

A paradicsom rizoplán baktériumközösségeinek néhány élettani-biokémiai jellemzője

TEJEDA EFRAIN A.

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék, Budapest

Napjainkban a talajmikrobiológia egyik reflektorfényben álló kutatási területe a prokarióták és a magasabb rendű szervezetek közötti társulások tanulmányozása. A mikrobák és növények kölcsönhatásainak vizsgálata különösen fontos, tekintettel e téma kör nagy mezőgazdasági és ökológiai jelentőségére. Régóta jól ismert például az ún. "betegségelnyomó talajok" (disease suppressive soils) problematikája. SCHNEIDER (1982) szerint e jelenség magyarázata az érintett talajokban jelenlévő mikroorganizmusok és növénypartnereik sajátos közösségi anyagcseréjében rejlik. De példaként említhetjük azokat a genetikai manipulációs kísérleteket is, amelyekben a nitrogenáz-rendszer génjeit magasabb rendű növények genomjába próbálták(ják) átvinni (BROWN, 1982; OTHA & HATTORI, 1983; RUSCHE & VOSE, 1983). A baktériumtrágyázást (APTE & SHENDE, 1981), vagy a patogén mikrobák növényi gyökerekről szaprofita törzsekkel történő kiszorítását (SUSLOW & SCHROTH, 1974) stb. is az előtérben lévő kutatások között sorolhatjuk fel. Bár ezidáig nagy biztonsággal, eredményesen alkalmazható módszerekkel alig számolhatunk be, a kutatások változatlan intenzitással folytatódnak.

A rizoszféra- és rizoplán-mikrobióták faji összetételének, valamint a gazdanövényteljes fennálló kölcsönhatásainak alaposabb megismerése új utakat nyithat, mind a racionális trágyázás módszereinek kidolgozásában, mind pedig a biológiai növényvédelem lehetőségeinek bővítésével a növénykórokozó mikrobák elleni harcban. A búza, akác, lóhere, rettek, len és más növények rizoszféra, ill. rizoplán mikrobiótájának vizsgálatával napjainkig számos kutató foglalkozott. Így SPERBER & ROVIRA (1959) egy lóhere (*Trifolium subterraneum*) és egy perje (*Lolium rigidum*) faj gyökereit vizsgálva azt tapasztalták, hogy 15 hetes növényeken főleg az *Arthrobacter*, *Nocardia* és *Mycoplana* genuszok tagjai fordultak elő, de csekély számban a *Mycobacterium*, *Micromonospora*, *Brevibacterium*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Micrococcus*, *Serratia* és más genuszok tagjait is sikerült izolálni. VÁGNEROVÁ és munkatársai (1960) megállapították, hogy az 1-3 hetes búza gyökerére főleg a *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* és *Arthrobacter* genusz képviselői a

jellemzők, ezeken kívül *Bacillus*-ok, *Corynebacterium*-ok, *Mycoplana*-k, *Vibrio*-k stb. is jelen voltak. SZABÓ (1974) megfigyelte, hogy a fiatal akác rizoplánjában lényegében 8 faj volt uralkodó. Közöttük kettő, egy *Flavobacterium* sp. és a *Pseudomonas fluorescens* 60, ill. 30 %-át képezte a teljes baktérium-populációnak, míg 6 faj (*Agrobacterium radiobacter*, *Rhizobium* sp., *Flavobacterium* sp. II., *Brevibacterium* sp., *Chromobacterium* sp., és a *Streptomyces tendae*) kevésbé gyakorinak bizonyult. A növények rizoplánjából ill. rizoszférájából sok baktériumgenusz képviselőt izolálták. Adataink azonban ezek előfordulási gyakoriságáról nemcsak hiányosak, de precíz determinációk híján sokszor bizonytalanok is.

Annak ellenére, hogy a paradicsom (*Lycopersicum esculentum*) az egész világon elterjedt fontos haszonnövény, rizoplánjára vonatkozóan meglehetősen hiányos ismereteink vannak. Vizsgálataink tárgyául e növényt választottuk. Munkánkkal, amelyen folyamatosan tovább dolgozunk, a rizoplán baktériumközösségek összetételének, biológiájának ismeretéhez kívánunk újabb adatokkal hozzájárulni.

Anyag és módszer

Mintavétel és izolálás

A rizoplán-baktériumközösség mintavételhez húsz, a Növényvédelmi Kutató Intézettől kapott, január elején ültetett, üvegházban nevelt, ötleveles állapotú (kb. nyolchetes), kecskeméti merevszárú paradicsompalántát használtunk. Az üvegházi kerti talaj pH-ja közel neutrális volt, a talajhőmérséklet 20 és 25 °C között ingadozott és a palánták a természetes inszolációtól túl, naponta 4 órán át 1000 lux fényintenzitású megvilágításnak voltak kitéve.

A talajból óvatosan kirázogatott növények gyökereit a gyökérnyaknál lemetszettük és a rájuk tapadt talajrészecskékkal együtt steril vizet tartalmazó főzőpohárban aszeptikus körülmények között, csipesz segítségével elsődleges durva mosásnak vetettük alá. E procedúrát többszörös vízcserével tettük alaposabbá. Az így durván mosott gyökereket sterilizált szűrőpapíron, csíramentesített csipesz segítségével szabadítottuk meg a még visszamaradt gyökériridegen részecskétől, majd az alaposabb mosás következett. E célból 250 ml-es Erlenmayer lombikokban a gyökértöméget steril vízben 15-szörös vízváltással, rázatva mostuk. Az utolsó lépésben a már kifehérett gyökértöméget a fölös nedvességtől steril szűrőpapírok között mentesítettük. Ezt a gyökéranyagot steril dörzsöcséssében homogenizáltuk, majd a nyert pépből szuszpenziót és ezután ebből hígítási sorozatot állítottunk elő.

