

# Talajoltóanyag törzsek tartós együttélésének vizsgálata a talajspecifikus BioFil® talajoltóanyag termékekben

Kovács Rita, Imre Csilla, Puspán Ildikó, Imri Ádám, Jámbor Mihály, Kutasi József

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

## Bevezetés

A talajoltóanyag termékek baktérium tenyésztési alacsony termékenységgel, leromlott talajokon is képesek kifejteni jótékony hatásukat, de ennek feltétele, hogy a kijuttatott talajoltóanyagban megfelelő élő csíraszám és arányban legyenek jelen az egyes törzsek. Az élő baktériumokat tartalmazó, hosszú ideig eltartható mikrobiális termékekben tartós együttélés kialakulása számos előnnyel jár a társulást alkotó baktérium törzs populációk számára. A mikroorganizmus közösség stabilabb és ellenállóbb a külső behatásokkal szemben. A stabil rendszer az egyensúlyi létszámtól való eltéréseket kompenzálni képes. Emellett a mikrobiális közösség ökológiai potenciálja túlszárnyalja a közösséget alkotó egyes fajok törzs tenyésztésének összegét.

## Célkitűzések

A munkánk célja a szélsőséges talajokhoz adaptálódott, pH-, só- és hidegtoleráns, valamint kolonizációs-kompetíciós vizsgálatokkal szelektált, együttélésre és egymás melletti szaporodásra (kofermentáció) is képes baktérium törzsek – a BioFil® Savanyú, Normál és Lúgos talajoltóanyag termékek (Kutasi és mtsai, 2014, WO2015118516 A1) komponenseinek – tartós együttélésének vizsgálata.

## Anyag és módszer

A termékek tenyésztésének három-három párhuzamos mintáját a fermentálás végeztével – melasz és kukoricaekvár alapú táptalajon – a törzsek meghatározott arányban végzett bekeverése után 4°C-on tároltuk gyári tisztaságú 200 ml-es műanyag palackban és mintavételeztük heti ismétléssel hat hónapon keresztül. A vizsgálatok során a törzsek egyenkénti és az összes élő csíraszámát agar lemezes szélesztéses módszerrel – Nutrient Agar (Oxoid®) táptalajon – detektáltuk. A mintavételezéskor feljegyeztük a termékek kémhatását is.

## Eredmények

A BioFil® Normál és BioFil® Lúgos talajoltóanyagokban a kezdeti sejtszámok utáni összsejtszámok és a hatodik hónapban kapott sejtszámok között nincs szignifikáns eltérés, az élő csíraszámok  $10^9$  és  $10^{10}$  CFU értékek között mozognak a vizsgált időszakban. A BioFil® Savanyú keverék mintáinak csíraszámai csökkenő tendenciát mutat a negyedik hónapig, de az ötödik hónapra stabilizálódik ( $10^8$ - $10^9$  CFU), ismét stationer fázisba kerülnek a tenyésztetek. (1. ábra)

A vizsgált talajoltóanyagokat alkotó törzsek kimutatható számban jelen vannak hat hónapon át a tenyésztetekben, azonban az egyes törzsek számított élő sejtszám értékei akár nagyságrendnyi különbségeket is mutatnak az egymást követő mintavételek során. A kémhatás monitorozásakor nem tapasztaltunk szignifikáns változásokat. Az összes minta esetében 5,8-6,5 pH közötti értékeket kaptunk a vizsgált időszakban. (2., 3., 4. ábra)

