Cellulomonas cellulosea</i> : <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Ps. putida</i> , <i>Ps.s stutzeri</i> , <i>Ps. cellulosa</i> , <i>Streptomyces albidoflavus</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Az. vinelandii</i> , <i>Azospirillum brasiliense</i>	2015.04.26
50	BIONITROPHOS MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Azotobacter sp.</i> , <i>Azospirillum sp.</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Trametes versicolor</i>	2014.03.09
51	BioNitroPhos mikrobiológiai készítmény	n.a.	2021.02.15
52	BioNitroPhos T mikrobiológiai készítmény	n.a.	2021.02.15
53	BIOPLASMA ALGÁS LEVÉLTRÁGYA	Bioplasma algatrágya	2018.03.03
54	BIOPLASMA ALGATRÁGYA	<i>Clorella</i> algasűrítmény vizes szuszpenziója	2018.03.03
55	BIOREX szilárd talajoltó anyag	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Azospirillum lipoferum</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2026.03.07
56	BIOREX SZILÁRD TALAJOLTÓANYAG	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. thuringiensis</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Azospirillum lipoferum</i> , <i>Pseudomonas putida</i>	2015.10.21
57	BIOREX-1	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2015.10.21
58	BIOREX-1 kétkomponensű folyékony talajoltó anyag	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2026.03.07
59	BIOREX-2	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Azospirillum lipoferum</i> , <i>Pseudomonas putida</i>	2015.10.21
60	BIOREX-2 kétkomponensű folyékony talajoltó anyag	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Azospirillum lipoferum</i> , <i>Pseudomonas putida</i>	2026.03.07
61	Carbosan	<i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Bacillus megatherium</i> , <i>Cellvibrio ostraviensis</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Pseudomonas Fluorescens</i> , <i>Micrococcus roseus</i>	2024.08.29
62	Carbosol	<i>Scenedesmus obtisauculus</i> alga vizes szuszpenziója	2020.04.27
63	Corabac baktériumtrágya	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2019.09.30
64	EM 1 felszaporított	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (EM•1)	2021.06.15

	Név	Mikroorganizmusok	Érvényesség
	mikrobiológiai készítmény	mikrobiológiai törzsoldat) 3%	
65	EM 1 mikrobiológiai törzsoldat	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2021.06.15
66	EM-1 OLTÓANYAG	<i>Streptococcus lactis</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Mucor hiemalis</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida utilis</i> : <i>Streptomyces albus albus</i> , <i>Rhodopseudomonas sphaeroides</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i>	2010.07.24
67	EM-BIO 1 MIKROBIOLÓGIAI TÖRZSOLDAT	fotoszintetizáló, nitrogénkötő és tejsavbaktériumok: sugár- és élesztőgombák	2019.02.02
68	EM-BIO 1 mikrobiológiai törzsoldat	fotoszintetizáló, nitrogénkötő és tejsavbaktériumok, sugár- és élesztőgombák <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Mucor hiemalis</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Cellulomonas uda</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Azotobacter croococcum</i> , <i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Clostridium pasterianum</i> , <i>Azospirillum lipoferum</i> , <i>Coniothyrium minitans</i> , <i>Streptomyces albus</i> , <i>Rhodopseudomonas sphaeroides</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i> , <i>Streptococcus lactis</i> , <i>Nitrosomonas communis</i> , <i>Nitrosomonas nitrosa</i> , <i>Arcobacter nitrofigilis</i> , <i>Arcobacter halophilus</i> , <i>Streptomyces griseoviridis</i> , <i>Nitrobacter vulgaris</i> , <i>Nitrobacter winogradskyi</i>	2019.02.02
69	EM-BIO aktivált mikrobiológiai készítmény	EM BIO 1 törzsoldat 3%	2019.02.02
70	EnviFerment felszaporított mikrobiológiai készítmény	EM•1 mikrobiológiai törzsoldat 3%	2021.06.15
71	FermentStart aktiváló folyadék	100% cukorszirup	2025.05.21
72	FermentStart mikrobiológiai komponens	baktériumok: <i>Bacillus subtilis</i> var. <i>natto</i> , <i>Rhodopseudomonas palustris</i> , <i>Rhodopseudomonas sphaeroides</i> : <i>Bifidobacterium animalis</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> : <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> ,: <i>Saccharomyces cerevisiae cerevisiae</i> (nem hatnak a talajban, táptalajul szolgálnak a baktériumok számára, tartósítják a készítményt): <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i> - mikrogombák: <i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium glaucum</i>	2025.05.21
73	GEOAGIT-CNPK-1 MIKROBIOLÓGIAI	n.a.	2019.03.10