A gyökéranyagból készített hígítások egyes tagjaiból 0,2-0,2 ml-nyi mennyiségeket, élesztőkivonat tartalmú húskivonat-pepton- (pepton 5,0 g; húskivonat 3,0 g; élesztőkivonat 1,0 g; agar 20,0 g; desztillált víz 1000 ml) és keményítő-kazein-agarlemezekre (keményítő 10,0 g; K₂PO₄ 0,5 g; kazein 1,0 g; agar

20,0 g; desztillált víz 1000 ml) szélesztettük. A táptalajok pH értékét semlegesre állítottuk, sterilizálásuk autoklávban, 121 °C-on, 15 percig történt. A homogenizált gyökérzúzalék hígításokkal beoltott lemezeket egy hézig 28 °C-on termosztátban inkubáltuk.

A kifejlesztődött, különálló kolóniákat nem szelektív alapon a terítéshez alkalmazott tápközeggel azonos összetételű ferde agarra vittük át. Ily módon 528 izolátumot nyertünk. Ezeket sorszámoztuk, majd legszembetűnöbb makromorfológiai tulajdonságaik alapján összehasonlítottuk és csoportosítottuk. A többi vizsgálatok megkönnyítése érdekében, szelektálást hajtottunk végre: 108 reprezentatív törzset választottunk ki. Ezek közül 10 *Streptomyces* volt, amelyek 6 különböző csoportot alkottak.

A tenyészletek tisztítása - mikroszkópos ellenőrzés mellett, mikromorfológiai homogenitás eléréseig - újraszélesztéssel és reisolálással történt. A *Streptomyces* tenyészletekre a SHIRLING és GOTTLIEB (1966) által leírt módszereket alkalmaztuk.

Valamennyi nem streptomicesz törzsünk az izoláló táptalajon nem növekedett kielégítően, ezért fenntartásukhoz új tápközeg után kutattunk. E célra a szója-agar (szójaliszt 20,0 g; keményítő 10,0 g; CaCO₃ 2,0 g; élesztőkivonat 5,0 g; NaCl 5,0 g; agar 20,0 g; desztillált víz 1000 ml; pH 7,0) felelt meg, amelyen törzseink tisztaságát újból felülvizsgáltuk.

Diagnosztikai vizsgálatok

Streptomyces törzseink taxonómiai identifikálását az International Streptomyces Project előírásainak megfelelően hajtottuk végre (SZABÓ et al., 1975), a többi baktérium jellemzését a következőkben felsorolt tesztekkel végeztük. Ahol irodalmi utalás nem jelzi, a vizsgálatokat COWAN és STEEL (1974) kézikönyve előírásainak megfelelően végeztük.

1. Makromorfológia: aszeptikus körülmények között minden törzs nagyon híg szuszpenzióját szója-agar lemezekben szélesztettük. A 28 °C-on, 5 napig inkubált táptalajokon kinőtt telepek alakját, felszínét, szegélyét, konzisztenciáját, magasságát, nem diffúzibilis és oldódó pigment termelését vizsgáltuk.

2. Mikromorfológia: a sejtek alakját, méretét és csoportosulását, ill. mozgás-képességét Gram szerint festett kenetek áteső fényű normál, ill. natív preparációk fáziskontraszt mikroszkópos megfigyelésével állapítottuk meg. Életciklusukat szója agar tárgylemez tenyészletek mikroskopizálásával írtuk le. A csilló meglétét vagy hiányát transzmissziós elektronmikroszkóppal határozottuk meg. Spórafestéssel az endospórákat mutattuk ki.

3. A növekedés hőmérsékleti intervalluma: növekedés a fenntartó táptalajon 4, 10, 37, 41 és 55°C hőfokon.

4. pH tolerancia: növekedés élesztőkivonattal dúsított húskivonat-pepton-levesben 3,0; 5,5; 9,0 és 11,0 pH értékek mellett.

