

## Rhizobium-törzsek izolálása és hatékonyságuk vizsgálata 1981-ben

MANNINGER ERNŐ és KÖVÁRI BORBÁLA

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest és Takarmánytermesztési Kutató  
Intézet, Kísérleti Állomás, Bicsérd

A nitrogénkötés mértékét tekintve különböző az egyes rhizobium-törzsek növényre gyakorolt hatása (teljesítőképessége). Könnyen belátható, hogy megfelelő minőségű rhizobium-oltóanyag csak nagy teljesítőképességű rhizobium-törzsek felhasználásával készülhet. Az oltóanyag-termelőnek állandóan visszatérő gondja időről időre újabb, hatékony rhizobium-törzsek izolálása. Az ismételt izolálás több ok miatt szükséges:

1. Ismeretes, hogy hatásos rhizobium-törzsek laboratóriumi fenntartásával járó gyakori átoltások előnytelen disszociációkat eredményezhetnek, amelyek következtében a rhizobium-törzsek teljesítőképessége kedvezőtlenül megváltozhat, egyes esetekben a nulláig csökkenhet. Ezt igazolja HORVÁTH is [1], aki szerint: „az élő gyűjteményben tartott rhizobiumokat időről-időre növényi passzázsra kell átvinni, mert különben inaktívvá lesznek.” A növényi passzázs — természetes viszonyok között — teljesen azonos munkai igényű új rhizobium-törzs kitenyésztésével.

2. Ha a teljesítőképesség csökkenésének előbb vázolt veszélye nem is állna fenn, akkor is szükséges és fontos feladat újabb rhizobium-törzsek izolálása, mivel óriási jelentősége van annak, ha a *meglehetőnél hatékonyabb* törzseket sikerül izolálni.

3. Az oltóanyag előállításához ugyanakkor nem elégséges az egyes pillangós virágú növényfajok egy-egy hatásos rhizobium-törzse, mert HORVÁTH [1] szerint: „a genetikai kutatások arra is fényt vetettek, hogy talajoltásra *rasszon belül különböző törzsek keveréke* a legkedvezőbb” (polyvalens oltóanyag). Mindhárom említett ok miatt feladatunk volt 1981-ben új rhizobium-törzseket izolálni. Ez a munka az Országos Műszaki Fejlesztési Bizottság anyagi támogatásával valósulhatott meg.

### 1. A mezőgazdasági szempontból fontosabb pillangós virágú növények gyökérgümőiből baktériumok izolálása

#### *1.1. A pillangósvirágúak származása. Talajtani viszonyok*

A baktériumok izolálása céljából a mezőgazdasági szempontból fontosabb pillangós virágú növényeket (borsó, csillagfűrt, lóbab, vöröshere, lucerna, szója) gyökérzetükkel együtt gyűjtöttük be az ország különböző tájegységeiről.

A megfelelő botanikai szempontok figyelembevételével kiválasztott növényeket ásó segítségével, földlabdával együtt emeltük ki. A talajból a gyökérzetet elővigyázatosan kibontottuk és kéméletes mosása után — hogy semmiféle sérülés ne érje — preparáltuk le a gümöket. A gyökérgümők további alapos tisztítása után izoláltunk belőlük baktériumokat.

Az 1. táblázatban csak azokat a lelőhelyeket tüntettük fel, amelyekről gyűjtött pillangósok gyökérgümőiből sikerült rhizobiumoknak ítéhető szintenyészeteket előállítani. A táblázatban megadtuk a lelőhelyek talajtípusait is. Ezek szerint a különböző földrajzi helyek, amelyeknek a klimatikus viszonyai eltérőek, egyúttal nyolc különböző talajtípust is képviselnek.

### 1.2. A baktériumok izolálása

A természetben a rhizobiumoknak két legfontosabb biotópja: a termőtalaj és a pillangósok gyökérgümői.

1. táblázat

#### A baktériumtörzsek lelőhelye és a talajtípus

(1) Leelőhely	(2) Talajtípus	(1) Leelőhely	(2) Talajtípus
Bakonyoszom-bathely	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj	Lovászpata	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj
Bana	b) Réti öntéstalaj	Mezőörs	b) Réti öntéstalaj
Batyk	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj	Mohács	g) Réti csernozjom
Bátaszék	b) Réti öntéstalaj	Moldovány	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj
Bicsérd	c) Mészlepedékes csernozjom	Mosonmagyaróvár	g) Réti csernozjom
Csertő	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj	Nagydobsza	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj
Csorna	b) Réti öntéstalaj	Óriszentpéter	h) Pszeudoglejes barna erdőtalaj
Doba	d) Barnaföld	Sárkeresztúr	c) Mészlepedékes csernozjom
Dorog	d) Barnaföld	Sárvár	b) Réti öntéstalaj
Dunaalmás	d) Barnaföld	Somlójenő	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj
Gige	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj	Sopron	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj
Győrszentiván	e) Csernozjom barna erdőtalaj	Sümeg	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj
Iregszemcse	c) Mészlepedékes csernozjom	Szigetvár	d) Barnaföld
Kadarkút	a) Agyagbemosódásos barna erdőtalaj	Szentgotthárd	b) Réti öntéstalaj
Kapuvár	f) Réti talaj	Tét	d) Barnaföld
Kiskorpad	d) Barnaföld	Tótszentgyörgy	f) Réti talaj
Komárom	g) Réti csernozjom	Zalaegerszeg	d) Barnaföld
Körmend	h) Pszeudoglejes barna erdőtalaj	Vaszar	f) Réti talaj
Lázi	e) Csernozjom barna erdőtalaj	Vasvár	b) Réti öntéstalaj

Azért részesítettük előnyben a baktériumok izolálását a gyökérgümőkől a talajból való izolálással szemben, mert bizonyosra vehető, hogy a gyökérgümőkben a rhizobiumok viszonylag nagyobb számban fordulnak elő, mint a talaj hasonló térfogatában. A gümőkől sem könnyű a rhizobiumok izolálása, mivel saját tapasztalatunk szerint a gyökérgümőkben a rhizobiumok gyakran más, idegen fajú mikroorganizmusok társaságában élhetnek. A rhizobiumok talajból való izolálása már csak azért sem célszerű, mert ha csakugyan sikerülne, a rhizobiumok növényi gazdaspecifikusságát csak igen hosszadalmas munkával lehetne megállapítani.

