

A ciklodextrin hatásának jellemzése mikroorganizmusok szaporodására

Murányi Attila

Bevezetés.....	1
A kutatás hipotézise	2
A kutatás célja	2
Az alkalmazott mikroorganizmusok	3
Kísérleti metodika	3
Felhasznált anyagok	3
Alkalmazott módszerek.....	3
<i>Fusarium moniliforme</i> szaporodásának vizsgálata	3
<i>Pseudomonas syringae</i> szaporodásának vizsgálata.....	4
A kutatás eredményeinek összefoglalása	4
A <i>Fusarium moniliforme</i> telepképző sejtszámának változása ciklodextrinek hatására	4
A <i>Fusarium moniliforme</i> által indukált kémiai változások a tápoldatban	5
A <i>Fusarium moniliforme</i> gomba telepátmérőjének változása ciklodextrinek hatására	6
A <i>Pseudomonas syringae</i> telepképző sejtszámának változása ciklodextrinek hatására	7
A <i>Pseudomonas syringae</i> által indukált kémiai változások a tápoldatban.....	8
Irodalomjegyzék.....	9
1/1. melléklet Különböző ciklodextrinek hatása a <i>Fusarium moniliforme</i> szaporodására a tápoldat kísérlet 72. órájában	10
1/2. melléklet A <i>Fusarium moniliforme</i> által indukált kémiai változások a tápoldatban	11
1/3. melléklet Gombatelepek méretének összehasonlítása a kezelések (kontroll, CD1, CD2, CD3, CD4), az inkubációs idő és a szacharóz tápoldatbeli jelenléte szerint	12
1/4. melléklet Baktériumtelepek számának összehasonlítása a kezelések (kontroll, CD1, CD2, CD3, CD4) és az inkubációs idő szerint.....	14
1/5. melléklet A <i>Pseudomonas syringae</i> által indukált kémiai változások a tápoldatban	16

Bevezetés

A "Komplex és hatékony bioremediációs technológiák kifejlesztése szennyezett talajok kármentesítésére" című Nemzeti Kutatási és Fejlesztési Program keretén belül alapkutatási feladatunk "A természetes lebontási folyamatok biológiai és kémiai nyomon követése" (9. számú feladat).

Munkánk során arra törekszünk, hogy a biológiai és kémiai változások egyidejű követése révén

- tanulmányozzuk a lejátszódó biológiai és kémiai folyamatokat,
- jellemezzük a biológiai és kémiai kölcsönhatásokat,
- megismerjük a biológiai folyamatoknak a kémiai változásokra illetve a kémiai változásoknak a biológiai változásokra gyakorolt hatását,
- feltárjuk a természetes lebontási folyamatokra ható legfontosabb környezeti tényezőket.

Célunk a bioremediációs technológiákban központi szerepet játszó mikrobák működéséhez szükséges optimális környezeti körülmények feltárása a biotechnológia hatékonyságának biztosítása, illetve növelése érdekében.

Kutatásaink két egymásra épülő fázist tartalmaznak. Az első szakaszban a ciklodextrin hatását jellemezzük mikroorganizmusok szaporodására (9/1. számú feladat). A második szakaszban a természetes remediáció hatékonyság-növelésének feltárására törekszünk szénhidrogénnel szennyezett talajokban (9/2. számú feladat).

Jelen szakmai részjelentésben kutatásaink első szakaszának eredményeit foglaljuk össze.

A kutatás hipotézise

A ciklodextrinek különleges felületi tulajdonságokkal (mind hidrofil, mind hidrofób felületekkel) rendelkező szerves molekulák, s emiatt a bioremediáció hatékonyság-növelésére szolgáló perspektivikus anyagok. A hatékonyság növelése mellett azonban ismernünk kell a ciklodextrinek környezetre gyakorolt hatását is.

Számos kutatási eredményünk bizonyítja, hogy a ciklodextrinek kölcsönhatásba lépnek az agyagásványok, illetve a talajok felületével. Jogos tehát az a feltételezés, hogy a ciklodextrinek kölcsönhatásba léphetnek a talajban élő mikroorganizmusok (szerves) felületével is. Ez a biológiai hatás pozitív (serkentő), vagy közömbös, vagy negatív (toxikus) lehet. Az első esetben a bioremediáció hatékonysága tovább nő, a második esetben a technológia hatékonysága nem változik. A harmadik esetben a toxikus hatások fellépte az alkalmazhatóságot korlátozó, kizáró tényezővé válhat.

A kutatás célja

Jelen kísérleteink célja a ciklodextrinek mikroorganizmusokra gyakorolt hatásának jellemzése.

A kutatás koncepciója

A koncepció kialakítása során a következő szempontokat vettük figyelembe:

- Alapos körütekintéssel választottuk ki a vizsgált mikroorganizmusokat. Biztosítottuk, hogy a talajban optimum körülmények között a legnagyobb tömegben előforduló mikroorganizmusokat (mind a gombákat, mind a baktériumokat) teszteljük. A talajokban igen gyakran előforduló mikroorganizmusokat vizsgáltunk. Növénykórokozó mikroorganizmusokat választottunk ki az esetleges ciklodextrin-toxicitás hasznosíthatósága érdekében.
- A ciklodextrinek hatását a mikroorganizmusok szaporodására négy különböző, szakmailag átgondoltan kiválasztott ciklodextrinnel vizsgáltuk.
- A mikroorganizmusok szaporodását széles időintervallumban vizsgáltuk a rövid távú és a hosszú távú hatások megismerése érdekében.
- Új kísérleti módszert dolgoztunk ki a biológiai változások és a kémiai változások egyidejű tanulmányozására, amit a különböző ciklodextrinek mikroorganizmusokra gyakorolt hatásának jellemzésére is felhasználtunk.