5. Növekedés Bacto MacConkey agaron (Difco Manual 1984).

I. táblázat
A szelektált reprezentatív rizoplán baktériumtörzsek mikro- és makromorfológiai tulajdonságai szójá-agaron

(1) Csoporthoz szám	(2) Sejtállak		(5) Pleomorf pálca	(6) Gram- festés	(7) Spóra festés	(8) Telep színe	(9) Oldódó pig- ment színe	(10) Motilitás
	(3) Pálca	(4) Kokkusz						
I.	+	+	-	-	-	a) drapp b) citromsárga b) citromsárga c) sárgás-fehér d) krém c) sárgás-barna e) sárga	i) barna i) barna i) barna i) barna i) barna i) barna i) barna	+
II.	+	+	+	+	-	b) citromsárga c) sárgás-fehér d) krém c) sárgás-barna	-	+
III.	+	+	+	+	-	b) citromsárga c) sárgás-barna	-	+
IV.	+	+	+	+	-	d) krém a) drapp d) krém c) sárgás-barna	-	+
V.	+	+	+	+	-	d) krém a) drapp d) krém c) sárgás-barna	-	+
VI.	+	+	+	+	-	d) krém a) drapp d) krém c) sárgás-barna	-	+
VII.	+	+	+	+	-	d) krém a) drapp d) krém c) sárgás-barna	-	+
VIII.			+		-	d) krém a) drapp d) krém c) sárgás-barna	-	+
IX.	+	+	+	+	-	d) krém a) drapp d) krém c) sárgás-barna	-	+
X.	+	+	+	+	-	d) krém a) drapp d) krém c) sárgás-barna	-	+
XI.					-	d) krém d) krém d) krém d) krém	-	+
XII.					-	d) krém d) krém d) krém d) krém	-	+
XIII.					-	d) krém d) krém d) krém d) krém	-	+
XIV.					-	d) krém d) krém d) krém d) krém	-	+
XV.					-	d) krém d) krém d) krém d) krém	-	+
XVI.					-	d) krém d) krém d) krém d) krém	-	+

I. táblázat folytatása

(1) Csoport- szám	(3) Pálcika	(2) Sejtalak (4) Kokkusz	(5) Pleomorf pálcika	(6) Gram- festés	(7) Spóra- festés	(8) Telep színe	(9) Oldódó pig- ment színe	(10) Motilitás
XVII.	+			-	-	-	-	+
XVIII.		+		-	-	-	-	+
XIX.		+		-	-	i) barna	-	+
XX.	+			-	-	c) sárgás-barna	-	+
XXI.			+	+	-	e) sárga	-	+
XXII.		+		-	-	e) sárga	i) barna	+
XXIII.	+	+		-	-	e) sárga	i) barna	+
XXIV.		+		-	-	e) sárga	-	+
XXV.		+		-	-	h) narancssárga	-	+
XXVI.				-	-	i) barna	-	+
XXVII.				-	-	a) drapp	-	+
XXVIII.				-	-	i) barna	-	+
XXIX.				-	-	c) sárgás-barna	-	+
XXX.				-	-	j) vöröses-barna	-	+
XXXI.				-	-	h) narancssárga	-	+
XXXII.				-	-	g) barnás-fehér	-	+
						k) narancsbarna	-	+

6. NaCl tolerancia: növekedés élesztőkivonat-húskivonat-pepton-levesben 5, 7 és 9 %-nyi NaCl jelenlétében.
7. Növekedés anaerob körülmények között: a "Difco Tryptic Soy" agarra leoltott tenyészleteket Oxoid anaerob kamrában 1 hétag inkubáltuk.
8. Kataláz aktivitás vizsgálata.
9. Metilénkék redukció.
10. Nitrát redukció.
11. Glükóz oxidációjának és fermentációjának vizsgálata.
12. Metilvörös teszt.
13. Voges-Proskauer teszt.
14. Indol termelés kimutatása.
15. Foszfatáz aktivitás.
16. Oxidáz aktivitás.
17. Ureáz aktivitás detektálása.
18. DN-áz és RN-áz aktivitás teszt (JEFFRIES et al., 1957).
19. Kénhidrogén termelés.
20. Zselatináz teszt.
21. Amiláz enzim detektálása (GORDON & MIHM, 1957).
22. Pigmentképzés King-A és King-B táptalajokon (KING et al., 1954).
23. Növekedés N₂-mentes tápközegben (LAPAGE et al., 1970).
24. Nitrogénforrás-értékesítés vizsgálata (SZABÓ, 1974).
25. Szénforrás-értékesítési spektrum (GORDON & HORAN, 1968).
26. Savképzés szénhidrátokból (GORDON et al., 1973).

A reprezentatív törzsek csoportosítása

A Streptomycetaceae családhoz nem tartozó szelektált törzseinket makro- és mikromorfológiai karaktereik, valamint biokémiai bályegeik jellegzetes együttesei alapján 32 csoportba soroltuk. Eredményeinket ennek a csoportosításnak megfelelően rendezett táblázatokban (1-3. táblázatok) közöljük.

Eredmények és azok megvitatása

Az 1. táblázatban bemutatott adatok arról tanúskodnak, hogy a tanulmányozott paradicsomfajta gyökerein a Gram szerint negatívan festődő, endospórát nem képző, pálcika alakú baktériumok (összesen 14 csoport) és a Gram szerint pozitívan festődő, endospórát nem képző, elágazó fonalat fejlesztő, pleomorf baktériumok (összesen 19 csoport) uralkodnak. Ezzel szemben e növényfajta gyökereinek felületén *Streptomyces*-ek (összesen 6 csoport), Gram-pozitív, spóráképző pálcikák és kokkuszok (összesen 5 csoport) kis számban fordulnak elő. Ez utóbbi megfigyelés gyakorlatilag egybevág más növényekre vonatkozó irodalmi adatokkal (pl. SPERBER & ROVIRA, 1959; SZABÓ, 1989; CAMPBELL,

1985), amelyek úgyszintén a Gram-negatív nem spóraképző szabályos pálcák és a korineform-nokardioform géneszok dominanciáját bizonyítják.