### 1.3. Tiszta tenyészetek előállítása

Babagar táptalajon szélesztéssel végeztük a tiszta (szín)-tenyészetek előállítását. A kevert baktériumflóra szétválasztására legtöbbször esetben hígítási eljárást alkalmaztunk. Ennek lényege, hogy a vizsgálati anyagot steril fiziológiás konyhasóoldatba vittük, és abban történt szétrázása után kevés mennyiségű anyagot szélesztettünk babagar táptalaj felületére. Minden egyes baktériumsejt a táptalajon 24 óra alatt 28 °C-os termosztátban teleppé (kolóniává) nő ki. A nagyító alatt vizsgált kolóniák közül azokat, amelyekről feltételezhető, hogy rhizobiumok telepei, steril oltókaccsal átvisszük újabb táptalajra, amelyen most már a baktériumsejtek többnyire szintenyészetben szaporodnak el. Amennyiben az utóbbi egy lépésben nem sikerült, az említett módszert addig kellett ismételnünk, ameddig célunkat elértük.

A táptalajon kitenyésztett, egy sejtből nőtt kolóniák alapos vizsgálata azért szükséges, hogy csak a rhizobiumoknak ítéltető tenyészetekkel végezzünk további vizsgálatokat.

A szintenyészetnek bizonyult kolóniák morfológiai megjelenése alapján rhizobiumoknak ítéltető baktériumtörzsek [2] jelzéseit és származási jellemzőit (lelőhely, pillangós faj) a 2. táblázatban foglaltuk össze.

## 2. A szintenyészetű baktériumtörzsek hatékonyságának (teljesítőképességének) vizsgálata

### 2.1. Tenyészvény-kísérletek

A szintenyészetű baktériumtörzseket teljesítőképességük megállapítása céljából azokra a hüvelyes növényfajokra oltottuk, amelyeknek gyökérgümőiből izoláltuk azokat. Kivételt képeztek a bükköny (*Vicia sp.*) gyökérgümőiből származó tenyészetek, amelyeknek hatékonyságát a borsónövényeken vizsgáltuk. A vizsgálatokhoz tenyészvény-kísérletet használtunk.

A baktériumtörzseket a kísérletekben négy párhuzamossal, oltott és kontroll- (oltatlan)-növények összehasonlításával vizsgáltuk.

1000 ml űrtartalmú edényekbe helyeztük a kertészeti perlitet, majd az ugyanazon hüvelyes növényfajok magját egyforma mélyre vetettük, általában edényenként 7 fészekbe.

Az edényeket üvegházban tartottuk (1. ábra), és a növényeket elbírálásukig (7—8 hét) azonos körülmények között neveltük, szükség szerint ioncserélt vízzel öntözve.

A növényeket tíz naponként a N-tápanyag tekintetében módosított Crone-féle tápsóoldattal kezeltük.

2. táblázat  
A tenyészedény-kísérletben vizsgált baktériumtörzsek jellemzői

(1) Sorszám	(2) Baktérium- törzs jele	(3) Szármaszása		(5) Hüvelyes
		(4) Lelőhely	(5) Hüvelyes	
27.	Oltatlan	Bicsérd	—	d) csillagfürt
28.	4-1	Bicsérd	—	d) csillagfürt
29.	4-2	Bicsérd	—	d) csillagfürt
30.	4-3	Bicsérd	—	d) csillagfürt
31.	4-5	Bicsérd	—	d) csillagfürt
32.	23-1	Bicsérd	—	d) csillagfürt
33.	23-2	Bicsérd	—	d) csillagfürt
34.	23-4	Bicsérd	—	d) csillagfürt
35.	D. cs. f.10	Bicsérd	—	d) csillagfürt
36.	V-101	Gige	—	d) csillagfürt
37.	P. Kl	Phylaxia	—	?
38.	Oltatlan	Bicsérd	—	e) lóbab
39.	VI-1-1	Bicsérd	—	e) lóbab
40.	VI-1-2	Bicsérd	—	e) lóbab
41.	VI-1-3	Bicsérd	—	e) lóbab
42.	VI-1-4	Bicsérd	—	e) lóbab
43.	VI-1-5	Bicsérd	—	e) lóbab
44.	VI-101	Szentgotthárd	—	e) lóbab
45.	VI-102	Somlójenő	—	e) lóbab
46.	VI-103	Bana	—	e) lóbab
47.	VI-104	Sárkeresztúr	—	e) lóbab
48.	D-28	cseh baktériumgyűjtemény	—	e) lóbab
1.	Oltatlan	Lázi	—	a) bab
2.	I-1	Csorna	—	a) bab
3.	I-3	—	—	a) bab
4.	Oltatlan	Bicsérd	—	b) borsó
5.	III-1-13	Bicsérd	—	c) bükköny
6.	III-1-2	Bicsérd	—	c) bükköny
7.	III-1-3	Bicsérd	—	c) bükköny
8.	III-1-4	Bicsérd	—	c) bükköny
9.	III-1-5	Bicsérd	—	c) bükköny
10.	III-1-6	Bicsérd	—	c) bükköny
11.	Bo-2	Sopron	—	c) bükköny
12.	IV-1-1	Moldovány	—	c) bükköny
13.	IV-1-3	Moldovány	—	c) bükköny
14.	IV-1-6	Moldovány	—	c) bükköny
15.	II-1-2	Bátaszék	—	b) borsó
16.	II-1-4	Bátaszék	—	b) borsó
17.	II-1-7	Bátaszék	—	b) borsó
18.	II-1-20	Bátaszék	—	b) borsó
19.	Bo 6143-1	Iregszemcse	—	b) borsó
20.	Bo 6145-1	Iregszemcse	—	b) borsó
21.	Bo 6145-2	Iregszemcse	—	b) borsó
22.	Bo 6146-2	Iregszemcse	—	b) borsó
23.	Bo 6147	Iregszemcse	—	b) borsó
24.	Bo 6150-1	Iregszemcse	—	b) borsó
25.	II-101	Komárom	—	b) borsó
26.	P. Bo 73/1	Phylaxia	—	?