Az alkalmazott mikroorganizmusok

***Fusarium moniliforme* Sheldon**

A *Fusarium moniliforme* az egész világon elterjedt eukarióta mikroorganizmus, növénykórokozó gomba. Gazdaságilag fontos növényeket (kukorica, búza, rizs, cirok) betegíthet meg. Felméréseink szerint a hazai kukoricakultúrák fuzáriumos fertőzésének 52%-át a *Fusarium moniliforme* okozza. Raktári kártevő, valamint állati és emberi betegségek előidézője is lehet. Ez a gomba elsősorban talajlakó szervezet, a fertőzések jelentős része a talajba kerülő szármaradványokon felszaporodó gombaspórákból származik. A *Fusarium moniliforme* igen veszélyes mikotoxinokat (fumonizinek) képes termelni. A biológiailag aktív anyagcseretermékei közül jelentős a különböző típusú giberellinek termelése is. A *Fusarium moniliforme* in vitro jól tenyészthető mind tápoldatban, mind szilárd táptalajon. A vizsgálatainkhoz használt törzs egyetlen konídiumból származó, genetikailag tiszta izolátum volt, amelyet kukoricaszár-szövetből izoláltunk.

***Pseudomonas syringae* van Hall**

A *Pseudomonas syringae* az egész földön elterjedt prokarióta mikroorganizmus, baktérium. Hazánkban is gyakran előforduló növényi kórokozó. Sok növényt (kukoricát, szudáni füvet, cseresznyét, orgonát, nyárfákat) képes megfertőzni, a zöldpaprika baktériumos lágyrothadását okozza. Talajban is gyakran előfordul, ahová a beteg növénymaradványokkal kerül. In vitro jól tenyészthető, mind tápoldatban, mind agaros táptalajon. Tekintettel arra, hogy a gombák eukarióta szervezetek, míg a baktériumok prokarióták, feltételeztük, hogy a ciklodextrinek különböző módon hatnak anyagcseréjükre, így a szaporodásukra.

Kísérleti metodika

Felhasznált anyagok

Szécsi által módosított Czapek-féle tápoldat összetétele: 5 g élesztő, 30 g szacharóz, 10 mL Czapek-koncentrátum 1000 mL vízben oldva. Czapek-koncentrátum: 30 g NaNO₃, 5 g KCl, 5 g MgSO₄ * 7 H₂O, 100 mg FeSO₄ * 7 H₂O 100 mL vízben oldva.

Nutrient táptalaj: 1 g húskivonat, 12 g agar, 2 g élesztő, 5 g szója pepton (pH = 7,4) 1000 mL-ben. SNA táptalaj: 1,0 g KH₂PO₄, 1,0 g KNO₃, 0,5 g MgSO₄ * 7 H₂O, 0,5 g KCl, 0,2 g glükóz monohidrát, 0,2 g szacharóz D(+), 1000 mL desztillált víz, 20 g agar.

A vizsgálatokhoz négy különböző ciklodextrint választottunk ki: random metilezett β-ciklodextrint, β-ciklodextrint, (2-hidroxi)propil-β-ciklodextrint, acetyl-β-ciklodextrint. Potenciális gazdasági jelentőségük miatt a különböző ciklodextrineket kódolva jelöltük (CD1, CD2, CD3, CD4). A várható hatások kimutathatósága és a biodegradálhatóság jó nyomon követhetősége érdekében 1 % ciklodextrin koncentrációt használtunk.

Alkalmazott módszerek

***Fusarium moniliforme* szaporodásának vizsgálata**

1000 mL-es Erlenmeyer-lombikba bemértünk 500 mL módosított Czapek-tápoldatot, amibe beoltottuk az egyetlen konídiumból származó gombaizolátumot (10⁻⁷ spóratöménységű oldatból 0,5 mL 500 mL-enként). Az oldathoz 100 mL-enként 1,00 g CD-t adtunk. Összesen 5 mintával dolgoztunk: kontroll (K) és négyféle ciklodextrin (CD1, CD2, CD3, CD4). A gombaszuszpenziót rázótermosztátban inkubáltuk és a 24., 48., 72., 96. és 168. órában - steril körülmények között - 100 mL mintát vettünk ki a biológiai és a kémiai vizsgálatokhoz. A mintavétel után azonnal megmértük a tápoldat redoxpotenciálját, pH-értékét, elektomos

vezetőképességét (EC) és visszatitráltuk a tápoldatot az eredeti pH-értékére 0,01 M NaOH segítségével.

A gombatorzs telepkepző sejtszámának megállapításához 90 mm átmérőjű Petri-csészében SNA táptalaj-lemezeket készítettünk. 24 óra elteltével a telepszámláláshoz mintát vettünk a tápoldatból, majd 3 ismétlésben szélesztést végeztünk (10^{-4} hígítás, 0,5 mL Petri-csészénként) az SNA táptalajon. 72 óra 26 °C hőmérsékleten történő inkubálást követően a Petri-csészében lévő táptalaj felületén kialakult gombatelepeket megszámloltuk és kiszámítottuk az egységnyi telepkepző sejtszámot (CFU/mL).