A 2. táblázatban 10 *Streptomyces* törzsünk diagnosztikai bélgyegeit ismertetjük, amelyek alapján e szervezetek fajszintű meghatározását is elvégezhettük. A PA-96, 97 és 98 jelzésű törzsek a *Streptomyces lipmanii* fajhoz hasonlóak; a PA-99 a *Streptomyces spadicis*, a PA-100 a *Streptomyces aburaviensis*, a PA-101 a *Streptomyces albidus*, a PA-102, 103 és 104 a *Streptomyces aurigeneus* és a PA-105 jelzésű törzs a *Streptomyces flaveolus* diagnosztikai bélgyegeit mutatja. A streptomiceszek általában alávetett előfordulását rizoplánban más kutatók is közölték. GYURKÓ (cit. SZABÓ, 1989) jelenlétéket az akác rizoplánjában közvetlen mikroszkópos megfigyelésekkel igazolta. SZABÓ (1974) e fafajnál a *Streptomyces tendae*-t, IBRAHIM (cit. SZABÓ, 1989) az egyiptomi here (*Trifolium alexandrinum*) gyökeréről a *Streptomyces finlayi*-t, FERNANDEZ és munkatársai (cit. SZABÓ, 1989) a cukornád rizoplánjából a *Streptomyces griseorubiginosus*-t és *S. chartreusis*-t izolálták.

A vizsgálatba vont gyökérbaktériumainak többsége mezofil szervezetnek mutatkozott, zömük 37 °C feletti hőmérsékleten már nem növekedett (3A,B. táblázat). pH-tolerancia körletük viszonylag széles: a törzsek legtöbbje pH 5,5 és pH 9,0 között szaporodott. Törzseink legnagyobb része (összesen 30 csoport) obligát aerobnak bizonyult. A szakirodalom szerint más növények rizoplánjában ugyanígy az obligát aerob szervezetek túlsúlya jellemző (SPERBER & ROVIRA, 1959; VÁGNEROVÁ et al., 1960 stb.). A VI., VII., IX., XVII., XIX., XX., XXII-XXV., XXVII., XXVIII., XXXI és XXXII. csoport tagjai bizonyos bélgyegeik együttese alapján (Gram-negatív, obligát aerob, spórát nem képező, oxidáz pozitív, kataláz negatív pálcák) a *Pseudomonadaceae* család képviselői. Az I-V., VIII., XIII., XVI., XVIII., XXVI., XXIX. és XXX. csoport tagjai mikromorfológiai karakterei szerint (Gram pozitív, vagy variabilis pleomorf, vagy fonal-képző pálcák) "aktinobaktériumoknak" (sensu GOODFELLOW et al., 1984) tekinthetők. A X., XI. és XII. csoport tagjai speciális tulajdonság-csoportjuk (endospóraképző, mozgó, Gram-pozitív pálcikák, kataláz pozitívak stb.) alapján *Bacillus*-ok. Közöttük a XI. csoport tagjai már a termotoleránsok bélgyegeit viselik (55 °C-on is jól nőnek).

Törzseink zöme organikus foszfatáz aktivitással rendelkezik (összesen 28 csoport tagjai), és 29 csoport mikrobái ötféle szénhidrátból (glükóz, trehaláz, fruktóz, mannit, arabinóz) savat képeznek (3C. táblázat). E tények nagy valószínűséggel a növény által kifejtett szelekciós nyomással lehetnek kapcsolatosak. Ismeretes ugyanis, hogy a mikroorganizmusok a foszfor körforgalmának fontos aktivátorai és mint ilyenek segíthetik a gazdanövény foszforellátását. Azonkívül, hogy a foszfort szerves kötéseiiből felszabadítják, az oldhatatlan anorganikus foszfátok mobilizálásáért is felelősek. Ez utóbbit szerves savak és anorganikus savak (kénsav stb.) termelésével segítik elő, amelyek pl. a $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ -ből a foszfátot oldatba viszik, vagy a talaj ferrifoszfátjait oldják (SZABÓ, 1992).

2.
A paradicsom rizoplánjából szelektált reprezentatív

(1) Törzs- szám	(2) Diagnosz- tikai tár- talaj	(3) Spórartató morfológiá és spóra- szám	(4) Érett lég- micélium színe	(5) Szubsztrát- micélium nem diffuzibilis pigment színe*	(6) Oldódó pigment- termelés
PA-96	ISP-2	RF	GY (3fe)	Y-b(Co40)	-
	ISP-3	RF	GY (3fe)	Y-b(Co37)	-
	ISP-4	RF	GY (3fe)	Y-b(Co38)	-
	ISP-6	10-50			-
	ISP-7				-
PA-99	ISP-2	RF	GY (g)	Y-b(Co37)	-
	ISP-3	RF	GY (g)	Y-b(Co37)	-
	ISP-4	RF	GY (g)	Y-b(Co39)	-
	ISP-6	10-50			+
	ISP-7				-
PA-100	ISP-2	RF	GY (3fe)	Y-b(Co81)	-
	ISP-3	RF	GY (3fe)	Y-b(Co82)	-
	ISP-4	RF	GY (3fe)	Y-b(Co82)	-
	ISP-6	10-50			-
	ISP-7				-
PA-101	ISP-2	RF	GY (5fe)	Y-b(Co88)	-
	ISP-3	RF	GY (5fe)	Y-b(Co88)	-
	ISP-4	RF	GY (5fe)	Y-b(Co88)	-
	ISP-6	10-50			-
	ISP-7				-
PA-102	ISP-2	S	Y (2ba)	Y-b(Co38)	-
	ISP-3	S	Y (2ba)	Y-b(Co38)	Sa
	ISP-4	S	Y (2ba)	Y-b(Co38)	B
	ISP-6	10-50			-
	ISP-7				-
PA-103	ISP-2	RA	GY (g)	Y-b(C28)	-
	ISP-3	RA	GY (g)	Y-b(C28)	-
	ISP-4	RA	GY (g)	Y-b(Co51)	-
	ISP-6	10-50			-
	ISP-7				-
PA-104	ISP-2	RA	GY (g)	Y-b(C28)	-
	ISP-3	RA	GY (g)	Y-b(C28)	-
	ISP-4	RA	GY (g)	Y-b(Co51)	-
	ISP-6	10-50			-
	ISP-7				-
PA-105	ISP-2	RA	GY (g)	Y-b(C28)	-
	ISP-3	RA	GY (g)	Y-b(C28)	-
	ISP-4	RA	GY (g)	Y-b(Co51)	-
	ISP-6	10-50			-
	ISP-7				-

