

Cellulóz és xilán hidrolizáló, poliszacharidáz enzimtermelő baktérium törzsek feltérképezése mezőgazdasági területekről vett talajmintákban, tenyésztéses eljárással

BIOFIL®

RÓZSA MÁTÉ¹, ÁKOS TÓTH², JÓZSEF KUKOLYA², JÓZSEF KUTASI¹

¹BioFil Mikrobiológiai, Géntechnológiai és Biokémiai Kft. Váci út 87, H-1139 Budapest,

²Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ-Agrár-környezettudományi Kutatóintézet-Környezeti és Alkalmazott Mikrobiológiai Osztály Herman Ottó út 15, H-1022 Budapest

Bevezetés

A nagytömegű növényi maradványok kezelés nélkül problémát okozhatnak az agrotechnikai műveletek során, ugyanis a megmaradt, nem kellő mértékben aprított szárrészek rontják a vetés minőségét, romlik a mag csírázása, továbbá potenciális növénypatogén gomba források. Hazánkban évente 8-10 millió tonna kukoricaszár keletkezik, amelynek egy részét a szántóföldi gyakorlatban visszaforgatják a talajba. Ezért fontosak a talajban azok a mikroszervezetek, melyek képesek lebontani a cellulózt, hemicellulózt és lignint. A szármagmaradványok lebomlása során a tápanyagok felszabadulnak és elérhetővé válnak a növények számára, így fontos szerepet játszanak a talajtermékenység kialakulásában, fenntartásában.

Anyag és módszer

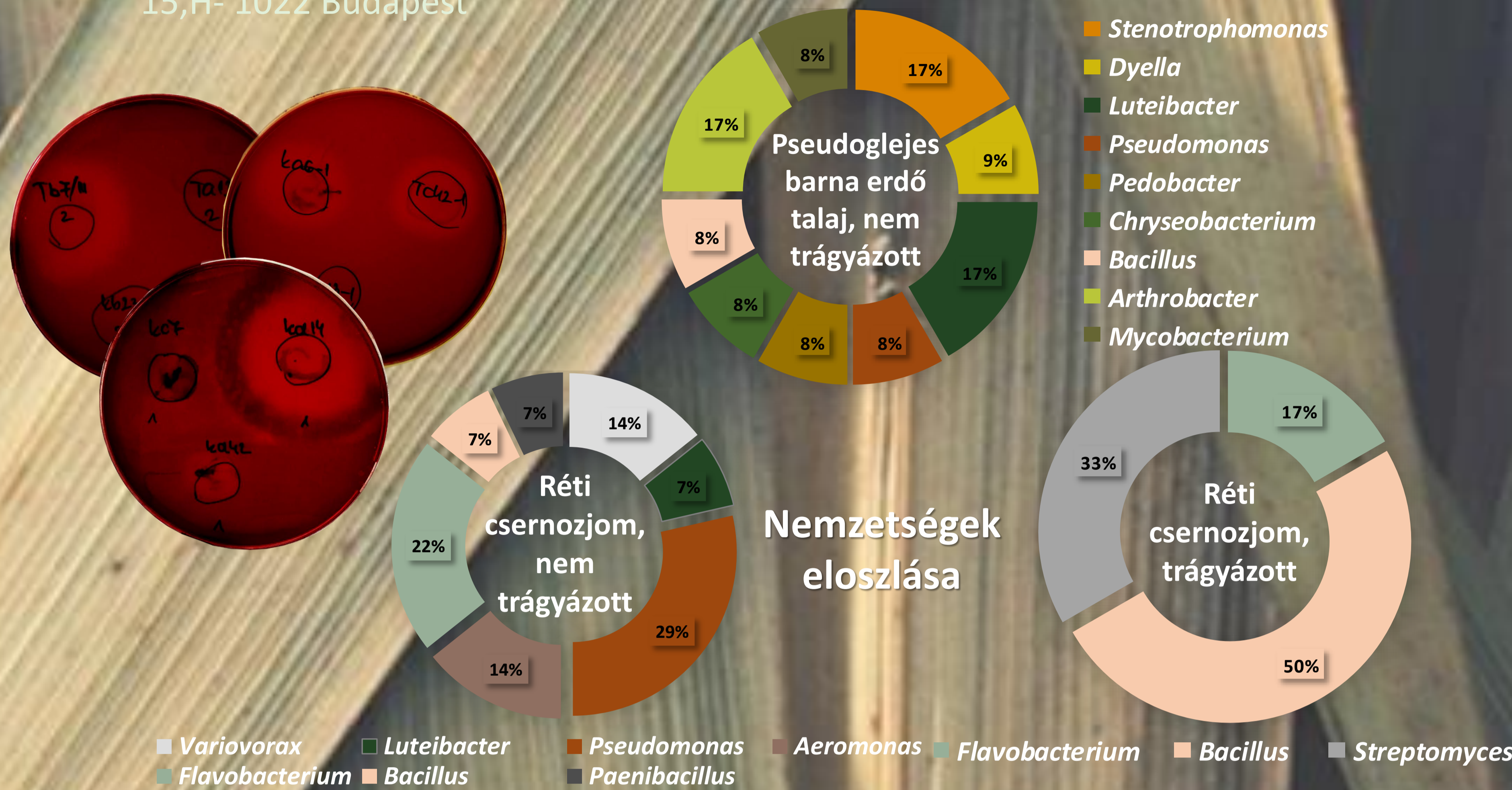
A mintavétel két helyszínen történt, egy pseudoglejes barna erdőtalajból (Tornyiszentmiklós) és réti csernozjom talajból (Kiskunlacháza). Az izolálás 0,5%-os poliszacharid tartalmú (a CMC 0,2%) agar lemezekon történt. A poliszacharidok a következők voltak: mikrokristályos cellulóz, carboxymetil-cellulóz (CMC), tapétaragasztó, xilán, mannán, Mn300, bambusz. A pozitív törzsek szelekciója 1%-os Kongó vörös festékkel történt, melyeket 1N NaCl-os oldattal mostuk. A törzsiszolátumokból DNS-t izoláltunk majd az előzetes molekuláris taxonómiához 16S rDNS PCR terméket készítettünk az identifikáláshoz. A törzseket 15 és 28 °C-on kukoricacsutka és CMC tartalmú tápoldatban tenyésztettük 250 rpm-en rázatva. Majd DNSA módszerrel mértük a törzsek celluláz és xilánáz aktivitását.