A tápoldatot 0,2 µm pórusátmérőjű szűrőmembránon leszűrtük. A szűrletből ICP AES segítségével meghatároztuk a tápoldat oldott széntartalmát, valamint Na-, K-, Mg-, P-, Ca-, Fe-, Zn-, Se-, Ba-, B-, Sr-tartalmát.

Egy könnyen felvehető szénforrás (szacharóz) és a különböző ciklodextrinek hatását a *Fusarium moniliforme* szaporodására bioteszt segítségével tanulmányoztuk. 0,5 mm átmérőjű – a gomba tenyészetét tartalmazó – szilárd táptalajkorongot helyeztünk az 1 % ciklodextrint, illetve szacharózt tartalmazó SNA táptalajra és 5 ismétlésben mértük a gombatelep átmérőjének növekedését 24, 48, 72 és 96 óra elteltével.

***Pseudomonas syringae* szaporodásának vizsgálata**

1000 mL-es Erlenmeyer-lombikba bemértünk 500 mL módosított Czapek- tápoldatot, amibe beoltottuk a *Pseudomonas syringae* baktériumot ($3 \cdot 10^{-12}$ db/mL, 0,5 mL 500 mL-enként). Az oldathoz 100 mL-enként 1,00 g CD-t adtunk. Összesen 5 mintával dolgoztunk: kontroll (K) és négyféle ciklodextrin (CD1, CD2, CD3, CD4). A gombaszuszpenziót rázótermosztátban inkubáltuk, majd a 3., 6., 24., 28., 48. és 72. órában - steril körülmények között - 80 mL mintát vettünk ki a biológiai és a kémiai vizsgálatokhoz. A mintavétel után azonnal megmértük a tápoldat redoxpotenciálját, pH-értékét, elektomos vezetőképességét (EC), és visszatitráltuk a tápoldatot az eredeti pH-értékére 0,01 M NaOH illetve 0,1 M HCl segítségével.

A baktériumtörzs telepkepző sejtszámának megállapításához 90 mm átmérőjű Petri-csészében Nutrient táptalaj-lemezeket készítettünk. A telepszámláláshoz mintát vettünk a tápoldatból, majd 3 ismétlésben szélesztést végeztünk (10^{-4} hígítás, 0,1 mL / Petri-csésze) a Nutrient táptalajon. A Petri-csészében lévő táptalaj felületén kialakult baktériumtelepeket megszámloltuk és kiszámítottuk az egységnyi telepkepző sejtszámot (CFU/mL).

A tápoldatot 0,2 µm pórusátmérőjű szűrőmembránon leszűrtük. A szűrletből ICP AES segítségével meghatároztuk a tápoldat oldott széntartalmát, valamint Na-, K-, Mg-, P-, Ca-, Fe-, Zn-, Se-, Ba-, B-, Sr-tartalmát.

A vizsgálatokat Szegi (1979), Horváth (1980) és Szabó (1998) módszertani leírásai alapján állítottuk be.

A kutatás eredményeinek összefoglalása

A *Fusarium moniliforme* telepkepző sejtszámának változása ciklodextrinek hatására

A *Fusarium moniliforme* mikroszkopikus gomba telepkepző sejtszámát csak 24 óra elteltével lehetett meghatározni.

A négy különböző ciklodextrinek a telepkepző sejtszámra gyakorolt hatása közötti összefüggéseket varianciaanalízissel elemeztük (Single Factor Variance Analysis, Single Factor ANOVA) (Manczel, 1983). Nullhipotézisként feltételeztük, hogy az egyes kezelések

esetében kapott telepszámok az alkalmazott ciklodextrinek hatására nem különböznek egymástól, a várható értékek mindenhol egyenlők. A varianciabecslés eredményeként a nullhipotézist P5% szinten és P1%-os szinten F-próbával értékeltük, majd a szignifikáns különbségek között meghatároztuk a P5% és P1% szinten a statisztikailag igazolható eltérések mértékét ($SzD_{P\%}$).

A nullhipotézist megvizsgáltuk P5%-os szinten ($SzD_{P5\%} = 145$). A kontrollhoz képest az összes vizsgált ciklodextrin statisztikailag szignifikáns mértékben növelte a gombatorzs telepképző sejtszámát (**1. táblázat**).

1. táblázat. A különböző ciklodextrinek és a kontroll közötti különbségek

	K	CD1	CD2	CD3	CD4
K	0	417	254	380	242
CD1		0	-163	-37	-175
CD2			0	126	-12
CD3				0	-138
CD4					0

A különböző ciklodextrinek egymáshoz képest igazolható mértékben eltérő hatást gyakoroltak a telepképző sejtszámra, amennyiben $SzD_{P\%} > 145$. A CD2 és a CD4 jelű kezelések (-163 és -175), igazolhatóan gyengébb szaporodáserkentő hatást gyakoroltak a gombára, mint a CD1 ciklodextrin, amit a negatív előjel mutat. A többi ciklodextrin-kezelés egymáshoz képest (CD2 / CD3, CD2 / DC4, CD3 / CD4) nem okozott szignifikáns különbséget a sejtszám alakulásában.

A nullhipotézist megvizsgáltuk P1%-os szinten is ($SzD_{P1\%} = 206$). A kontrollhoz képest az összes vizsgált ciklodextrin statisztikailag szignifikáns mértékben növelte a gombatorzs telepképző sejtszámát. A különböző ciklodextrinek hatása között azonban nem volt P1%-os szintű, statisztikailag igazolható eltérés.