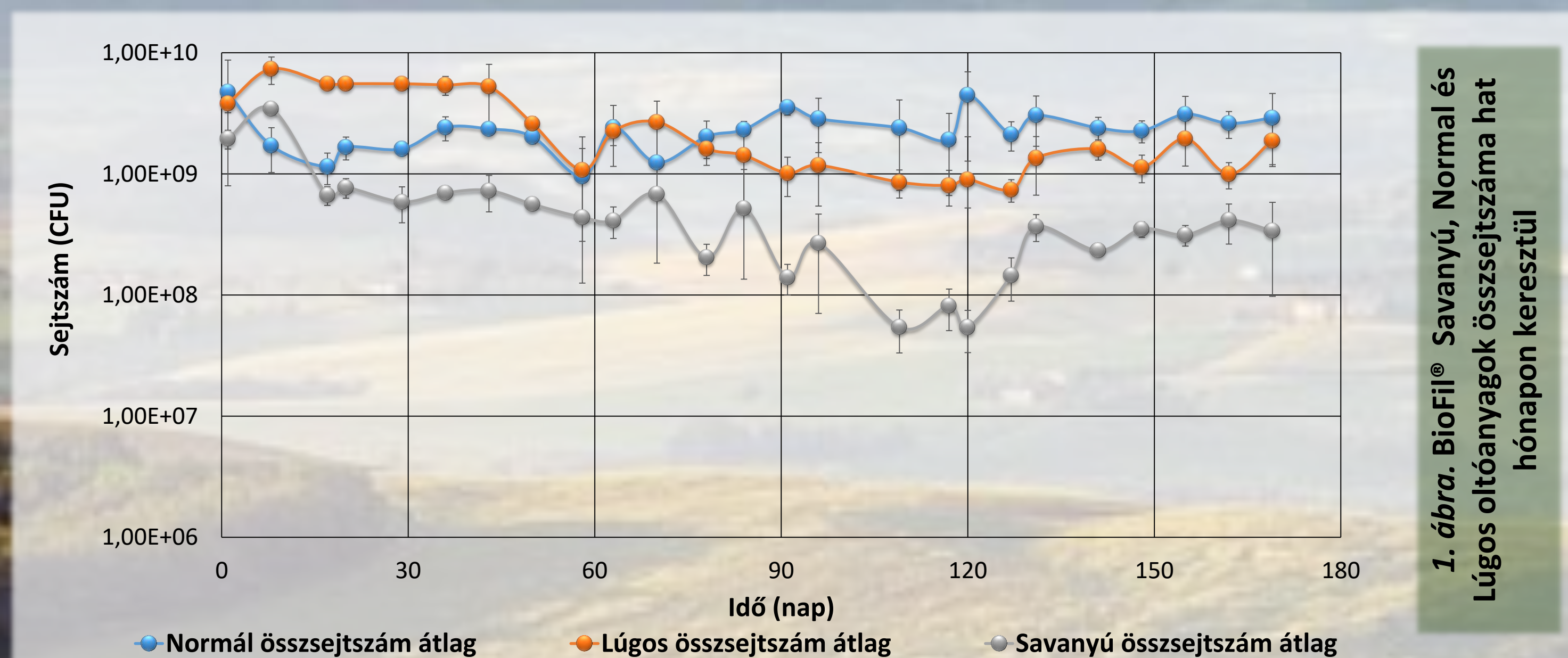
Az *Azospirillum brasilense* (NF11, NF10) törzsek esetében az talajoltóanyagokban tapasztalt sejtszám értékek több esetben magasabbnak és stabilabbnak bizonyultak a tiszta tenyésztetben kapott sejtszám értékekhez képest (5. ábra) – hasonlóan a *Bacillus simplex* (S28) és *Paenibacillus peoriae* (S284) törzsekhez (nem ábrázolt).