Eredmények

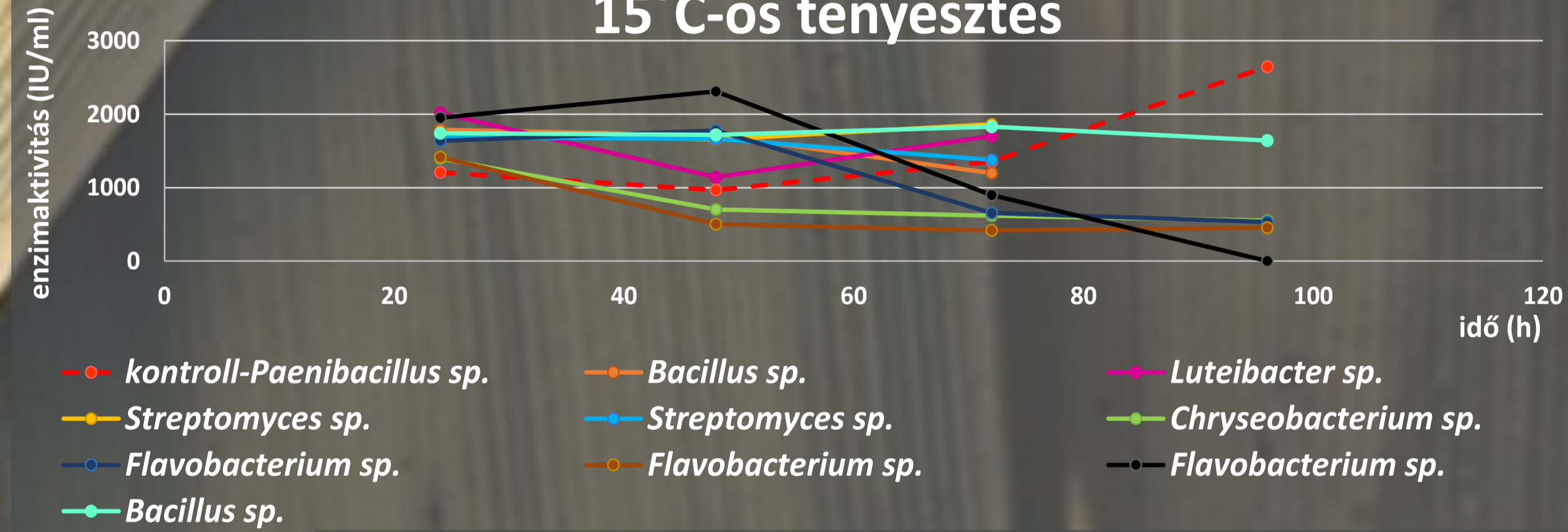
A 250 db izolátumunkból a Kongó vörös festéssel 32 db-ot sikerült szelektálni, melyek látható feltisztulási zónát mutattak, tehát poliszacharid bontók. A pseudoglejes barna erdőtalajból 12 két bontó törzset szelektáltunk, mely 9 nemzetséghez tartozik, míg a réti csernozjom talaj mintákból 20 törzset, melyek 8 nemzetséghez tartoznak. Megfigyelhetjük, hogy a trágyázás jelentősen csökkentette a diverzitást a réti csernozjom talaj esetében. Mindazonáltal nem volt hatással a *Bacillus* és *Flavobacterium* törzsek jelenlétére. Ugyanakkor 9 törzsnek volt mérhető aktivitása spektrofotometriásan, közülük kiemelkedő eredményeket mutatott mind a xilánáz (48h; 17742.03 IU/ml) mind a celluláz (72h; 540.261 IU/ml) enzimaktivitás terén a *Luteibacter* sp. Celluláz