	Név	Mikroorganizmusok	Érvényesség
	KÉSZÍTMÉNY		
74	Geocell-1	<i>Pseudomonas fluorescens</i> GS0104, <i>Cellvibrio vulgaris</i> GS0101	2026.01.13
75	GEOCELL-1 MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Cellvibrio</i> sp.	2015.09.15
76	Gomba adalék komponens	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Flammulina velutipes</i>	2020.07.20
77	Gondos csomag GP	<i>Glomus intraradices</i> mikorriza gomba, <i>Glomus mosseae</i> mikorriza gomba	2023.03.04
78	GREENMAN FLORALIA MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	n.a.	2019.03.27
79	HiCoat Adhesive	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 532C	2025.01.29
80	HiCoat oltóanyag	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 532C	2025.01.29
81	HiCoat Super Extender	szénhidrátok, adalékanyagok	2026.08.29
82	HiCoat Super oltóanyag	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 532C	2026.08.29
83	HiStick szója oltópor	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 532C	2025.01.29
84	IREGI NATÚR SZÓJA OLTÓPOR	<i>Rhizobium japonicum</i>	2015.08.24
85	Meganit B	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	2020.09.24
86	Meganit A	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Azospirillum lipoferum</i>	2020.09.24
87	MICROBION MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Azospirillum</i> sp., <i>Azotobacter vinelandii</i> -B 1795, <i>Bacillus megaterium</i> -B1091, <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Clostridium pasteurianum</i> , <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Rhodobacter</i> sp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Streptomyces</i> sp., <i>Trichoderma reesei</i>	2014.03.01
88	Microbion mikrobiológiai készítmény	<i>Azotobacter vinelandii</i> B01795, <i>Bacillus megaterium</i> B01091, <i>Clostridium pasteurianum</i> B01884, <i>Azospirillum brasilense</i> B01802, <i>Bacillus subtilis</i> B01231, <i>Rhodobacter sphaeroides</i> B17025, <i>Lactobacillus plantarum</i> B01525, <i>Trichoderma reesei</i> F00651, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Y01453, <i>Streptomyces albus</i> B01514	2026.08.03
89	MICROBION SŰRÍTMÉNY	<i>Azospirillum</i> sp., <i>Azotobacter vinelandii</i> -B 1795, <i>Bacillus megaterium</i> -B1091, <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Clostridium pasteurianum</i> , <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Rhodobacter</i> sp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Streptomyces</i> sp., <i>Trichoderma reesei</i>	2014.03.01
90	Microbion sűrítvány	<i>Azospirillum brasilense</i> B01802, <i>Bacillus subtilis</i> B01231,	2026.08.03

Név	Mikroorganizmusok	Érvényesség
	<i>Rhodobacter sphaeroides B17025, Lactobacillus plantarum B01525, Trichoderma reesei F00651, Saccharomyces cerevisiae Y01453, Streptomyces albus B01514, Pseudomonas fluorescens B01560</i>	
91	MICROBION UNC MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>n.a.</i> 2016.02.13
92	MicroFerment felszaporított mikrobiológiai készítmény	<i>EM•I mikrobiológiai törzsoldat 3%</i> 2021.06.15
93	Mikro-Vital „C+”	<i>Azospirillum brasilense, Azotobacter vinelandii, Pseudomonas gessardii, Paenibacillus peoriae, Cellulomonas flavigena</i> 2016.08.26
94	Mikro-Vital „P+”	<i>Azospirillum brasilense, Azotobacter vinelandii, Pseudomonas gessardii</i> 2026.07.18
95	MIKRO-VITAL MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Azospirillum brasilense, Azotobacter vinelandii, Pseudomonas gessardii</i> 2018.01.25
96	Natur Micro komponens	<i>Paenibacillus polymyxa, Paenibacillus amylolyticus, Paenibacillus macerans, Cellvibrio flavescens</i> 2020.07.20
97	NATUR PLASMA MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Chlorella vulgaris algasűrítmény vizes szuszpenziója</i> 2018.03.31
98	NATUR TERRA MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Azospirillum lipoferum, Pseudomonas fluorescens, Azotobacter chroococcum, Bradyrhizobium japonicum</i> <i>Gombák: Phanerochaete chrysosporium, Pleurotus sajor-caju</i> 2017.11.14
99	NovaFerm Dual	<i>n.a.</i> 2024.01.10
100	NovaFerm Multi	<i>Azotobacter ssp., Azospirillum ssp., Bacillus licheniformis</i> 2024.01.10
101	NPPL HICOAT SZÓJA OLTÓPOR	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 2014.06.11
102	NPPL HISTICK SZÓJA OLTÓPOR	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 2014.06.11
103	Organic Green Gold 5	<i>Organic Green Gold Viridis Aurum 5 %-os vizes oldata</i> 2021.12.21
104	Organic Green Gold Viridis Aurum	<i>Chlorella vulgaris vizes szuszpenziója</i> 2021.12.21
105	ÖKO-NI MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Coniothyrium minitans</i> 2019.10.20