49.	Oltatlan	—	f) vöröshere	70.	Oltatlan	—	h) lucerna
50.	VII-1-1	Tóisszentgyörgy	g) lóhere	71.	VIII-1-3	Mohács	h) lucerna
51.	VII-1-2	Tóisszentgyörgy	g) lóhere	72.	VIII-1-6	Mohács	h) lucerna
52.	VII-1-3	Tóisszentgyörgy	g) lóhere	73.	VIII-2-2	Tóisszentgyörgy	h) lucerna
53.	VII-1-4	Tóisszentgyörgy	g) lóhere	74.	VIII-2-4	Tóisszentgyörgy	h) lucerna
54.	VII-1-6	Tóisszentgyörgy	g) lóhere	75.	VIII-2-5	Tóisszentgyörgy	h) lucerna
55.	VII-1-7	Tóisszentgyörgy	g) lóhere	76.	VIII-2-8	Tóisszentgyörgy	h) lucerna
56.	VII-2-1	Csertő	g) lóhere	77.	VIII-2-10	Tóisszentgyörgy	h) lucerna
57.	VII-2-2	Csertő	g) lóhere	78.	VIII-3-1	Csertő	h) lucerna
58.	VII-2-3	Csertő	g) lóhere	79.	VIII-3-2	Csertő	h) lucerna
59.	VII-2-4	Csertő	g) lóhere	80.	VIII-3-3	Csertő	h) lucerna
60.	VII-101	Sárvár	f) vöröshere	81.	VIII-101	Dunaalmás	h) lucerna
61.	VII-102	Vasvár	g) lóhere	82.	VIII-102	Körmen	h) lucerna
62.	VII-103	Zalaegerszeg	g) lóhere	83.	VIII-103	Óriszentpéter	h) lucerna
63.	VII-104	Sümeg	f) vöröshere	84.	VIII-104	Vaszar	h) lucerna
64.	VII-105	Mosonmagyaróvár	g) lóhere	85.	VIII-105	Lovászpáttona	h) lucerna
65.	VII-106	Kapuvár	f) vöröshere	86.	VIII-106	Batyk	h) lucerna
66.	VII-107	Győrszentiván	g) lóhere	87.	VIII-107	Tét	h) lucerna
67.	VII-108	Mezőörs	f) vöröshere	88.	VIII-108	Doba	h) lucerna
68.	VII-109	Dorog	g) lóhere	89.	VIII-109	Bakonyszombathely	h) lucerna
69.	P. Lh. R.	Phylaxia	?	90.	P. Som 5/7	Phylaxia	?
91.	Oltatlan	—	i) szója	91.	Oltatlan	—	i) szója
92.	IX-1-1	Nagydobbsza	i) szója	92.	IX-1-1	Nagydobbsza	i) szója
93.	IX-1-2	Nagydobbsza	i) szója	93.	IX-1-2	Nagydobbsza	i) szója
94.	IX-1-3	Nagydobbsza	i) szója	94.	IX-1-3	Nagydobbsza	i) szója
95.	IX-1-4	Nagydobbsza	i) szója	95.	IX-1-4	Nagydobbsza	i) szója
96.	IX-1-5	Nagydobbsza	i) szója	96.	IX-1-5	Nagydobbsza	i) szója
97.	IX-101	Szigetvár	i) szója	97.	IX-101	Szigetvár	i) szója
98.	IX-102	Kiskorpad	i) szója	98.	IX-102	Kiskorpad	i) szója
99.	P. G/6	Phylaxia	?	99.	P. G/6	Phylaxia	?

2.1.1. *A vetőmag sterilizálása.* — A magokat 0,25%-os higanyklorid-oldattal sterilizáltuk, majd sterilizált ioncserélt vízzel tízszer mostuk, hogy a fertőtlenítő oldatot maradék nélkül lemoszuk róluk.

A fészekbe helyezett magokat betakarás előtt a vizsgálandó baktériumtörzsekkel oltottuk.

2.1.2. *A baktériumtörzsek.* — A baktériumtörzseket babagaron 28 °C-os termosztátban szaporítottuk el. Tenyészedény-kísérletben a 2. táblázatban feltüntetett valamennyi baktériumtörzset vizsgáltuk.