aktivitás tekintetében ígéretesnek tűnik a *Bacillus* sp. és *Flavobacterium* sp., azonban az idő előrehaladásával a *Bacillus* sp. aktivitása degradálódik. Xilánáz esetében 15°C-on szintén egy *Flavobacterium* sp. ért el magas aktivitást 48 h-nál.

Összefoglalás

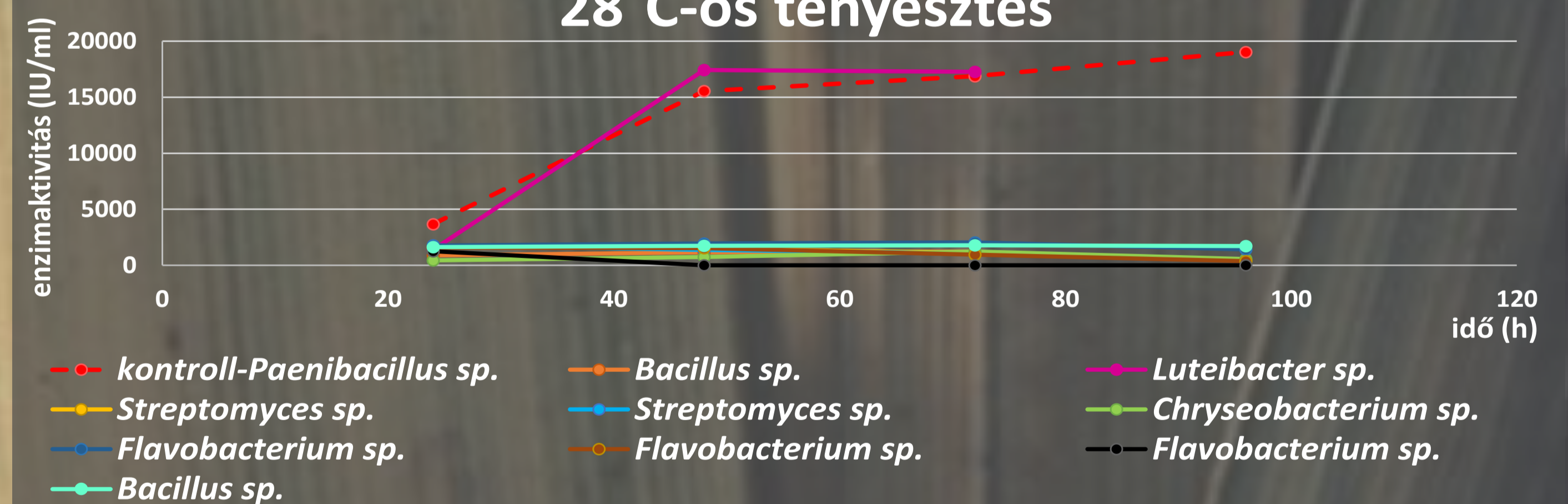
A 32 db poliszacharidáz pozitív törzsből a pseudoglejes barna erdőtalajból izolált minták nagyobb diverzitást mutattak, mint a réti csernozjomból származók, ugyanakkor több poliszacharid bontó törzs lett izolálva ebből a talajból. A trágyázás felére csökkentette a pozitív minták számát. A kiválogatott pozitív törzsek közül azonban csak pár mutatott kiemelkedő enzimaktivitást a spektrofotometriás mérést követően. Ez a különbség valószínűleg a Kongó vörös viszonylag magas fals pozitív hibaarányából származik.