Név	Mikroorganizmusok	Érvényesség
106	ÖKO-NI WP Mikrobiológiai készítmény	<i>Coniothyrium minitans</i> gomba K1 (NCAIM 51/2004) törzse 2021.04.12
107	Padavan	<i>Trichoderma asperellum</i> gomba T1 (NCAIM 68/2006) törzse 2026.05.12
108	Pannon Starter Double	<i>Coniothyrium minitans</i> gomba K1(NCAIM 51/2004) törzse 2025.08.03
109	Pannon Starter Perfect	<i>Trichoderma asperellum</i> gomba TRI1 (NCAIM 154/1012) törzse 2024.03.31
110	Pannon Starter Power	<i>Beauveria bassiana</i> gomba BOV1 (NCAIM 155/1012) törzse 2024.03.31
111	PHOMOBIL MIKROBIOLÓGIAI	<i>Bacillus megaterium, Pseudomonas fluorescens</i> 2012.01.15
112	Phomobil mikrobiológiai készítmény	<i>Bacillus megaterium, Pseudomonas fluorescens</i> 2022.06.29
113	PHYLAZONIT CB	<i>Azotobacter chroococcum, Bacillus megaterium, Pseudomonas putida</i> 2017.11.05
114	PHYLAZONIT MC	<i>Azotobacter chroococcum, Bacillus megaterium</i> 2017.11.05
115	Phylazonit Talajoltó készítmény	<i>Bacillus circulans 113/2008, Pseudomonas putida 112/2008), Azotobacter chroococcum 86/2007, Bacillus megaterium 87/2007</i> 2025.03.02
116	Phylazonit Tarlóbontó készítmény	<i>Azotobacter chroococcum 86/2007, Bacillus megaterium 87/2007, Bacillus circulans 113/2008, Pseudomonas putida 112/2008</i> 2025.05.15
117	Planter	<i>Trichoderma asperellum</i> gomba T1 (NCAIM 68/2006) törzse 2026.05.12
118	PROTECTOR MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Trichoderma harzianum</i> 2019.03.31
119	RhizoNat Extra természetes szója oltókoncentrátum	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 2025.12.21
120	RhizoNat Extra természetes szója oltópor	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 2025.12.21
121	SCD AGRO MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	n.a. 2019.03.27
122	SCD FLORALIA MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	n.a. 2019.03.27
123	Soil Basic talajbaktérium készítmény	<i>Azotobacter vinelandii, Micrococcus roseus, Pseudomonas fluorescens, Bacillus circulans</i> 2027.03.29
124	SteriClean Soil	<i>Beauveria bassiana</i> TI29 törzs, <i>Beauveria bassiana</i> TI30 törzs 2022.07.19