1. ábra

Az üvegházban elhelyezett tenyészedények és növények távlati képe

A 2. táblázatból látható, hogy ugyanannak a pillangósfajnak más-más növényegyedeiből, illetve gyökérgümőiből származó baktériumokat egymástól meglehetősen eltérő lelőhelyekről izoláltuk.

A növények oltását azonos térfogatú és azonos sejtsűrűségű (zavarodást mutató) baktériumszuszpenziókkal végeztük. A baktériumszuszpenziókat steril fiziológiás konyhasóoldattal készítettük.

## 2.2. *A baktériumok hatásosságának megállapítása a tenyészedény-kísérlet alapján*

2.2.1. *Az 1981. évben izolált baktériumtörzsek vizsgálata.* — A növényeket a vegetációs idő folyamán állandóan figyelemmel kísértük, feljegyzést készítve a keléstől a növények kibontásáig. Általában megállapítható volt, hogy a tenyészidő első 3 hetében az egyes baktériumok növényekre gyakorolt hatása között nem látszott különbség, ez csak három, négy hét után vált mind élesebben szembetűnővé.

A kísérlet befejezésekor a növényeket az edényekből óvatosan kiszedtük, a gyökereket kimostuk és a gümők számát és súlyát meghatároztuk. Mértük a növények

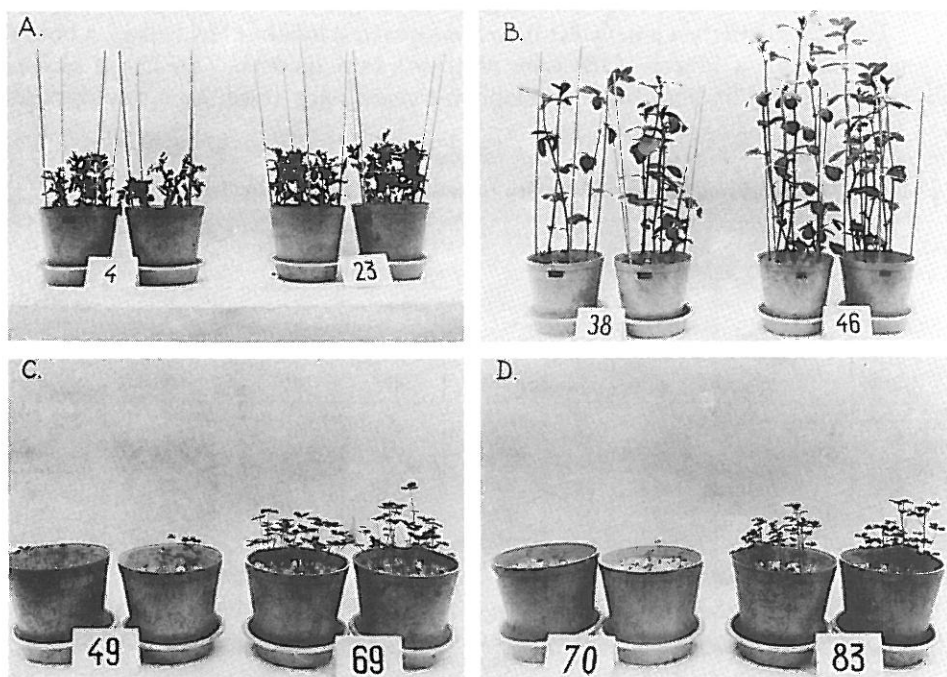
magasságát, a borsó hüvely (termés) számát és súlyát is megállapítottuk (3. és 4. táblázat).

Néhány rhizobium-törzs növényre gyakorolt pozitív hatását (a növények fejlődésbeli különbségeinek mértékét) a 2. ábrán is bemutatjuk.

2.2.2. *A Phylaxiától származó standard rhizobium-törzsek vizsgálata.* — A Phylaxia Oltóanyag- és Tápszertermelő Vállalat által fenntartott standard törzseknek a teljesítőképességét is vizsgáltuk, és összehasonlítottuk az általunk izolált új törzsekkel. A Phylaxia az oltóanyag-termeléshez felhasznált egy-egy legjobb rhizobium-törzsét adta öt növény (borsó, csillagfűt, here, lucerna és szója) számára.

### 2.3. A nitrogénkötő enzimaktivitás

Egyes nagyobb teljesítőképességű baktérium nitrogénkötő képességét gázkromatográffal (acetilénredukció meghatározásával) vizsgáltuk. E módszerrel a rhizobium nitrogénkötését végző nitrogenáz enzim működése mérhető azáltal, hogy az acetilént etilénné redukálja. A  $C_2H_2$  csúcsmagasságokat mm-ekben a 3. és 4. táblázatokban adjuk meg. Ezek az értékek különbözőek, tehát a rhizobiumok enzimműködése változó mértékű. A számadatok egymáshoz viszonyított (relatív) értékmérésre adnak lehetőséget.



2. ábra

Oltott (jobb oldalon) és oltatlan (bal oldalon) növények összehasonlítása. A) 23. sorszámú rhizobium-törzssel oltott borsónövények; B) 46. sorszámú rhizobium-törzssel oltott lóbabnövények; C) 69. sorszámú rhizobium-törzssel oltott vörösherenövények; D) 83. sorszámú rhizobium-törzssel oltott lucernanövények

2.4. Az izolált baktériumtörzsek szelektálása a kísérleti eredmények (a rhizobiumok teljesítőképessége) alapján

A gyökérgümők gyűjtése az 1981. évben nehéz feladatnak bizonyult. A növények, illetve gyökérzetük kipreparálása a talajból a korán bekövetkezett és hosszan tartó szárazság miatt okozott nagy gondot. Valószínűleg szintén a szárazság eredményezhette — együtt azzal a ténnyel, hogy mind több kémiai vegyület (beleértve a N-műtrágyákat) kerül napjainkban a termőföldre — a gyökérgümők olyan mértékű csökkenését, hogy sok esetben több száz méter távolságban gyűjtött növények gyökérzetén egyetlen gümőt sem lehetett találni.