A teszt-mikroorganizmusként használt *Fusarium moniliforme* mikroszkopikus gomba esetében mind a négy ciklodextrin-kezelés szignifikáns mértékben növelte a tápoldatban a gombák szaporodását. A különböző ciklodextrinek szaporodás-serkentő hatását rangsoroltuk, és a következő sorrendet állíthattuk fel: CD1 > CD3 > CD2 \approx CD4.

A *Fusarium moniliforme* által indukált kémiai változások a tápoldatban

A *Fusarium moniliforme* gomba életfolyamatai változásokat indukáltak a gomba környezetében. Olyan kísérleti módszert dolgoztunk ki, melynek során követni tudtuk az indukált kémiai változásokat a tápoldat elemzése révén. A ciklodextrin-kezelések szemmel látható változásokat okoztak a tápoldatban, amit az **1. melléklet** fotója szemléltet. A kémiai analízisek eredményeit a **2. melléklet** mutatja be.

A hét napig tartó inkubációs kísérlet során egyes kémiai paraméterek tendenciózus változását tapasztaltuk. A tápoldat elektromos vezetőképessége monoton és folyamatosan csökkent mind a négy ciklodextrin-kezelés esetén. A tápoldat eredeti 5,66-os pH-értéke jelentősen lecsökkent és mind a négy ciklodextrin esetében 48 óra után érte el a 4,1-es pH-minimumot, majd ezt követően a pH enyhén emelkedni kezdett. A titrálás során 48 óra múlva mértük a legnagyobb titrálható savkoncentrációkat, később a titrálható sav mennyisége csökkent. A CD2 kezelés kivételével az oldott széntartalom mérése egy maximumon áthaladó görbét eredményezett, a görbe a 2. – 3. napon érte el maximumát. Mind a négy ciklodextrin esetében monoton és folyamatosan csökkent a tápoldat foszfortartalma, értéke 7 nap eltelte után 1000-2000 mg/m³ értékre csökkent le.

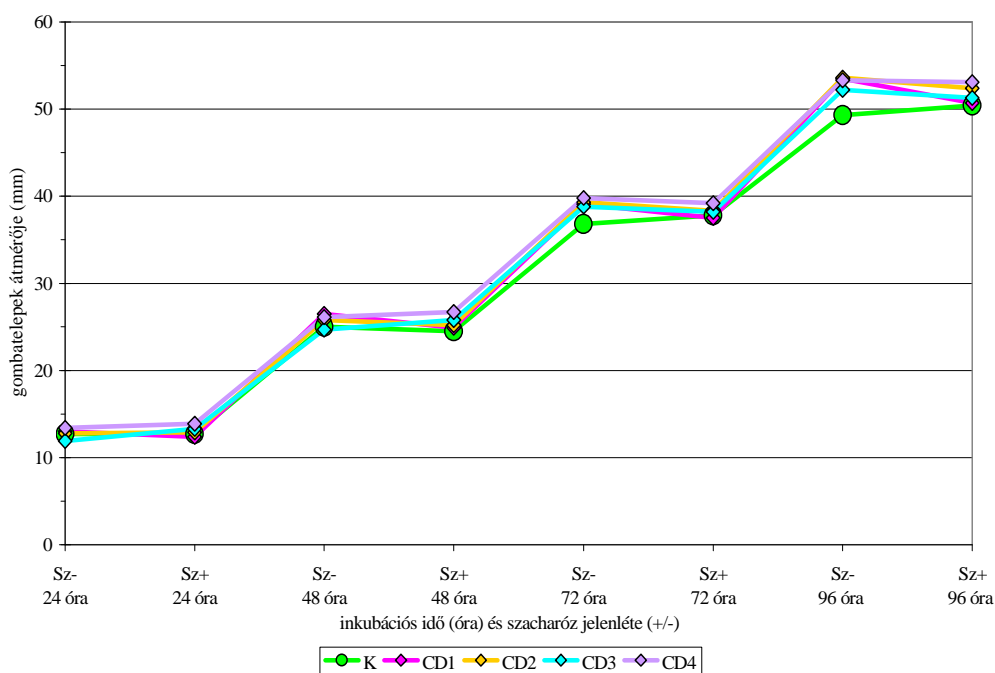
A *Fusarium moniliforme* gomba telepátmérőjének változása ciklodextrinek hatására

A négy különböző ciklodextrinnek, az inkubációs időnek, a tápközeghez adott szacharóznak a gombatorzs telepnövekedésére gyakorolt hatásai közötti (interakció nélküli) összefüggéseit többszörös osztályozásra épülő varianciaanalízissel elemeztük (Multifactor Variance Analysis, Multifactor ANOVA) (Manczel, 1983). Nullhipotézisként feltételeztük, hogy az egyes kezelések esetében mért gombatelep-átmérők sem az inkubációs idő, sem az alkalmazott ciklodextrin, sem a táptalajhoz adott szacharóz jelenlétének hatására nem különböznek, a várható értékek mindenhol egyenlők. A varianciabecslés eredményeként a nullhipotézist P5% szinten F-próbával értékeltük és meghatároztuk a P5% szinten statisztikailag igazolható eltérések mértékét ($SzD_{P\%}$).