## Következtetések

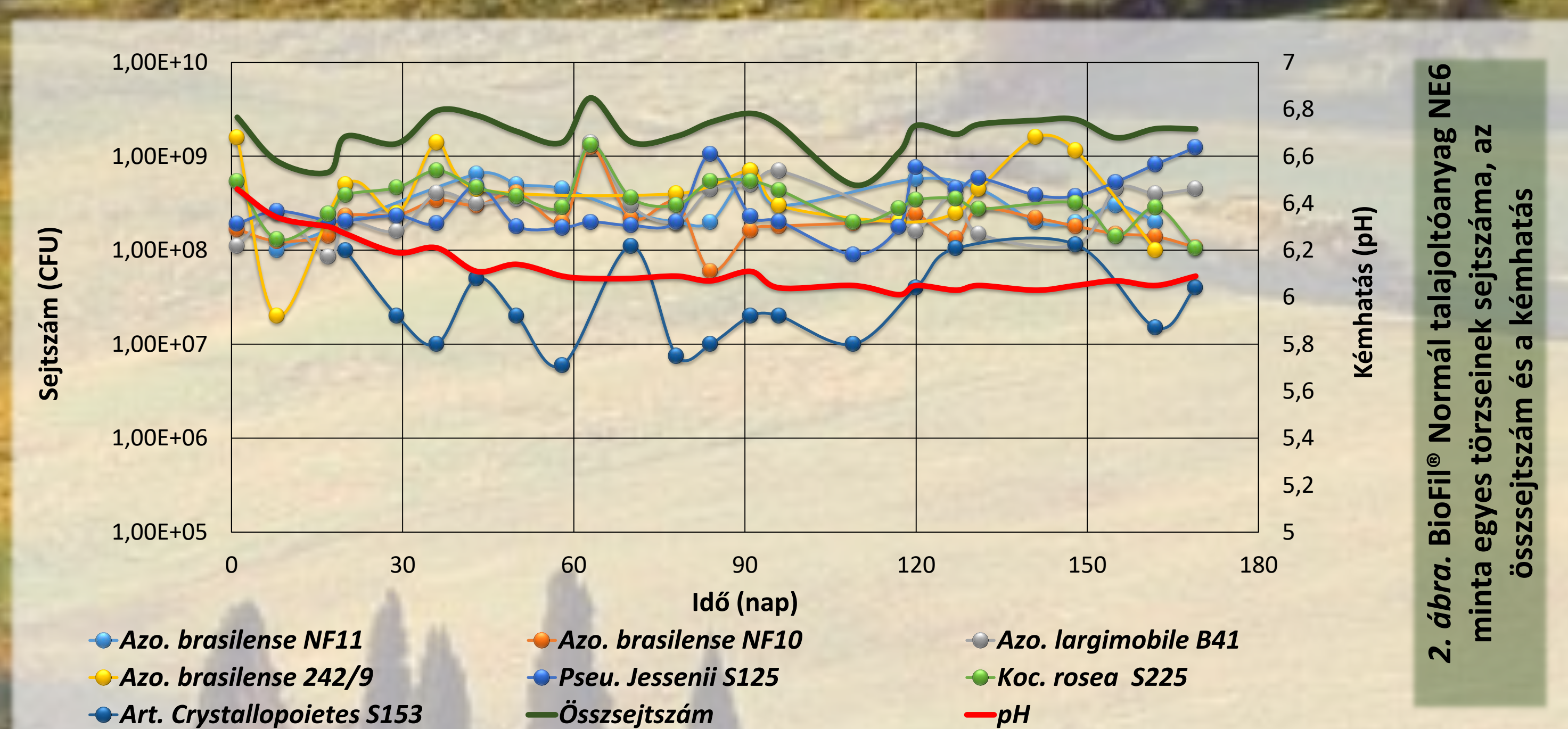
A baktérium tenyésztetekben az anyagcsere lelassult, de a nagyrészt pszikrotoleráns sejtek folyamatos szaporodását és pusztulását továbbra is megfigyeltük. Az egyes törzsek sejtszáma és így egymáshoz viszonyított arányuk dinamikusan változik, míg az összsejtszám alig változott. A sejtek dinamikus egyensúlyban vannak egymással. Ez a dinamikus egyensúly a BioFil® Normál talajoltóanyag esetében a legstabilabb (2. ábra). Az oxigén fogyasztásával illetve a baktériumok életfolyamatai során keletkező gázok képződésével az aerob környezet anaerobbá változik, mely körülményre a nagyrészt fakultatív anaerob baktérium törzsek toleránsnak bizonyultak, míg az aerob vagy mikroaerofil törzsek cisztát vagy spórát képeztek.

A deklínációs fázisban a mikrobiális anaerob bomlási folyamatok során keletkező szerves savak miatt a zárt közösségekben a kémhatás általában csökken, de a vizsgált törzsközegekben nem csökkent szignifikáns mértékben. A talajoltóanyag törzsközegek párhuzamos mintái a vizsgált időszakban nem kerültek deklínációs fázisba.