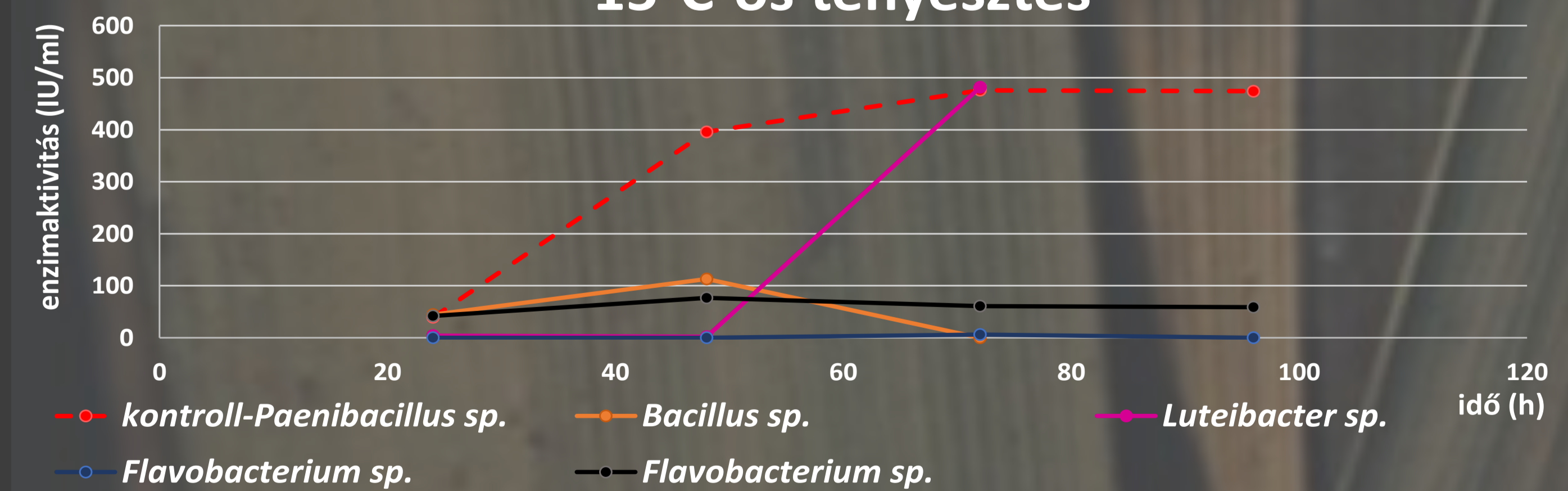
Szelektált törzsek xilánáz enzimaktivitása, 15°C-os tenyésztés



Szelektált törzsek xilánáz enzimaktivitása, 28°C-os tenyésztés



Szelektált törzsek celluláz enzimaktivitása, 15°C-os tenyésztés



Szelektált törzsek celluláz enzimaktivitása, 28°C-os tenyésztés