* A zárójelben lévő jelölések a Prauser-féle színskálában találhatók.

ISP: Int. Streptomyces Project; RA: retinaculum-apertum; RF: rectus-flexibilis; S: spirál; GY: szürke; Y: sárga; Y-b: sárgás-barna; G: D-glükóz; A: L-arabinóz; SH: szacharóz; X: D-xilóz; I: i-ionizit; M: D-mannit; F: D-fruktóz; RA: ramnóz; RF: raffinóz

táblázat **Streptomyces-törzsek diagnosztikai bélyegei**

(7)		(8)		(9)								
Szubsztrát-	micélium	Spóra	felülete	Szénhidrát-hasznosítás								
pigment indi-	kátor jellege	HCl	NaOH	G	A	SH	X	I	M	F	RA	RF
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	a) sima	-	+	-	-	+	+	++	++	++	-
-	-	a) sima	-	+	-	-	+	+	++	++	+	++
-	-	a) sima	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
-	-	a) sima	-	+	+	+	+	-	-	-	+	++
-	-	a) sima	-	++	++	+	+	-	++	+	++	+
-	-	b) hajas	-	+	+	-	+	+	++	++	++	-

3A
A szelektált reprezentatív rizoplán

(1) Vizsgált tulajdonság	(2) Csoportszám				
	I	II	III	IV	V
a) NaCl-tolerancia:					
5 %	+	-	+	+	+
7 %	-	-	-	-	-
9 %	-	-	-	-	-
b) Növekedés:					
4 °C-on	+	+	+	+	+
10 °C-on	+	+	+	+	+
37 °C-on	+	+	+	+	+
41 °C-on	±	+	+	+	+
55 °C-on	-	-	-	-	-
c) N ₂ -mentes médiumon	-	-	-	-	-
d) pH-tolerancia:					
pH = 3,0	-	-	-	-	+
pH = 5,5	+	+	+	+	+
pH = 9,0	+	+	+	+	+
pH = 11,0	-	-	-	-	-
e) Anaerob növekedés	+	-	-	-	-
f) Nitrát-redukció	-	+	+	+	+
g) Kataláz-aktivitás	+	+	+	+	+
h) Oxidáz-aktivitás	-	-	-	-	-
i) Metilénkék-redukció	-	+	+	+	+
j) Metilvörös-teszt	-	+	-	-	-
k) Glükóz-lebontás:					
oxidatív	+	+	-	+	+
fermentatív	+	-	-	-	-
m) Voges-Proskauer-teszt	-	-	-	-	-
n) Indol-termelés	-	-	-	-	-
o) H ₂ S-termelés	-	±	+	+	-
p) Ureáz-aktivitás	-	-	+	+	+
q) Foszfatáz-aktivitás	-	+	+	-	+
r) DN-áz-aktivitás	+	+	+	+	+
s) RN-áz-aktivitás	+	+	+	+	+
t) Zselatináz-aktivitás	-	+	+	+	+
u) Kazeáz-aktivitás	-	-	+	+	+
v) Amiláz-aktivitás	-	+	+	+	+
x) Celluláz-aktivitás	-	-	-	-	-
y) Fluoreszcencia	-	-	-	-	-

+: a törzsek több mint 90 %-a pozitív; -: a törzsek több mint 90 %-a negatív;

D: a törzsek több mint 50 %-a és kevesebb mint 90 %-a pozitív;

±: a törzsek több mint 10 %-a és kevesebb mint 50 %-a pozitív

táblázat baktériumtörzsek diagnosztikai bélyegei

3B
A szelektált reprezentatív rizoplán

(1) Vizsgált tulajdonság	(2) Csoportszám				
	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI
a) NaCl-tolerancia: 5 %	D	-	-	D	+
7 %	-	-	-	±	+
9 %	-	-	-	-	-
b) Növekedés: 4 °C-on	D	+	-	±	+
10 °C-on	D	+	-	±	+
37 °C-on	+	+	+	+	+
41 °C-on	D	-	+	±	+
55 °C-on	-	-	-	-	-
c) N ₂ -mentes médiumon	-	+	+	±	+
d) pH-tolerancia: pH = 3,0	-	-	+	-	-
pH = 5,5	+	+	+	+	+
pH = 9,0	+	+	+	+	+
pH = 11,0	-	-	-	-	-
e) Anaerob növekedés	-	-	-	-	-
f) Nitrát-redukció	D	-	+	D	-
g) Kataláz-aktivitás	+	+	+	+	+
h) Oxidáz-aktivitás	+	+	-	D	+
i) Metilénkék-redukció	D	+	+	+	-
j) Metilvörös-teszt	-	-	-	-	-
k) Glükóz-lebontás: oxidatív	D	-	-	+	-
l) fermentatív	-	-	-	-	-
m) Voges-Proskauer-teszt	D	-	-	-	-
n) Indol-termelés	-	-	+	-	-
o) H ₂ S-termelés	D	-	+	D	-
p) Ureáz-aktivitás	+	+	+	+	-
q) Foszfatáz-aktivitás	+	+	+	+	-
r) DN-áz-aktivitás	D	+	+	+	+
s) RN-áz-aktivitás	+	+	+	+	+
t) Zselatináz-aktivitás	D	+	+	+	-
u) Kazeáz-aktivitás	-	+	+	+	-
v) Amiláz-aktivitás	D	+	+	±	+
x) Celluláz-aktivitás	-	-	-	-	-
y) fluoreszcencia	-	-	-	-	+