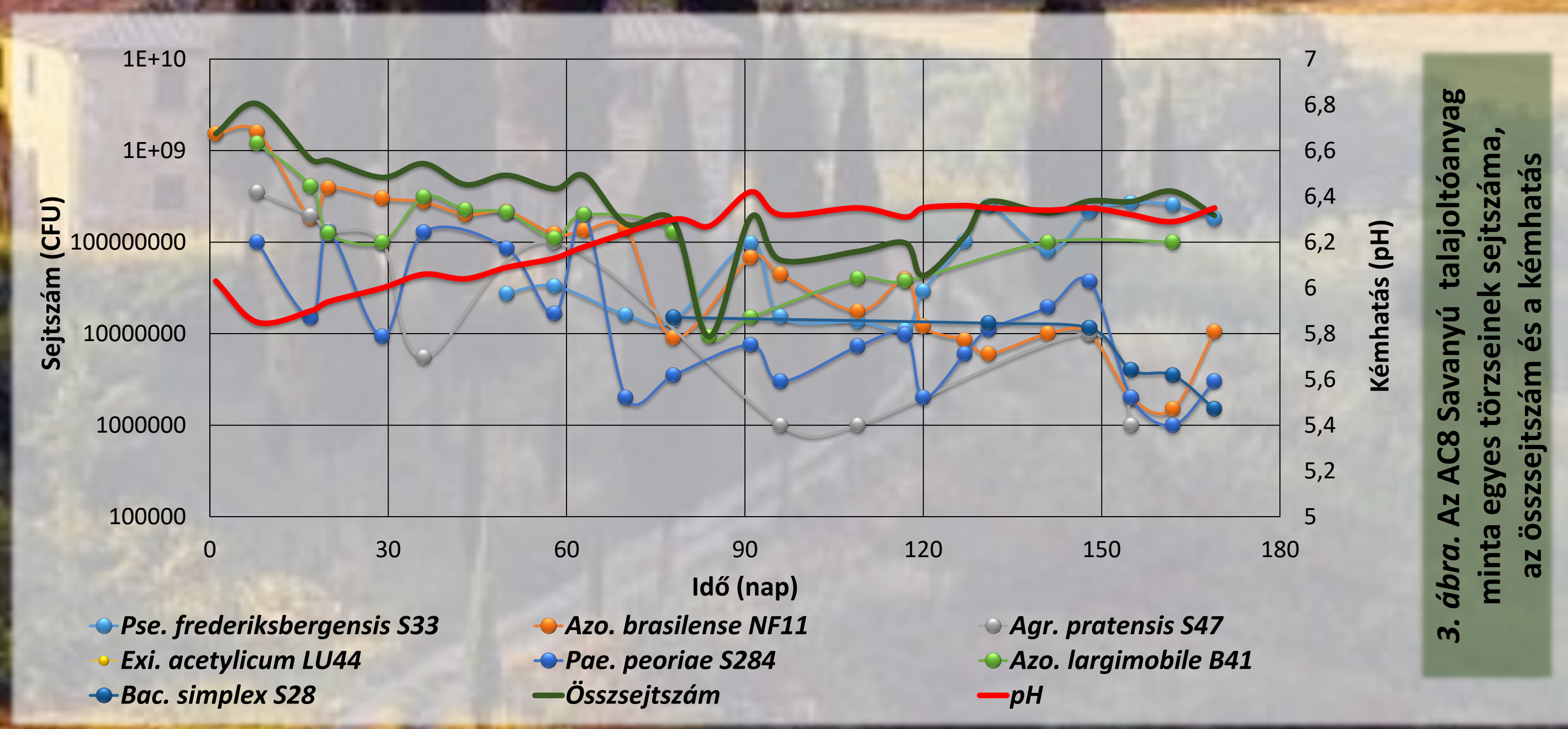
Az *Azospirillum brasilense* NF11 és NF10, a *Bacillus simplex* S28 és *Paenibacillus peoriae* S284 törzsek a keverék oltóanyagokban hatékony együttélési képességet mutatnak és magasabb élő csíraszámú, szaporodóképesebb és stabilabb tagjai a közösségnek, mint önálló tenyésztetekben (5. ábra). A sejtek között lévő kölcsönhatások, a kiválasztott anyagcseretermékek és az elhalt sejtek anyagainak felhasználása miatt a zárt rendszerben a sejtek egy időben pusztulnak és szaporodnak, de az eltérő tápforrás és környezeti feltétel igények révén mindegyik törzs megfelelő sejtszámmal jelen van a tenyésztetben akár hat hónapig is.