A telepnövekedést befolyásoló hatásokat P5%-os szinten értékelve megállapítottuk, hogy a telep átmérőjének méretét leginkább az időfaktor befolyásolta, hiszen minden egyes időponthoz tartozó mérések eredményei szignifikáns mértékben különböztek egymástól (3. melléklet). A kezeléseket elemezve kitűnik, hogy a kontrollhoz képest mindegyik ciklodextrin-féleség szignifikánsan serkentette a gomba telepnövekedését. A bioteszt eredményei azt mutatták, hogy a mikroszkopikus gomba nem érzékeny sem a ciklodextrin-féleség, sem a szacharóz jelenlétére. A gomba a rendelkezésre álló táptalaj felületét – az idő előrehaladtával – maximálisan kihasználja, benövi. Ugyancsak ezt bizonyítja az a tény is, hogy a statisztikai elemzésből az időtényezőt elhagyva a többi faktor együttes és egymás közötti hatásában nem kaptunk igazolható különbségeket.

A táptalajhoz adott könnyen felvehető szénforrás – a szacharóz – jelenléte vagy hiánya nem befolyásolta szignifikánsan a telepnövekedést (1. ábra).

A *Fusarium moniliforme* mikroszkopikus gombával végzett bioteszt megerősítette a tápoldatban kapott pozitív eredményeket: mind a négy ciklodextrin-kezelés serkentette a gombatelepek növekedését, ami a könnyen felvehető szénforrás jelenlététől függetlennek bizonyult.



1. ábra. A gombatelepek növekedése a ciklodextrin-kezelések, a szacharóz jelenléte és az inkubációs idő függvényében.

A *Pseudomonas syringae* telepképző sejtszámának változása ciklodextrinek hatására

Az eredményeket P5%-os szinten értékeltük ($SzD_{P5\%} = 4,17E+7$).

A kontroll, valamint a ciklodextrin-féleségek hatására kialakult sejtszámok közötti szignifikáns differenciát ($SzD_{P\%}$) minden egyes kezelésre (az összes kombinációt figyelembe véve) külön kiszámítottuk (**2. táblázat**). A statisztikai elemzés szerint csak a CD1 jelű ciklodextrin csökkentette szignifikáns mértékben a vizsgált baktérium telepképző sejtszámát mind a kontrollhoz, mind a többi ciklodextrinhez képest. Statisztikailag szignifikáns eltérés csak a kontroll > CD1, CD2 > CD1, CD3 > CD1 valamint a CD4 > CD1 kezelések között volt, a relációs jelek szerinti nagyságrendi különbségekkel. A kontroll, illetve a többi ciklodextrin egymáshoz képest nem okozott statisztikailag szignifikáns eltérést a telepképző sejtszám alakulásában (**4. melléklet**).

2. táblázat. A különböző ciklodextrinek és a kontroll közötti különbségek.

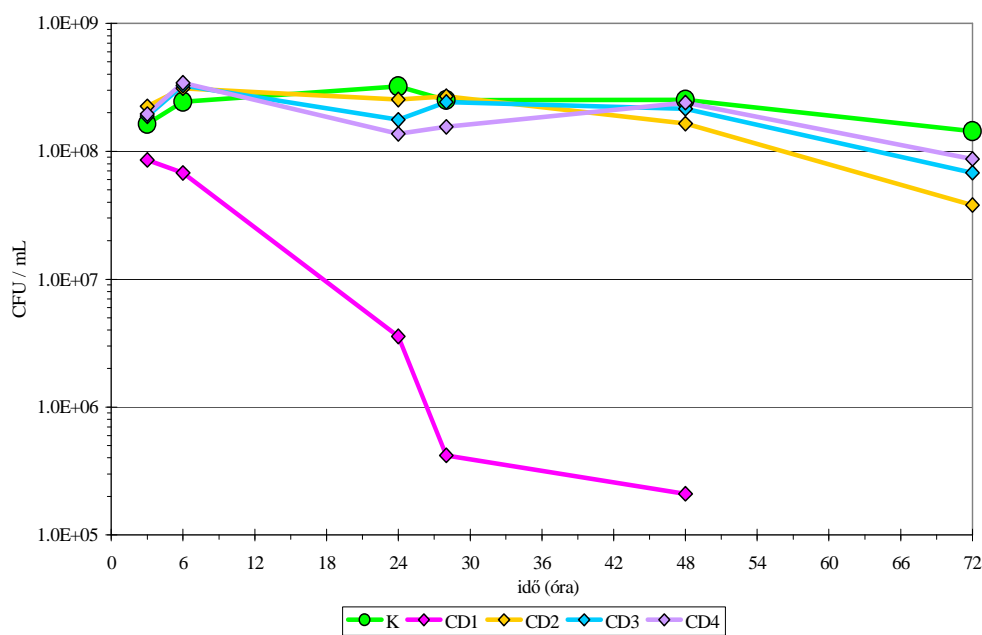
	K	CD1	CD2	CD3	CD4
K	0	2,03E+8	1,90E+7	2,65E+7	3,65E+7
CD1		0	-1,84E+8	-1,77E+8	-1,67E+8
CD2			0	7,44E+6	1,75E+7
CD3				0	1,01E+7
CD4					0

Az inkubációs időpontok alapján kiszámított szignifikáns differenciák három homogén csoportot határoztak meg (a csoporton belüli tagok között nem volt igazolható eltérés): 1., 2., 3., 4. időpont; 3., 4., 5. időpont, valamint 5. és 6. időpont (**4. melléklet**). A homogén csoportok között viszont már szignifikáns különbség volt. Az idő előrehaladtával kialakult sejtszámok a következő sorrendet adták: 3. óra < 6. óra > 24. óra > 28. óra > 48. óra > 72. óra.