A 3. és 4. táblázat adatai alapján az izolált baktériumtörzsek teljesítőképessége lemérhető. Az elbírálás során a legfontosabb a termés, illetve a zöldtömeg mennyisége, kevésbé a gümők száma és a gümők súlya.

Valamennyi átlagértéket a növényegyedek nagy számából határoztuk meg. Az általunk használt kísérleti elrendezés mellett vakkísérletből ismeretes [3], hogy 13%-os eltérések kezeléskülönbségként elfogadhatók, ezért külön nem végeztünk varianciaanalízist.

A csillagfürt- (*Lupinus sp.*) és a szója- (*Glycine sp.*) növények gyökérgümőiből általunk izolált baktériumok nem voltak nagyobb teljesítőképességűek, mint a *Phylaxia* standard törzsei, ezért ezek terméseredményeit nem közöljük.

Ezzel ellentétben pozitív hatást eredményezett a lóbab- (*Vicia faba*), a borsó- (*Pisum sativum*), a lóhere- (*Trifolium pratense*) és a lucerna- (*Medicago sativa*) növények gyökérgümőiből izolált rhizobium-törzsek nagy része. Az e növényekből

3. táblázat

## Egyes rhizobium-törzsek hatása (teljesítőképessége) borsónövényeken

(1) Sorszám	(2) A növény hajtásának átlagos			(3) 100 növény				(6) C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> - csúcs, mm
	magassága, cm	tömege		(4) Hüvely		(5) Gümő		
		g	%	db	g	db	mg	
4.	10,9	0,538	100	42,3	7,69	—	—	0
6.	10,8	0,525	357	95,0	27,50	40		
8.	11,6	0,523	252	66,6	19,04	66	28,1	
9.	11,3	0,611	361	88,8	27,77	1022	1101,1	
11.	11,3	0,547	309	90,4	23,80	809	1051,4	
12.	11,1	0,600	553	95,0	42,50	870	713,5	6
15.	11,9	0,687	528	87,5	40,62	512	1961,2	6
17.	11,1	0,555	506	105,5	38,88	238	4177,7	6
18.	12,6	0,690	372	100,0	28,57	1285	2230,9	5
19.	12,7	0,789	274	73,6	21,05	715	10273,6	
20.	11,6	0,727	532	109,0	40,90	1954	2994,5	5
21.	11,7	0,642	309	80,9	23,80	1676	2258,5	14
22.	11,9	0,684	342	78,9	26,31	1136	1942,1	18
23.	12,0	0,761	279	85,7	21,42	1871	2815,7	4
24.	11,3	0,625	358	110,0	27,50	1725	2931,5	
25.	12,3	0,722	253	88,8	19,44	1261	1755,0	
26.	12,2	0,750	361	88,8	27,77	2194	4087,7	12



4. táblázat

Egyes rhizobium-törzsek hatása (teljesítőképessége) lóbab-, here- és lucernanövényeken

(1) Növény és sorszám	(2) A növény hajtásának átlagos			(3) 100 növény		(5) C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> -csúcs, mm
	magassága, cm	tömege		(4) Gümő		
		g	%	db	mg	
<b>A) Lóbab</b>						
38.	28,9	3,038	100	0	0	0
39.	28,6	3,454	114	9	113,6	4
40.	27,5	3,055	101	—	—	
41.	28,8	3,100	102	40	67,0	
42.	26,9	2,400	79	—	—	
43.	30,1	2,964	97	28	63,5	
44.	28,2	3,250	107	1187	1753,6	
45.	28,0	3,916	129	1450	2494,1	
46.	31,2	3,600	118	1300	2068,6	4
47.	12,3	3,633	120	1446	2998,0	5
48.	24,6	2,815	92	542	991,5	
<b>B) Here</b>						
49.	3,4	0,023	100	—	—	
52.	4,4	0,041	178	200	16,6	
53.	4,8	0,050	217	54	10,0	
55.	5,3	0,048	208	242	21,1	
56.	4,5	0,038	165	25	5,7	
57.	4,9	0,043	186	175	19,2	
58.	5,7	0,061	265	49	8,1	
59.	5,6	0,057	248	94	13,4	
60.	6,4	0,067	291	162	15,5	11
61.	6,6	0,075	326	128	10,6	21
62.	7,3	0,087	378	231	31,7	16
63.	7,0	0,088	383	346	48,8	14
64.	7,1	0,088	383	202	15,6	20
65.	7,3	0,081	352	340	27,0	21
66.	7,0	0,079	343	226	23,3	
67.	6,7	0,077	334	171	13,4	13
68.	7,0	0,086	374	286	31,0	23
69.	6,9	0,084	365	283	22,0	17
<b>C) Lucerna</b>						
70.	2,5	0,012	100	0	0	
80.	3,4	0,031	258	69	43,7	15
81.	5,6	0,066	550	380	50,0	
82.	5,2	0,062	517	238	68,7	13
83.	6,2	0,093	775	204	37,2	34
84.	4,7	0,071	592	166	23,8	35
85.	4,7	0,068	567	189	27,5	
86.	6,1	0,083	692	422	66,6	21
87.	5,5	0,071	592	182	39,2	21
88.	4,8	0,064	533	177	32,2	40
89.	4,9	0,062	517	116	16,6	28
90.	4,7	0,058	483	273	17,6	

izolált törzseknek több mint a fele bizonyult hatásosnak. Az utóbbi három növényfélése hatásos rhizobium-törzsei mintegy 8—10 különböző termőhelyről származtak, ami a *polyvalens oltóanyagtermelés lehetősége szempontjából nagy jelentőségű* (lásd a bevezetésben).