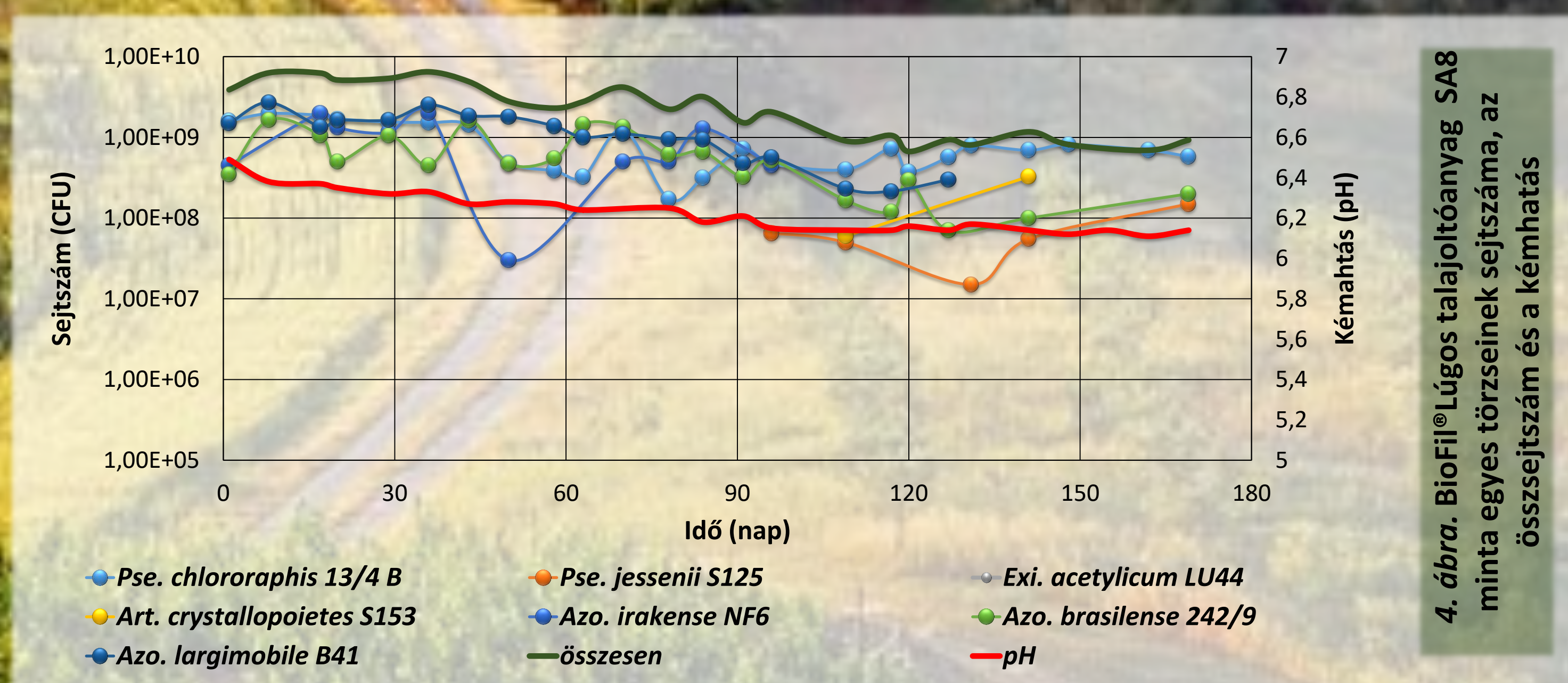
1. ábra. BioFil® Savanyú, Normál és Lúgos oltóanyagok összsejtszáma hat hónapon keresztül