A baktériumtörzs szaporodását az inkubációs idő függvényében vizsgálva felvettük a *Pseudomonas syringae* szaporodási görbét (**2. ábra**). A kontroll és három ciklodextrin kezelés esetén (CD2, CD3, CD4) a szaporodási görbe lefutása hasonló. Az adaptáció (a lag-fázis) a kísérlet legelején gyorsan lezajlik. Az adaptációt egy intenzív szaporodási szakasz (log-fázis) követi, melynek során a kiindulási sejtkoncentráció 6 óra alatt mintegy 10000-szeresére nő és egy maximumot ér el. Az intenzív szaporodási fázist egy hosszú stagnáló szakasz követi, majd 48 óra után a pusztulási fázis megindulása figyelhető meg.

A CD1 kezelés negatív hatást gyakorolt a baktériumtörzs telepképző sejtszámára, amit a szignifikáns sejtszám-csökkenés is mutat. A CD1 kezelés esetén már a 3. órától kezdve megfigyelhető a pusztulási fázis.

A teszt-mikroorganizmusként használt *Pseudomonas syringae* baktérium esetében a CD2, CD3, CD4 kezelés nem gátolta, nem csökkentette a baktériumok szaporodását. E három - környezetbarátnak tekinthető - ciklodextrin alkalmazásakor az inkubációs idő függvényében tapasztalt sejtszámbeli változások az általános bakteriális anyagcsere- és szaporodási sajátosságoknak megfelelően alakultak. A CD1 kezelés lényegesen befolyásolta a baktériumok szaporodását, ezért környezetbe való kijuttatása előtt további vizsgálatok elvégzése szükséges.



2. ábra. A baktériumtelepek szaporodása a ciklodextrin-kezelések függvényében.

A *Pseudomonas syringae* által indukált kémiai változások a tápoldatban

A *Pseudomonas syringae* baktérium életfolyamatai szintén – de a gombánál tapasztaltaktól eltérő – változásokat indukáltak a tápoldatban. Az eredményeket a 5. melléklet mutatja be.

A baktérium és a gomba által indukált kémiai változások sok tekintetben eltérnek egymástól. A legfontosabb különbség, hogy kontroll, CD2, CD3, CD4 kezelés esetében a baktérium az első 6 órában kismértékben savanyította, majd nagymértékben lúgosította környezetét. Ezzel összhangban a redoxpotenciál nagy volt az első két időpontban, majd igen jelentős mértékben lecsökkent, esetenként negatív redoxpotenciál értéket mértünk.

A CD1 kezelés esetében igen meglepő eredményeket kaptunk: sem a pH értéke, sem a redoxpotenciál értéke, sem a titrálható sav mennyisége nem változott 72 óra alatt. Ez arra utal, hogy a kezelés hatására a baktérium és a tápoldat között sem protontranszfer, sem elektrontranszfer folyamatok nem játszódtak le. A CD1 kezelés erősen gátolta a baktérium életfolyamatait.

A *Fusarium moniliforme* gombával és a *Pseudomona syringae* baktériummal végzett tápoldatos kísérleti eredmények kiértékelése alapján a következőket állapítottuk meg:

- a kidolgozott módszer alkalmas a mikroorganizmusok életfolyamatai által indukált kémiai változások nyomon követésére, a biológiai és kémiai kölcsönhatások tanulmányozására,
- a módszer segítségével mind a rövid távú, mind a hosszú távú folyamatok vizsgálatára lehetőség nyílik,
- a kémiai folyamatok jellemzése révén feltárhatók a legfontosabb – esetenként limitáló – környezeti tényezők.

Irodalomjegyzék

Horváth S. Mikrobiológiai praktikum. Tankönyvkiadó. Budapest. 1980. pp. 219-220.

Manczel J. (szerk.) Statisztikai módszerek alkalmazása a mezőgazdaságban. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. 1983. pp. 169-176.

Sváb J. Biometriai módszerek a kutatásban. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. 1981. pp. 85-262.

Szabó I. M. A *Pseudomonas* -ok ökológiai - élettani és rendszertani vizsgáló módszerei. In: Szabó I. M. A bioszféra mikrobiológiája. Akadémiai Kiadó. Budapest. 1998. pp. 500-545.

Szegi J. Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest. 1979. pp. 171-177

1/1. melléklet Különböző ciklodextrinek hatása a *Fusarium moniliforme* szaporodására a tápoldat kísérlet 72. órájában



1/2. melléklet A *Fusarium moniliforme* által indukált kémiai változások a tápoldatban