	Név	Mikroorganizmusok	Érvényesség
125	SYMBION MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Azospirillum sp.</i> , <i>Azotobacter sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Clostridium pasteurianum</i> , <i>Herbaspirillum sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Spirillum sp.</i>	2011.10.25
126	SYMBIVIT MIKROBIOLÓGIAI KÉSZÍTMÉNY	<i>Glomus sp.</i> mikorrhiza gomba, <i>Glomus sp.</i> mikorrhiza gomba	2019.12.08
127	TERRA-VITA R KOMPOSZT AKTIVÁTOR	cellulóz-bontó és nitrogénkötő mikroorganizmusok	2014.07.09
128	TERRUM® M mikrobiológiai készítmény	<i>Paenibacillus polymyxa</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus cereus</i>	2019.09.05
129	TERRUM® mikrobiológiai készítmény	<i>Paenibacillus polymyxa</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus cereus</i>	2019.09.05
130	TIGRA	<i>Trichoderma asperellum</i> gomba T1 (NCAIM 68/2006) törzse	2026.05.12
131	TrichoMAX mikrobiológiai készítmény	<i>Trichoderma harzianum</i> TH88 gomba	2026.04.11
132	Trifender Cell mikrobiológiai készítmény	<i>Trichoderma asperellum</i> antagonista gomba T1 (NCAIM 68/2006) törzsének konídiumai illetve klamidospórái, <i>Trichoderma asperellum</i> gomba hifa maradványai	2017.08.09
133	Trifender Pro	<i>Trichoderma asperellum</i> gomba T34 (EP 1400586 B1 illetve CECT No. 20417 illetve NCAIM 200/2015) törzse	2025.08.28
134	TRIFENDER WP mikrobiológiai készítmény	<i>Trichoderma asperellum</i> gomba T1 (NCAIM 68/2006) törzse	2021.04.29
135	VIANO baktériumokkal dúsított szerves gyeptáp	<i>Bacillus subtilis</i>	2023.02.22

JELENLLEG MAGYARORSZÁGON FORGALOMBAN LÉVŐ TALAJOLTÓANYAGOKBAN
TALÁLHATÓ TÖRZSEK

Baktériumok:	<i>Arthrobacter crystallopoietes</i>
<i>Achromobacter spanius</i>	<i>Azospirillum brasiliense</i>
<i>Agreia pratensis</i>	<i>Azospirillum irakense</i>
<i>Arcobacter halophilus</i>	<i>Azospirillum largimobile</i>
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	<i>Azospirillum lipoferum</i>
<i>Arthrobacter chlorophenolicus</i>	<i>Azotobacter beijerinckii</i>

<i>Azotobacter chroococcum</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Azotobacter vinelandii</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Bacillus circulans</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Bacillus polymyxa</i>	<i>Micrococcus roseus</i>
<i>Bacillus simplex</i>	<i>Nitrobacter vulgaris</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Nitrobacter winogradskyi</i>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Nitrosomonas communis</i>
<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Nitrosomonas nitrosa</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Paenibacillus macerans</i>
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Paenibacillus peoriae</i>
<i>Brevundimonas mediterranea</i>	<i>Paenibacillus polymyxa</i>
<i>Cellulomonas cellulosea</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>Cellulomonas flavigena</i>	<i>Pseudomonas cellulosa</i>
<i>Cellulomonas uda</i>	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
<i>Cellvibrio fibrivorans</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Cellvibrio flavescens</i>	<i>Pseudomonas frederikbergensis</i>
<i>Cellvibrio ostraviensis</i>	<i>Pseudomonas gessardii</i>
<i>Cellvibrio vulgaris</i>	<i>Pseudomonas jessenii</i>
<i>Clostridium pasteurianum</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Exiguobacterium acetylicum</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
<i>Kocuria rosea</i>	<i>Rhodobacter sp.</i>
<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Rhodococcus sp.</i>

Rhodopseudomonas palustris
Rhodopseudomonas sphaeroides
Streptococcus lactis
Streptococcus termophilus
Streptomyces albidoflavus
Streptomyces albus
Streptomyces cellulosae
Streptomyces griseoviridis

Trametes versicolor
Trichoderma asperellum
Trichoderma aureoviride
Trichoderma harzianum
Trichoderma reseei
Algák:
Chlamydomonas reinhardtii
Chlorella vulgaris
Scenedesmus obtisauculus

Gombák:

Aspergillus niger
Aspergillus oryzae
Candida utilis
Arthrotrrys oligospora
B eauveria bassiana
Coniothyrium minitans
Glomus intraradices mykorrhiza
Glomus mosseae mykorrhiza
Flammulina velutipes
Mucor hiemalis
Penicillium glaucum
Phanerochaete chrysosporium
Pleurotus sajor-caju
Polyangum cellulosum
Saccharomyces cerevisiae