+: a törzsek több mint 90 %-a pozitív; -: a törzsek több mint 90 %-a negatív

D: a törzsek több mint 50 %-a és kevesebb mint 90 %-a pozitív

±: a törzsek több mint 10 %-a és kevesebb mint 50 %-a pozitív

táblázat

baktériumtörzsek diagnosztikai bályegei

A szelkeltált reprezentatív rizoplán baktériumtörzsek diagnosztikai belyegei

3C táblázat folytatása

		(1) Csoport szám																	
		(2) Savképzés szénhidrátokból																	
		(3) Dulcít																	
		(4) Laktusz																	
		(5) Glükóz	(6) Galaktusz	(7) Szalicín	(8) Xilíusz	(9) Ramnusz	(10) Imozit	(11) Iauulin	(12) Arabinusz	(13) Trehalusz	(14) Fruktusz	(15) Raffinusz	(16) Mannit	(17) Melicitusz	(18) Szénhidrát-hasznosítás	(19) Szorbit	(20) Nitrogenforrások értékelése	(25) L-triptofán	
XVII.	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XVIII.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XIX.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XX.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXI.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXII.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXIII.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXIV.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXV.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXVI.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXVII.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXVIII.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXIX.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXX.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXXI.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XXXII.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+: a törzsek több mint 90 %-a pozitív
 -: a törzsek több mint 90 %-a negatív
 D: a törzsek több mint 50 %-a és kevesebb mint 90 %-a pozitív
 -: a törzsek több mint 10 %-a és kevesebb mint 50 %-a pozitív

Az alkalmazott kísérleti körülmények között valamennyi törzsünk celluláz negatív. A celluláz-aktivitás káros hatással lehetne a gyökérsejtekre. Ennek ellenére hangsúlyoznunk kell, hogy a celluláz-tesztre vonatkozó eredményeink csak a baktériumok "szűrőpapírbontó" képességére illetően adnak egyértelmű felvilágosítást.

Más növények rizoplánjából gyakran izoláltak olyan mikroorganizmusokat, amelyek növekedésükhez különöző aminosavakat és más növekedési faktorokat igényelnek; tudjuk továbbá, hogy a paradicsom gyökérváladékából különöző aminosavakat (aszparagin, alanin, cisztein, glutamin stb.), szerves savakat (oxálsav, citromsav, propionsav stb.) és vitaminokat (pl. biotint) sikerült kimutatni (ROVIRA & HARRIS, 1961). Talán e tényekkel függ össze, hogy az általunk izolált gyökérbaktériumok többsége szervetlen N-forrásokon (3C. táblázat) egyáltalán nem vagy rosszabbul szaporodott, mint aminosavak (különösen L-aszparagin és L-cisztein) jelenlétében.

Szintén figyelemre érdemes, hogy sok törzsünk (a Gram-negatív baktériumok kb. 45 %-a [VI., VII., IX., XII., XXII és XXIV. csoportok] és a I. és VIII. Gram-pozitív csoportok) élesztőkivonat hiányában néhány szénhidrátot nem ér-tékesített, amelyekből azonban élesztőkivonat jelenlétében savat képzett (3C. táblázat). Ez a tény arra enged következtetni, hogy e csoport tagjai valószínűleg növekedési faktorokat igényelnek. Egyébként a hasznosított szénhidrátok közül különöző gyökérváladékokból már többet is kimutattak (glükóz, fruktóz, mal-tatóz, galaktóz, ramnóz, ribatóz, xilatóz, arabinóz, raffinóz, szaharóz stb., CURL & TRUELOVE, 1986). Számos irodalmi adat is arra utal, hogy az úgynevezett mu-cigélben jelenlévő szénhidrátokat (glükóz, mannóz, galaktóz stb.) a kolonizáló baktériumok fogyasztják (FOSTER et al., 1983).

WOOD és HAYASAKA (1981), valamint SMITH és munkatársai (1984) azt tanúsították, hogy a *Zostera marina* (tengeri fű) gyökérexudátmában található aminosavak a rizoplán-mikrobiótájához tartozó mozgó pálcikákat kemotaxisra ingerelték. Hasonlóképpen ismeretes, hogy a pillangósok gyökérváladékai általános (aminosavak stb.) és speciális (flavonoidok) kemotaxist kiváltó anyagokat tartalmaznak. Itt jegyezzük meg, hogy a nem *Streptomyces* jellegű törzsök több mint 90 %-a mozgásképességet mutatott. Kétségtelen, hogy e tulajdonság nemcsak a gyökér gyors kolonizációját segítheti elő, hanem előnyt nyújthat a gyökérizzadmányok hasznosításában.