Gomba	idő	EC	redox	pH	titrálás	oldott	Na	K	Mg	P	Ca	Fe	Zn
			poten- ciál		NaOH	C							
	óra	mS	mV		me/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/m3	mg/L	mg/m3	mg/m3
K	24	0.98	180	5.63	0.14	23600	26	190	2.7	26600	5.84	143	622
K	48	0.76	191	4.14	5.54	77000	27	158	0.4	3110	4.45	20	291
K	72	0.70	124	4.49	3.16	78750	29	131	2.8	2580	13.40	27	224
K	96	0.75	103	4.45	3.89	68250	26	120	1.8	2360	9.76	40	189
K	168	0.61	159	4.58	2.96	10600	28	154	2.5	1710	11.00	382	495
CD1	24	0.93	180	4.99	1.96	38450	26	108	2.0	11400	5.22	89	502
CD1	48	0.62	92	4.06	7.08	47700	25	50	1.1	1810	6.05	71	344
CD1	72	0.53	90	4.34	3.61	41450	27	35	2.6	1630	15.60	45	268
CD1	96	0.57	44	4.52	2.87	33675	26	41	1.1	1480	5.61	17	81
CD1	168	0.52	117	4.88	1.33	16925	27	123	3.1	1090	11.20	1250	5200
CD2	24	0.96	173	5.55	0.16	94500	42	221	3.2	36100	6.63	204	701
CD2	48	0.72	22	4.15	8.43	76750	28	93	0.6	2350	5.65	42	230
CD2	72	0.66	59	4.41	3.81	67500	30	73	2.3	2260	13.80	17	325
CD2	96	0.65	52	4.42	3.88	55250	29	55	0.9	2150	6.79	25	201
CD2	168	0.55	129	4.69	2.50	20825	27	129	2.4	1460	7.78	1930	3560
CD3	24	0.93	175	5.45	0.33	47175	27	119	1.3	16300	5.70	132	428
CD3	48	0.71	-5	4.15	6.91	83250	26	84	0.9	2460	10.20	27	198
CD3	72	0.67	36	4.48	3.56	72500	28	60	1.6	2280	8.56	26	221
CD3	96	0.67	44	4.41	3.01	60750	27	49	1.5	2110	7.66	16	214
CD3	168	0.57	63	4.61	3.07	21775	26	147	1.8	1550	7.17		767
CD4	24	1.15	168	5.51	0.24	48175	71	112	1.9	21200	5.74	133	522
CD4	48	0.91	-53	4.13	6.84	74000	72	74	0.6	2220	6.92	30	267
CD4	72	0.88	25	4.38	4.14	70500	68	52	1.4	2060	8.76	18	247
CD4	96	0.92	16	4.41	3.95	57500	70	43	1.2	1850	6.73	18	67
CD4	168	0.77	87	4.69	2.44	21225	65	134	1.3	1210	8.45		781

1/3. melléklet Gombatelepek méretének összehasonlítása a kezelések (kontroll, CD1, CD2, CD3, CD4), az inkubációs idő és a szacharóz táptalajbeli jelenléte szerint

Analysis of Variance for TEL.TEL - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:SZACH.SZA	1.0240	1	1.0240	1.867	.1816
B:KEZ.KEZ	17.7615	4	4.4404	8.096	.0001
C:IDO.IDO	8477.9760	3	2825.9920	5152.522	.0000
RESIDUAL	17.002500	31	.5484677		
TOTAL (CORRECTED)	8513.7640	39			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Multiple range analysis for TEL.TEL by SZACH.SZA

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
van	20	32.060000	X
nem	20	32.380000	X

contrast	difference	+/-	limits
van - nem	-0.32000		0.47775

* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for TEL.TEL by KEZ.KEZ

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
KON	8	31.150000	X
CD3	8	32.025000	X
CD1	8	32.200000	X
CD2	8	32.537500	XX
CD4	8	33.187500	X

contrast	difference	+/-	limits
KON - CD1	-1.05000		0.75539 *
KON - CD2	-1.38750		0.75539 *
KON - CD3	-0.87500		0.75539 *
KON - CD4	-2.03750		0.75539 *
CD1 - CD2	-0.33750		0.75539
CD1 - CD3	0.17500		0.75539
CD1 - CD4	-0.98750		0.75539 *
CD2 - CD3	0.51250		0.75539
CD2 - CD4	-0.65000		0.75539
CD3 - CD4	-1.16250		0.75539 *

* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for TEL.TEL by IDO.IDO

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-------	-------	---------	--------------------

24h	10	12.900000	X
48h	10	25.520000	X
72h	10	38.480000	X
96h	10	51.980000	X

contrast	difference	+/-	limits
24h - 48h	-12.6200		0.67565 *
24h - 72h	-25.5800		0.67565 *
24h - 96h	-39.0800		0.67565 *
48h - 72h	-12.9600		0.67565 *
48h - 96h	-26.4600		0.67565 *
72h - 96h	-13.5000		0.67565 *

* denotes a statistically significant difference.

1/4. melléklet Baktériumtelepek számának összehasonlítása a kezelések (kontroll, CD1, CD2, CD3, CD4) és az inkubációs idő szerint

Analysis of Variance for TELBCFU.TELBCFU - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:KEZB.KEZB	4.9346E0017	4	1.2336E0017	31.171	.0000
B:NAP.NAP	2.7902E0017	5	5.5805E0016	14.100	.0000
RESIDUAL	3.1662E0017	80	3.9577E0015		
TOTAL (CORRECTED)	1.0891E0018	89			

0 missing values have been excluded.
All F-ratios are based on the residual mean square error.

