

DEBRECENI EGYETEM  
Természettudományi és Technológiai Kar



# **Hulladéklerakók mikrobiológiai szempontú jellemzése**

Doktori (PhD) értekezés

Lisóczkiné Halász Judit

Debreceni Egyetem  
Természettudományi Doktori Tanács  
Debrecen, 2009



## Tartalomjegyzék

1.	Bevezetés.....	5
2.	Irodalmi áttekintés.....	7
2.1.	A régió jellemzése.....	7
2.1.1.	A Szatmár-Bereg sík.....	7
2.1.2.	Éghajlati, vízrajzi, talajtani és növényföldrajzi viszonyok 7	
2.2.	A talajok mikrobiológiai állapotának jellemzése.....	8
2.2.1.	A környezeti monitoringra felhasználható mikrobiológiai módszerek.....	8
2.3.	A talaj mikroorganizmus közösségeinek vizsgálata a PLFA (phospholipid-fatty acid) alapján.....	12
2.3.1.	A foszfolipid zsírsavak jellemzése.....	12
2.3.2.	Foszfolipid zsírsavak, mint biomarkerek.....	13
2.4.	A PLFA-k felhasználása stressz biomarkerként.....	16
2.4.1.	A Gram-negatív baktériumok biomarker zsírsavai.....	17
2.4.2.	A gomba biomarker 18:2 $\omega$ 6 mennyiségének megváltozása.....	17
2.4.3.	Gomba/baktérium PLFA arány.....	18
2.4.4.	Cyclopropil (cy17:0 és cy19:0) zsírsavak.....	18
2.4.5.	Az egyszeresen telítetlen zsírsavak (16:1 $\omega$ 7, 18:1 $\omega$ 7) <i>transz/cisz</i> izomerek arányának változása különböző stresszhatásokra.....	19
2.5.	A foszfolipid-analízis a talajbiológiában.....	22
2.6.	A szennyezés hatása a mikrobiális közösségek összetételére....	24
2.7.	A talajenzimek és aktivitásuk.....	28
2.7.1.	A foszfatáz enzim.....	31
2.7.2.	A szacharáz (invertáz) enzim.....	32
2.7.3.	A dehidrogenáz enzim.....	32
2.7.4.	A celluláz enzim.....	33
3.	Anyag és Módszer.....	34
3.1.	Mintavételhelyek leírása.....	34
3.1.1.	Beregsurányi hulladéklerakó.....	34
3.1.2.	Beredgaróci hulladéklerakó.....	35
3.1.3.	Gelénesi hulladéklerakó.....	35
3.1.4.	A Kontroll terület.....	35
3.2.	Vizsgálati módszerek.....	36
3.2.1.	Mikroorganizmus vizsgálatok.....	36
3.2.2.	Talajenzim vizsgálatok.....	37
3.2.3.	Az enzim aktivitás eredményeinek statisztikai analízise	38

3.2.4.	PLFA (phospholipid fatty-acid) analízis.....	39
3.2.5.	A baktérium törzsek izolálása és meghatározása.....	40
3.2.6.	A talajok fémtartalmának meghatározása.....	42
3.2.7.	Korrelációs vizsgálatok a talajok enzim aktivitási értékei és nehézfém tartalma között.....	43
4.	Eredmények és értékelésük.....	44
4.1.	Mikroorganizmus vizsgálatok.....	44
4.2.	Enzim aktivitások.....	46
4.2.1.	Celluláz aktivitás.....	46
4.2.2.	Foszfatáz aktivitás.....	46
4.2.3.	Invertáz aktivitás.....	47
4.2.4.	Dehidrogenáz aktivitás.....	48
4.3.	A talajok nehézfém tartalma.....	49
4.4.	Korrelációs vizsgálatok.....	49
4.5.	A mikroorganizmusok, enzim aktivitások és a korrelációs vizsgálatok értékelése.....	50
4.6.	PLFA analízis.....	55
4.6.1.	A főkomponens (PCA) analízis eredménye.....	57
4.6.2.	Klaszter analízis.....	58
4.7.	A PLFA eredmények értékelése.....	60
4.8.	Az izolált baktérium törzsek zsírsav profilja.....	63
4.9.	Az izolált baktérium törzsek zsírsav profiljának értékelése.....	76
5.	Összefoglalás.....	79
6.	Köszönetnyilvánítás.....	86
7.	Summary.....	87
7.1.	Introduction.....	87
7.2.	Materials and Methods.....	90
7.2.1.	Sampling Sites.....	90
7.2.2.	Experimental methods.....	90
7.3.	Results.....	91
7.3.1.	Examinations of microorganisms.....	91
7.3.2.	Examinations of enzyme activities.....	92
7.3.3.	Heavy metal content of soils.....	94
7.3.4.	Correlation analyses.....	94
7.3.5.	PLFA analysis.....	95
7.3.6.	Cluster analysis.....	96
8.	Irodalom.....	99
9.	Mellékletek.....	115