Az 1981. évben here gyökérgümőiből izolált rhizobium-törzsek közül 16 db, a lóbabból 4 db, a lucernából 10 db, a borsó gyökérgümőiből származó rhizobium-törzsek közül 20 db bizonyult szignifikánsan nagyobb teljesítőképességűnek, mint a kontroll. Ugyanakkor a borsó rhizobiumjai közül 4 db törzs, a lucernagümőkől származók közül 6 db törzs bizonyult szignifikánsan nagyobb teljesítőképességűnek, mint a *Phylaxia* legjobb (legnagyobb teljesítőképességű) törzsei, amelyeket az oltóanyag-termeléshez felhasználnak.

### Javaslat a rhizobium-oltás gyakorlati elterjesztése érdekében

A pillangósok vetőmagoltása rhizobium-oltóanyagokkal mind gazdaságossági, mind környezetvédelmi szempontból indokolt. Magyarország 34 különböző helyén beállított nagyüzemi kísérletek (Földművelésügyi Minisztérium 1958. és 1960. között végzett kísérletei), pl. a lucerna 15%-os szignifikáns terméstöbbletét igazolták, de sok más helyen végzett kisparcellás kísérletek más pillangósok esetében is bizonyították az oltás létjogosultságát. A MÉM Növényvédelmi és Agrokémiai Központ számításai alapján az oltással hazánkban évente 14 000 tonna N-megtakarítás érhető el, aminek az értéke jelenleg mintegy 100 millió Ft.

A gazdaságosság mellett ez az agrotechnikai eljárás az ember természeti környezetét is védi, mivel a nitrát felhalmozódása termőtalajban, vizekben és élőlényekben nem következik be.

Ezek ellenére a hazai rhizobium-oltóanyag-termelés — a szójára készülő oltóanyag kivételével, amelyet az Iregszemcsei Takarmánytermesztési Kutató Intézet állít elő — jelenleg sajnos kismértékű.

A rhizobiumos oltóanyag termelésének fellendítésére és nagyobb mértékű felhasználására, illetve elterjesztésére a következők valószínűleg kedvező befolyással lennének:

1. A pillangósok termesztésével foglalkozó termelési rendszerek technológiájának tartalmaznia kellene a rhizobiumos vetőmagoltást.

2. A rhizobium-oltóanyag eredményes terjesztése és értékesítése érdekében vissza kellene térni a korábban jól bevált módszerre, vagyis a terjesztéssel foglalkozókat anyagilag érdekeltté kellene tenni.

3. A rhizobium-oltóanyag-termelés olyan gyártástechnológiát igényelne, amely biztosítja, hogy az immár hatásos rhizobium-törzsekből készülő oltóanyag hatáosságát felhasználásig megtartja.

4. Igen fontosnak tartanánk egy, a rhizobium-oltással (termeléssel, ellenőrzéssel és ilyen irányú kutatásokkal) foglalkozó szakemberekből álló bizottság létrehozását. Ez a bizottság a felmerülő feladatok megoldására javaslatokat tehetne és szaktanácsokat adhatna az érdekelt szervezeteknek.

5. Az oltóanyag-termelő intézményeknek az eddiginél nagyobb súlyt kellene helyezniük a rhizobium-oltás terjesztésére.

## Összefoglalás

Újabb rhizobium-törzsek időnkénti izolálása nemcsak azért indokolt, hogy a meglévőknél hatékonyabb törzsek birtokába jussunk, hanem azért is, mivel a laboratóriumi fenntartás során a törzsek teljesítőképessége bármikor csökkenhet.

Az Országos Műszaki Fejlesztési Bizottság, felismerve az állandó törzsszelekció szükségességét, az ezirányú munkát hathatósan támogatja. E megbízás alapján végeztük 1981-ben hatékony rhizobium-törzsek izolálását. E célból Magyarország különböző földrajzi helyeiről gyűjtött, fontosabb pillangós virágú növények gyökérgümőiből izoláltunk babagaron rhizobium-törzseket.

A morfológiai bélyegek alapján rhizobiumoknak ítéltető baktériumtörzseknek a teljesítőképességét növényi tesztekkel vizsgáltuk.

A kísérlet befejezésekor a növények gyökérgümőinek számát és súlyát, valamint a növények átlagos magasságát és súlyát állapítottuk meg.

## Irodalom

- [1] HORVÁTH J.: Mikrobiológia. Mezőgazd. Kiadó. Budapest. 1970.  
 [2] MANNINGER E.: A babagaron tenyésztett rhizobiumok morfológiája. *Agrokémia és Talajtan*. **11**. 237—246. 1962.  
 [3] MANNINGER E., KERPELY A. & ZÁMORY É.: Adatok a tenyészedénykísérletek megbízhatóságához. *Agrokémia és Talajtan*. **9**. 11—18. 1960.