Multiple range analysis for TELBCFU.TELBCFU by KEZB.KEZB

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
I/CD1	18	2.6114E0007	X
I/CD4	18	1.9279E0008	X
I/CD3	18	2.0284E0008	X
I/CD2	18	2.1028E0008	X
I/K	18	2.2930E0008	X

contrast	difference	limits
I/K - I/CD1	2.03187E8	4.17413E7 *
I/K - I/CD2	1.90241E7	4.17413E7
I/K - I/CD3	2.64592E7	4.17413E7
I/K - I/CD4	3.65123E7	4.17413E7
I/CD1 - I/CD2	-1.84163E8	4.17413E7 *
I/CD1 - I/CD3	-1.76728E8	4.17413E7 *
I/CD1 - I/CD4	-1.66675E8	4.17413E7 *
I/CD2 - I/CD3	7.43510E6	4.17413E7
I/CD2 - I/CD4	1.74882E7	4.17413E7
I/CD3 - I/CD4	1.00531E7	4.17413E7

* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for TELBCFU.TELBCFU by NAP.NAP

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
6.	15	6.7188E0007	X
1.	15	1.7132E0008	X
5.	15	1.7480E0008	X
3.	15	1.7832E0008	X
4.	15	1.8377E0008	X
2.	15	2.5820E0008	X

contrast	difference	limits
1. - 2.	-8.68755E7	4.57253E7 *
1. - 3.	-6.99528E6	4.57253E7
1. - 4.	-1.24440E7	4.57253E7
1. - 5.	-3.47836E6	4.57253E7

1. - 6.	1.04133E8	4.57253E7 *
2. - 3.	7.98802E7	4.57253E7 *
2. - 4.	7.44315E7	4.57253E7 *
2. - 5.	8.33971E7	4.57253E7 *
2. - 6.	1.91009E8	4.57253E7 *
3. - 4.	-5.44876E6	4.57253E7
3. - 5.	3.51692E6	4.57253E7
3. - 6.	1.11129E8	4.57253E7 *
4. - 5.	8.96568E6	4.57253E7
4. - 6.	1.16577E8	4.57253E7 *
5. - 6.	1.07612E8	4.57253E7 *

 * denotes a statistically significant difference.

1/5. melléklet A *Pseudomonas syringae* által indukált kémiai változások a tápoldatban

Baktérium	idő	EC	redox	pH	titrálás	oldott	Na	K	Mg	P	Ca	Fe	Zn
			poten- ciál		NaOH HCl	C							
	óra	mS	mV		me/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/m ³	mg/L	mg/m ³	mg/m ³
K	3	5.70	193	5.46	0.23	33375	888	514	48.7	30100	2.20	1810	350
K	6	5.80	233	5.47	0.21	32600	841	487	49.5	31700	2.13	1700	371
K	24	5.90	12	6.32	1.65	34725	846	486	47.0	19800	2.41	1240	605
K	28	6.40	59	6.53	1.33	32225	990	498	46.2	17800	2.43	1090	668
K	48	6.60	-10	8.08	11.11	29600	917	502	44.2	13900	1.65	1110	264
K	72	6.30	-19	8.27	11.14	35500	850	540	47.7	17700	2.59	2930	1240
CD1	3	5.50	230	4.78	2.65	43175	848	475	50.2	28700	4.23	1740	459
CD1	6	5.75	254	4.80	2.59	44475	886	470	48.3	30500	2.29	1780	432
CD1	24	5.40	220	4.78	2.62	41025	902	484	48.8	23400	2.29	1760	692
CD1	28	5.65	214	4.79	2.90	40675	927	493	48.1	22900	2.42	1690	773
CD1	48	5.50	212	4.79	2.60	39325	921	495	48.5	23800	2.25	1600	416
CD1	72	5.00	212	4.79	2.59	47700	860	539	50.3	28800	2.76	2160	1140
CD2	3	5.40	220	5.50	0.20	42600	885	523	47.3	36700	2.03	1650	419
CD2	6	5.60	234	5.51	0.18	42100	861	514	47.5	33900	2.29	1620	359
CD2	24	5.95	45	6.81	2.73	48375	900	492	45.4	16100	2.67	1190	613
CD2	28	6.40	51	6.93	4.41	40525	918	501	43.1	14600	2.62	1120	537
CD2	48	6.40	-10	8.37	11.50	40875	983	561	39.3	19100	1.74	1030	237
CD2	72	6.10	-14	8.44	11.10	45400	802	523	45.4	18900	2.55	901	756
CD3	3	5.35	226	5.51	0.18	41925	812	479	47.2	31200	2.38	1710	368
CD3	6	5.60	232	5.52	0.16	40850	830	480	48.1	31100	2.29	1680	355
CD3	24	5.80	17	6.65	1.97	42850	890	483	45.0	14200	3.87	1160	563
CD3	28	6.30	8	7.03	4.16	40550	889	484	44.0	13600	2.66	1260	556
CD3	48	6.30	-16	8.29	10.50	37100	897	495	41.2	14600	1.78	1100	257
CD3	72	5.90	-26	8.44	10.03	43775	809	519	46.5	16900	3.47	907	974
CD4	3	5.50	229	5.48	0.21	45650	990	536	49.4	33800	2.10	1760	361
CD4	6	5.80	233	5.49	0.19	42725	913	501	48.4	31300	2.01	1640	387
CD4	24	5.90	42	6.45	1.25	40525	1010	506	45.2	15300	2.18	1170	611
CD4	28	6.40	38	6.69	2.07	40325	981	488	45.5	14100	2.48	1060	578
CD4	48	6.50	-16	8.23	10.44	38975	1000	509	36.2	15000	2.20	825	258
CD4	72	6.20	-18	8.40	10.08	48300	856	499	46.3	17600	2.24	845	631