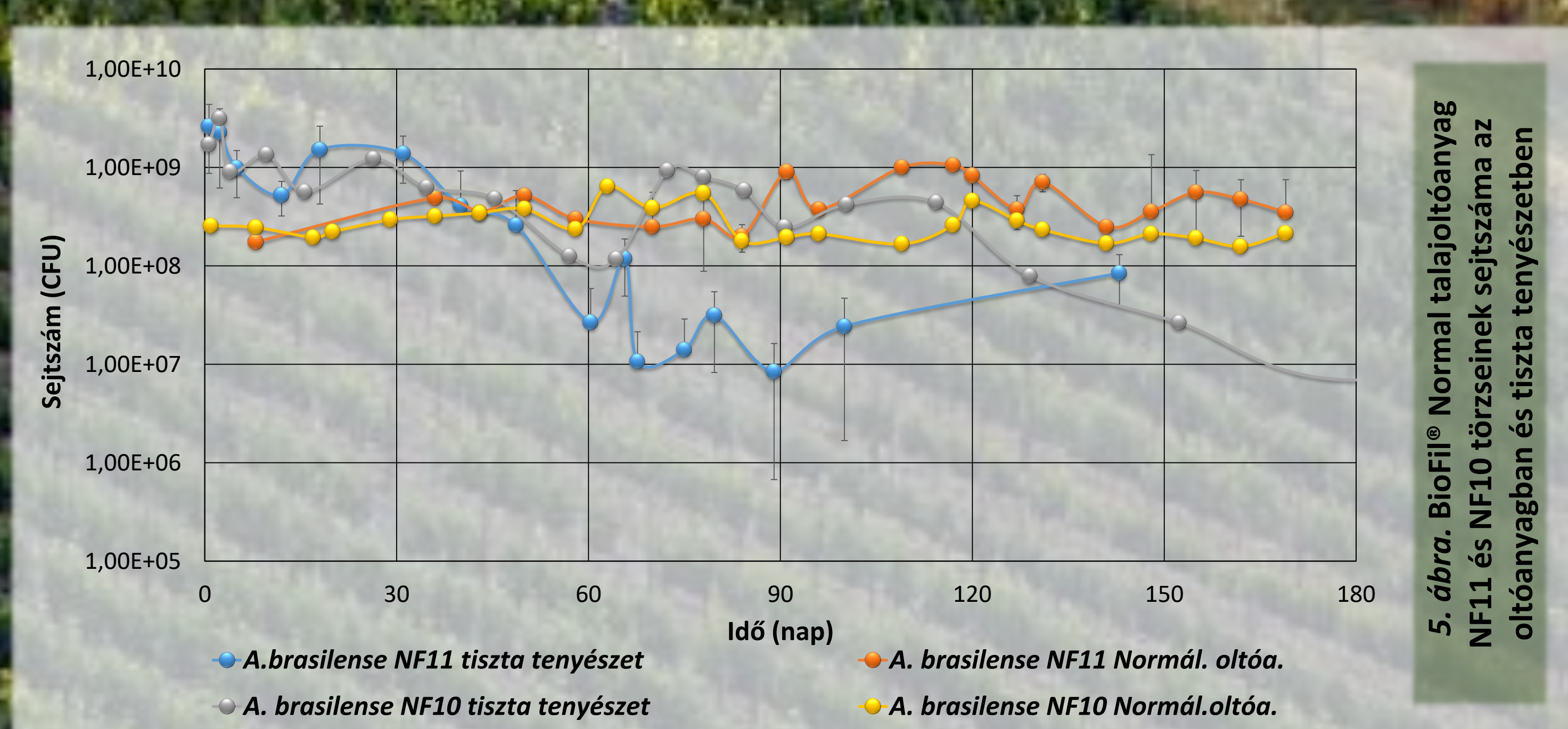
2. ábra. BioFil® Normál talajoltóanyag NE6 minta egyes törzseinek sejtszáma, az összsejtszám és a kémhatás



3. ábra. Az ACB Savanyú talajoltóanyag minta egyes törzseinek sejtszáma, az összsejtszám és a kémhatás



4. ábra. BioFil® Lúgos talajoltóanyag SA8 minta egyes törzseinek sejtszáma, az összsejtszám és a kémhatás



5. ábra. BioFil® Normál talajoltóanyag NF11 és NF10 törzseinek sejtszáma az oltóanyagban és tiszta tenyésztetben