*Érkezett: 1982. december 29.*

## Testing the Productivity of Newly Isolated Rhizobium Strains in 1981

E. MANNINGER and B. KŐVÁRI

Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, and  
 Research Institute for Fodder Production, Experimental Station, Bicsérd (Hungary)

### Summary

Various papilionaceae — important from the agricultural point of view — were collected from 38 different sites in Hungary, and rhizobium strains were isolated from their root nodules in bean agar culture medium. The pure cultures were obtained by using the plate-technique. The colonies that arose by the multiplication of single parent cells in the culture medium were carefully examined. All those bacterium strains that proved to be pure cultures and — on the basis of morphological criteria — could be classified as rhizobia, were subjected to plant tests to determine their productivity. In these tests — carried out in 4 replicate runs — inoculated and uninoculated (control) plants grown in pots filled with perlite were compared. Each pure culture was tested on the same plant species from the root nodules of which it had been isolated.

At the end of the experiment the number of root nodules, the height and weight of plants, and the number and weight of pods on the pea plants were determined.

A large number of rhizobium strains isolated from the root nodules of pea, clover and alfalfa plants exerted pronounced positive effect. Of the new strains four isolated from pea plants,

and six isolated from alfalfa proved to have a higher productivity than the strains provided by Phylaxia (a Hungarian company producing inoculums) for comparison, which were actually used for inoculum production.

*Table 1.* Collection sites and soil types. (1) Site. (2) Soil type: a) Brown forest soil with clay illuviation; b) Meadow alluvial soil; c) Chernozem with mycelia of lime; d) Brown earth; e) Chernozem brown forest soil; f) Meadow soil; g) Meadow chernozem; h) Pseudogleyic brown forest soil.

*Table 2.* Characteristics of the bacterium strains tested in the pot experiment. (1) Serial number. (2) Mark of the bacterium strain. (oltatlan: uninoculated) (3) Origin. (4) Site. (5) Leguminous plant: a) bean; b) peas; c) vetch; d) lupin; e) horse-bean; f) red clover; g) clover; h) alfalfa; i) soy bean.

*Table 3.* The productivity of certain rhizobium strains as reflected by the treated pea plants. (1) Serial number (corresponding to Table 2). (2) Average height (cm) and average weight (g and %) of shoots. (3) 100 plants. (4) Pods and (5) Root nodules, number and weight. (6)  $C_2H_2$  peak, mm.

*Table 4.* The productivity of certain rhizobium strains as reflected by the treated horse-bean, clover and alfalfa plants. (1) Plant and serial number. A) Horse-bean; B) Clover; C) Alfalfa. (2) Average height (cm) and average weight (g and %) of shoots. (3) 100 plants. (4) Root nodules, number and weight, mg. (5)  $C_2H_2$  peak, mm.

*Fig. 1.* Perspective view of the test pots in the green house.

*Fig. 2.* Comparison of inoculated (on the right side) and uninoculated (control) plants (on the left side). A) Pea plants inoculated with rhizobium strain No. 23. B) Horse-bean plants inoculated with rhizobium strain No. 46. C) Clover plants inoculated with rhizobium strain No. 69. D) Alfalfa plants inoculated with rhizobium strain No. 83.

## Isolierung von Rhizobium-Stämmen und die Effektivitätsprüfung dieser im Jahre 1981

E. MANNINGER und B. KÖVÁRI

Forschungsinstitut für Bodenkunde und Agrikulturchemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest und  
Forschungsinstitut für Futterbau; Versuchsstation Bicsérd (Ungarn)

### Zusammenfassung

Wir isolierten auf Bohnen-Agar Rhizobium-Stämme von den Wurzelknöllchen der wichtigsten Leguminosen die von 38 verschiedenen Standorten Ungarns stammten.

Die Reinkulturen haben wir mit Hilfe der Aufschwemm-Methode hergestellt. Wir hatten die Effektivitätsprüfungen der als Reinkulturen bewiesenen Kolonien und nach den morphologischen Eigenschaften möglicherweise als Rhizobium-Bakterien beurteilten Stämme im Pflanzentest durchgeführt. Es wurden in Gefäßversuchen mit Perlite in vier Parallelen geimpfte und ungeimpfte Pflanzen miteinander verglichen. Die Bakterien-Stämme werden auf dieselben Leguminosenarten geimpft, von deren Wurzelknöllchen sie isoliert wurden.

Am Ende des Versuches wurden die Zahl und das Gewicht der Wurzelknöllchen und bei Erbsen die Zahl und das Gewicht der Hülsen bestimmt (Tabelle 3. und 4.)

Der Effekt einiger Rhizobium-Stämme auf die Pflanzen ist auch in den Abbildungen 1—2. dargestellt.

Auffallende positive Effekte wiesen die Rhizobium-Stämme auf, die aus den Wurzelknöllchen von Erbsen, von Klee und von Luzerne stammten. Dieser Effekt war bei Erbsen in vier, bei

Лuzерне in sechs Fällen grösser, als dieser der besten Rhizobium-Stämme des Impfstoffwerkes Phylaxia, die dort zur Herstellung des Impfstoffes dienen.

*Табелла 1.* Der Fundort der Bakterien-Stämme. Der Bodentyp. (1) Fundort. (2) Bodentyp: a) Brauner Waldboden mit Toneinwaschung; b) Wiesenschwemmlandboden; c) Tschernosjomboden, kalkhaltig; d) Ramann'scher brauner Waldboden; f) Wiesenboden; g) Wiesentschernosjomboden; h) Brauner Waldboden mit Pseudogleybildung.