Végezetül a törzsek kb. 70 %-a ribonukleáz-, amiláz-, zselatináz- és kazeáz-aktivitással rendelkezik (3A,B. táblázat). Nyilvánvaló, hogy ezek a tulajdonságok a mikroorganizmusok számára előnyt jelentenek a gyökérsüvegről állandóan leváló sejtek és a gyökérváladék táplálékforrásként való hasznosításában.

Összefoglalás

Az ötleveles állapotú parádicsom rizoplán baktériumközössége rére pszeudomonaszok és mozgó, fonalképző, pleomorf Gram-pozitív baktériumok a jellemzők. *Streptomyces*-ek, *Bacillus*-ok és Gram-pozitív kokkuszok csak kis számban találhatók e növény gyökerein. A domináns szervezetek egy része fokozottan konkurrenciaképes és nem igényel növekedési faktorokat. Más részük inkább ráultalt a gyökér-váladékokra. A gyökerekben olyan mikrobák közössége szerelekcióna megy végbe, mely az adott ökológiai feltételek közepette a növények szoros anyagcsere-egységet képes kialakítani.

Irodalom

- APTE, R. & SHENDE, S. T., 1981. Studies on Azotobacter chroococcum. II. Effect of Azotobacter chroococcum on germination of seeds of agricultural crops. Zbl. Bakt. Parasit., Abt. II. 136. 555-559.
- BROWN, M. E., 1982. Nitrogen fixation by free-living bacteria associated with plants, fact or fiction? In: Bacteria and Plants (Eds.: RHODES-ROBERT, M. E. & SKINNER, F. A.). Academic Press. London.
- CAMPBELL, R., 1985. Plant Microbiology. Edward Arnold. London.
- COWAN, S. T. & STEEL, K. J., 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press. London.
- CURL, E. A. & TRUELOVE, B., 1986. The Rhizosphere. Springer-Verlag. Berlin.
- DIFCO Manual, 1984. Dehydrated culture media and reagents for microbiology. Difco Laboratories. USA.
- FOSTER, R. C., ROVIRA, A. D. & COCK, P. W., 1983. Ultrastructure of the Root Soil Interface. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- GOODFELLOW, M., MORDARSKI, M. & WILLIAMS, S. T., 1984. The Biology of the Actinomycetes. Academic Press. London.
- GORDON, R. E., HAYNES, W. C. & PANG, C. H. N., 1973. The Genus *Bacillus*. Agriculture Handbook No. 427. USDA. Agricultural Research Service. Washington, D.C.
- GORDON, R. E. & HORAN, A. C., 1968. A piecemeal description of *Streptomyces griseus* (Krainsky) Waksman and Henrici. J. Gen. Microbiol., 50. 223-233.
- GORDON, R. E. & MIHM, J. M., 1957. A comparative study of some strains received as nocardiae. J. Bact. 73. 15-27.
- JEFFRIES, C. D., HOLTMAN, D. F. & GUSE, D. G., 1957. Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acids. J. Bact. 73. 590-591.
- KING, E. D., WARD, M. K. & RANEY, D. E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Med., 44. 301-307.
- LAPAGE, S. P., SHELTON, J. E. & MITCHELL, T. G., 1970. Culture collections and the preservation of bacteria. In: Methods in Microbiology. Vol. 3A. (Eds.: NORRIS, J. R. & RIBBONS, D. W.) Academic Press. London.
- OTHA, H. & HATTORI, T., 1983. Nitrogen fixation by oligotrophic bacteria on the flood rice roots. Soil Sci. Plant Nutr. 29. 355-362.

- PRAUSER, H., 1964. Aptness and application of colour codes for exact description of colours of Streptomyces. *Z. Allg. Mikrobiologie*. **4**. (1) 95.
- ROVIRA, A. D. & HARRIS, J. R., 1961. Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. V. The exudation of B-group vitamins. *Plant & Soil*. **14**. 199-214.
- RUSCHE, A. P. & VOSE, P. B., 1983. Nitrogen fixation. In: *Handbook of Plant Cell Culture*. Vol. 1. Techniques for propagation and breeding. (Eds.: EVANS, D. A. et al.) MacMillan. New York.
- SCHNEIDER, R. W. (Ed.), 1982. *Suppressive Soils and Plant Diseases*. American Phytopath. Soc., St. Paul. Minnesota.
- SHIRLING, E. B. & GOTTLIEB, D., 1966. Methods for characterization of Streptomyces species. *Int. J. Syst. Bact.*, **16**. 313-340.
- SMITH, G. W., HAYASAKA, S. S. & THAYER, G. W., 1984. Ammonification of amino acids by the rhizoplane microflora of *Zostera marina* L. and *Halodule wrightii* Aschers. *Bot. Mar.*, **27**. 23-27.
- SPERBER, J. I. & ROVIRA, A. D., 1959. A study of the bacteria associated with the roots of subterranean clover and Wimmera rye-grass. *J. Appl. Bact.* **22**. 85-95.
- SUSLOW, T. V. & SCHROTH, M. N., 1974. Rhizobacteria of sugar beets: effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathol.* **72**. 199-206.
- SZABÓ, I. M., 1974. *Microbial Communities in a Forest-Rendzina Ecosystem*. Akadémiai Kiadó. Budapest.
- SZABÓ, I. M., 1989. *A Bioszféra Mikrobiológiaja*. III. Akadémiai Kiadó. Budapest.
- SZABÓ, I. M., 1992. *Az Általános Talajtan Biológiai Alapjai*. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest.
- SZABÓ, I. M. et al., 1975. A diagnostic key for the identification of species of Streptomyces and Streptoverticillium included in the International Streptomyces Project. *A. Bot. Acad. Sci. Hung.* **21**. 387-418.
- VÁGNEROVÁ, K., MACURA, J. & CATSKÁ, V., 1960a. Rhizosphere microflora of wheat. I. Composition and properties of bacterial flora during the first stages of wheat growth. *Folia Microbiologica*. **5**. 298-310.
- VÁGNEROVÁ, K., MACURA, J. & CATSKÁ, V., 1960b. Rhizosphere microflora of wheat. II. Composition and properties of bacterial flora during the vegetation period of wheat. *Folia Microbiologica*. **5**. 311-330.
- WOLDENDORP, J. W., 1978. The rhizosphere as part of the plant-soil system. In: *Structure and Functioning of Plant Population*. Verhandeligen der Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen. Afdeling Naturkunde, Tweede Reeks, deel 70.
- WOOD, D. C. & HAYASAKA, S. S., 1981. Chemotaxis of rhizoplane bacteria to amino acids comprising eelgrass (*Zostera marina* L.) root exudate. *J. Exp. Mar. Ecol.* **50**. 153-161.