Melléklet 2

A Biofactor projektben résztvevő partnerek

1	ABI Germany	ABiTEP GmbH (ABI)
2	AFBI UK	Agri-Food Biosciences Institute (AFBI)
3	AGRIGES Italy	Agriges s.r.l (AGRIGES)
4	ARO Israel	The Agricultural Research Organisation of Israel –the Volcani Centre (ARO)
5	AUAS Germany	Anhalt University of Applied Sciences (AUAS)
6	BCSB Germany	Bayer Crop Science Biologics GmbH former Prophyta Biologischer Pflanzenschutz GmbH (PROPH)
7	BIOAT Ireland	Bioatlantis Ltd. (BIOAT)
8	BUAS Romania	Banat’s University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine from Timisoara (BUAS)
9	CUB Hungary	Corvinus University Budapest
10	CULS Czech Republic	Czech University of Life Sciences
11	DLO Netherlands	WUR Plant Research International (DLO)
12	FiBL Switzerland	Research Institute of Organic Farming (FiBL)
13	FIBL-Projekte Switzerland	FIBLProjekte GmbH (FIBL-Projekte)
14	HKKalke Germany	Arbeitsgemeinschaft Huettenkalk e. V. (HKKalke)
15	JKI Germany	Julius Kuehn-Institute Federal Research Centre for Cultivated Plants (JKI); Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics
16	madora Germany	madora gmbh (madora)
17	SP Germany	Sourcon Padena GmbH & Co. KG (SP)
18	UCPH Denmark	University of Copenhagen (UCPH)
19	UHOH Germany	University of Hohenheim Institute of Crop Sciences Nutritional Crop Physiology (UHOH)
20	UNINA Italy	University of Naples, Department of Agricultural Engineering and Agronomy (UNINA)

Melléklet 3

SZENT ISTVÁN EGYETEM SOROKSÁRI TANGAZDASÁG ÖKOLÓGIAI ÁGAZATÁBAN VETT TALAJMINTA ANALÍZISE

pH-Wert	P ₂ O ₅	K	Mg	N	S	C ges.	C org.	C anorg.	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn	K
CaCl ₂	CAL	CAL	CaCl ₂	EA	EA	EA	EA	EA	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT
	mg/100g	mg/100g	mg/100g	%	%	%	%	%	mgkg ⁻¹	mgkg ⁻¹	mgkg ⁻¹	mgkg ⁻¹	mgkg ⁻¹	mgkg ⁻¹
7,3	43	17	10	0,098	0,015	1,20	0,972	0,228	2,35	11,9	126	64,8	4,19	89,6
7,4	43	17	10	0,102	0,018	1,26	1,05	0,210	2,47	11,3	127	68,2	4,11	93,3

B	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Zn					P ₂ O ₅	KGA-3	KGA-3	KGA-3
ICP-OES, mgkg ⁻¹	ICP-OES, mgkg ⁻¹	ICP-OES, mgkg ⁻¹	ICP-OES, mgkg ⁻¹	ICP-OES, mgkg ⁻¹	ICP-OES, mgkg ⁻¹	ICP-OES, mgkg ⁻¹	ICP-OES, mgkg ⁻¹	ICP-OES, mgkg ⁻¹	Carbonate %	NH ⁴ -N mgkg ⁻¹	NO ³ -N mgkg ⁻¹	P Olsen, mgkg ⁻¹	DL-Extrakt mg/100g	Sand %	Schluff %	Ton %
11,5	10.177	13,3	12.240	2.460	4.097	376	837	38,6	2,51	0,800	3,10	24,8		63,6	25,8	10,6
<10	9.894	12,9	11.882	2.311	3.987	357	811	36,7	2,33	1,10	3,50	24,9		66,6	20,1	13,3

ŐRBOTTYÁN MTA ATK TAKI KÍSÉRLETI TELEP 2010. ÉVI TALAJANALÍZISE

	pH-H ₂ O	pH-KCl	K(A)	Σ só m/m %	CaCO ₃ m/m %	H m/m %	össz-N m/m %	össz-P mgkg ⁻¹
Őrbottyán	7,92	7,75	26	< 0,02	6,13	0,465	0,048	381
	AL - K ₂ O mgkg ⁻¹	AL - P ₂ O ₅ mgkg ⁻¹	KCl-Mg mgkg ⁻¹	NH ₄ -N mgkg ⁻¹	NO ₃ -N mgkg ⁻¹	EDTA- Cu mgkg ⁻¹	EDTA-Zn mgkg ⁻¹	
	31,5	74	37,8	3,05	1,75	0,855	0,699	