*Табелла 2.* Die Merkmale der im Gefässversuch geprüften Bakterien-Stämme. (1) Nummer. (2) Zeichen der Bakterien-Stämme (ungeimpft: Nummer 1, 4, 27, 38, 49, 70 und 91). (3) Ursprung. (4) Fundort. (5) Leguminosen: a) Bohne; b) Erbse; c) Wicke; d) Lupine; e) Pferdebohne; f) Rotklee; g) Klee; h) Luzerne; i) Soja.

*Табелла 3.* Der Effekt (die Leistungsfähigkeit) einiger Rhizobium-Stämme an Erbsen. (1) Nummer (Wie in der Tabelle 2.). (2) Durchschnittshöhe der Pflanzentriebe cm, und Durchschnittsgewicht g und %. (3) 100 Pflanzen. (4) Hülsen, Stück and Gewicht, g. (5) Knöllchenzahl, Stück und Gewicht, mg. (6) C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> Piek, mm.

*Табелла 4.* Der Effekt (die Leistungsfähigkeit) einiger Rhizobium-Stämme an Pferdebohlen, Klee und Luzerne Pflanzen. (1) Pflanze und Nummer. A) Pferdebohne; B) Klee; C) Luzerne. (2) Durchschnittshöhe der Pflanzentriebe, cm und Durchschnittsgewicht g und %. (3) 100 Pflanzen. (4) Knöllchenzahl, Stück und Gewicht mg. (6) C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> Piek, mm.

*Аbbildung 1.* Die perspektivische Ansicht der Gefässe und Pflanzen im Glashaus.

*Аbbildung 2.* Links ungeimpfte, rechts die mit den verschiedenen Rhizobium-Stämmen geimpften Pflanzen: A) Die mit dem Rhizobium-Stamm 23 geimpften Erbsen; B) Die mit dem Rhizobium-Stamm 46 geimpften Pferdebohlen Pflanzen; C) Die mit dem Rhizobium-Stamm 69 geimpften Rotklee Pflanzen; D) Die mit dem Rhizobium-Stamm 83 geimpften Luzerne Pflanzen.

## Выделение штаммов клубеньковых бактерий и изучение их эффективности в 1981 году

Е. МАННИНГЕР и Б. КЁВАРИ

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии Венгерской Академии Наук, Будапешт и Опытная станция Научно-исследовательского института кормов, Бичерд (Венгрия)

### Резюме

На бобовом агаре выделили штаммы клубеньковых бактерий, изолированных из клубеньков наиболее важных бобовых культур, собранных в 38 различных географических районах страны. Чистые культуры получили методом агаровых пластинок. Колонии, выращенные на питательной среде из одной клетки, после основательного исследования были признаны чистыми культурами и по морфологическим признакам являлись клубеньковыми бактериями. Их производительность изучили с помощью растений тестов. В ходе исследований в четырех повторностях сравнили инокулированные и неинокулированные (контрольные) растения, выращенные в вегетационных сосудах, наполненных перлитом. Чистые культуры привили тем видам растений, из клубеньков которых они были изолированы. При окончании опыта определили число корневых клубеньков, их вес, высоту и вес растений, в случае гороха — количество и вес стручков.

Влияние некоторых штаммов клубеньковых бактерий на растения показано на рисунках 1—5. Особенно высокое положительное влияние оказала большая часть штаммов клубеньковых бактерий, изолированных из клубеньков гороха, клевера и

люцерны. Из клубеньковых бактерий гороха четыре штамма, из клубеньковых бактерий люцерны шесть штаммов по своей эффективности превышали самые лучшие штаммы, представленные Филаксией для сравнения, которые обычно используют для инокуляции.

*Табл. 1.* Место взятия бактериальных штаммов и тип почвы. (1) Место взятия. (2) Тип почвы: а) иллимезированная бурая лесная почва. б) Лугово — аллювиальная почва. с) Мицелярный чернозем. d) Бурозем. е) Черноземовидная бурая лесная почва. f) Луговая почва. g) Луговой чернозем. h) Псевдоподзолистая бурая лесная почва.

*Табл. 2.* Свойства бактериальных штаммов изученные в вегетационных опытах. (1) Порядковый номер. (2) Обозначение штамма (без инокуляции 1., 4., 27., 38., 49., 70 и 91). (3) Происхождение. (4) Место взятия. (5) Стручковые: а) фасоль. б) горох. с) вика. d) люпин. е) конские бобы.

*Табл. 3.* Влияние отдельных штаммов клубеньковых бактерий (производительность) на растения гороха. (1) Порядковый номер (тождественны указанным в таблице 2). (2) Средняя высота побегов в см. и средний вес в г и %. (3) 100 растений. (4) Количество и вес стручков, шт и г. (5) Клубеньков, шт и мг. (6) Пик  $C_2H_2$ , мм.

*Табл. 4.* Влияние отдельных штаммов клубеньковых бактерий (производительность) на растения конского боба, клевера и люцерны. (1) Растение и порядковый номер: А) Конские бобы. В) Клевер. С) Люцерна. (2) Средняя высота побегов, см и средний вес в г и %. (3) 100 растений. (4) Количество клубеньков, шт и вес в мг. (6) Пик  $C_2H_2$  в мм.

*Рис. 1.* Общая картина расположения вегетационных сосудов и растений в вегетационном домике.

*Рис. 2.* Сравнение не инокулированных растений (на левой стороне) с инокулированными (на правой стороне). А) Растения гороха инокулированные штаммом клубеньковых бактерий № 23; В) Растения конского боба инокулированные штаммом клубеньковых бактерий № 46. С) Клевер инокулированный штаммами клубеньковых бактерий № 69. D) Люцерна инокулированная штаммами клубеньковых бактерий № 83.