Érkezett: 1993. január 15.

Certain Physiological and Biochemical Characteristics of the Rhizoplane Bacterium Community of Tomatoes

TEJEDA EFRAIN A.

Department of Microbiology, Faculty of Science, Eötvös Loránd University, Budapest

Summary

Pseudomonas, and motile, branching, filament-forming, pleomorphic Gram-positive bacteria are characteristic of the rhizoplane bacterium community of tomato seedlings in the five-leaf stage. Only a few *Streptomyces*, *Bacilli* and Gram-positive cocci can be found on tomato roots. Some of the dominant organisms are extremely competitive and do not require any growth factors, while other strains are more dependent on root exudates. Selection takes place in the roots for a microbial population capable of forming a close metabolic unity with the plant under the given ecological conditions.

Table 1. Micro- and macromorphological traits of the selected representative rhizoplane bacterium strains on soya-agar. (1) Group no. (2) Cell shape. (3) Rod. (4) Coccus. (5) Pleomorphic rod. (6) Gram-staining. (7) Spore staining. (8) Colour of colony. a) fawn; b) lemon yellow; c) yellowish white; d) cream; e) yellow; f) pink; g) brownish white; h) orange; i) brown; j) reddish brown; k) orangy brown. (9) Colour of dissolving pigment. (10) Motility.

Table 2. Diagnostic traits of representative *Streptomyces* strains selected from the rhizoplane of tomato. (1) Strain no. (2) Diagnostic medium. 3) Sporangium morphology and spore number. (4) Colour of mature aerial mycelia. (5) Colour of non-diffusible pigment in substrate mycelia. (6) Production of dissolving pigment. (7) Indicator role of substrate mycelium pigment. (8) Spore surface. a) smooth; b) hairy. (9) Carbohydrate utilisation. ISP: International Streptomyces Project; RA: retinaculum-apertum; RF: rectus-flexibilis; S: spiral; GY: grey; Y: yellow; Y-b: yellowish brown; G: D-glucose; A: L-arabinose; SH: saccharose; X: D-xylose; I: i-inositol; M: D-mannitol; F: D-fructose; RA: rhamnose; RF: raffinose.

Table 3A-B. Diagnostic traits of the selected representative rhizoplane bacterium strains. (1) Character examined. a) NaCl tolerance; b) Growth at 4 °C, 10 °C, 37 °C, 41 °C, 55 °C; c) on N₂-free medium; d) pH tolerance; e) Anaerobic growth; f) Nitrate reduction; g) Catalase activity; h) Oxidase activity; i) Methylene blue reduction; j) Methyl red test; k) Glucose decomposition; l) Oxidative; m) Fermentative; n) Voges-Proskauer test; o) Indole production; p) H₂S production; q) Urease activity; r) Phosphatase activity; s) DNase activity; t) RNase activity; u) Gelatinase activity; v) Casease activity; x) Amylase activity; y) Cellulase activity; z) Fluorescence. (2) Group no. +: more than 90% of strains positive; -: more than 90 % of strains negative; D: more than 50% but less than 90% of strains positive; ± more than 10 % but less than 50 % of strains positive.

Table 3C. Diagnostic traits of the selected representative rhizoplane bacterium strains. (1) Group no. (2) Acid formation from carbohydrates. (3) Dulcitol. (4) Lactose. (5) Glucose. (6) Galactose. (7) Salicin. (8) Xylose. (9) Ramnose. (10) Inositol. (11) Inulin. (12) Arabinose. (13) Trehalose. (14) Fructose. (15) Raffinose. (16) Mannitol. (17) Melezitose. (18) Sorbitol. (19) Exploitation of nitrogen sources. (20) L-cysteine. (21) L-asparagine. (22) L-arginine. (23) L-glycine. (24) L-tryptophane.
+: more than 90% of strains positive; -: more than 90 % of strains negative; D: more than 50% but less than 90% of strains positive; ±: more than 10% but less than 50% of strains positive.