## 1. Bevezetés

A víz, a levegő és a talaj természetes tisztulása során hosszú időn át „feldolgozta” az odakerült hulladékot anélkül, hogy a növényekre, az állatokra és rajtuk keresztül közvetve vagy közvetlenül az emberre károsan hatottak volna. Az elmúlt évtizedek urbanizációs folyamatai, továbbá a műszaki-tudományos fejlődés hatására fokozódott a termelés-fogyasztás ennek következtében az ember és környezete közötti harmonikus kapcsolat megbomlott.

Az ember az indokoltnál nagyobb ütemben sajátítja ki a természeti erőforrásokat, egyre nagyobb mértékben alakítja át a természetből kitermelt anyagokat, valamint a természetes anyagoktól eltérő összetételű termékeket állít elő. A természetidegen anyagok termelésével, ill. elhasználódásával létrejött hulladék egyre nagyobb mennyiségben és térben koncentráltan kerül az ökoszisztémákba.

Mindezek következtében a hulladék vagy nem alkalmas arra, hogy bekapcsolódjék a természetes körfolyamatokba, vagy ha igen, akkor zavarokat okozhat olyan mértékben, hogy így ezért hatását a természetes körfolyamatok már nem képesek ellensúlyozni, károsítja a természeti környezet elemeit, veszélyezteti magát az embert is.

A talajok szerkezetét, vízháztartását, tápanyagmegkötő képességét meghatározó lipidek (Jandl et al., 2004) és humuszanyagok képződése nagyobbrészt a mikrobák működésének eredménye. A mikroorganizmusok egy része különösen érzékeny a különböző környezeti hatásokra, melyekre adott válaszukat, a biomassza, a közösségi struktúra és különböző aktivitások, valamint különböző biomarkerek változása tükröz (White et al., 1998). Fontos megismerni, hogyan módosulnak a mikroorganizmusok a szennyezés hatására, hiszen ezek az élőlények a biogeokémiai folyamatokat és a különböző ökoszisztémák produktivitását adják (Halbritter és Uzinger, 2005).

A szennyezések hatásai az in-situ mikrobiótára általában folytonosak, és hosszabb idő alatt az általuk indukált változások integrálódnak a közösségek struktúrájába és aktivitásába (Smith et al., 1986). A szennyezés hatására eltűnnek, felbukkannak mikroorganizmusok, illetve speciális anyagcsere aktivitások jelennek meg (Ringelberg et al., 2001). Jelenleg nincs általánosan elfogadott protokoll a mikrobiális ökológia monitorozására. A tenyésztési és izolálási módszerek értékes információt adnak a mikroorganizmusok jelenlétéről és potenciális aktivitásáról, de az is ismert, hogy egy baktériumtenyészet kevésbé tükrözi

az in-situ diverzitási és aktivitási szintet (American Academy of Microbiology, 2002).

A talaj mikrobiológiai állapota fontos szerepet játszik a fenntartható mezőgazdasági földhasználatban, felhasználható egy korai változás indikátoraként a talaj ökológiai állapotának jelzésére. A talaj-mikrobióta mennyiségi viszonyait, struktúráját és funkcióit célzó vizsgálatok komoly bioindikációs értékűek, jelentős gyakorlati segítséggel bírnak, amennyiben egy talaj állapotát, egy kezelés vagy szennyezés hatását próbáljuk megismerni. Ilyen esetekben könnyen kimutatható, jól követhető és lehetőleg kvantitatív mérhető markerekre, indikátorokra van szükség, melyekből a talaj belső történéseire, állapotára következtethetünk, és abból viselkedését megfelelő megbízhatósággal megadhatjuk.

A disszertáció az alábbi kérdésekre kíván választ adni:

- a mikrobiológiai módszerek alkalmasak e a szennyezés hatására a talaj mikroflórájában bekövetkező változások feltárására, előrejelzésére,
- a hulladékelhelyezés hatására hogyan változik a talaj mikroflórájának mennyiségi és minőségi összetétele,
- a hulladékból származó szerves- és szervesetlen anyagok, szennyezők hogyan hatnak a talajenzimek aktivitására,
- milyen folyamatok állnak a mikroflóra és enzim aktivitások megváltozásának hátterében,
- a hulladék mint szennyező milyen változást okoz a talaj mikroorganizmus közösségeinek PLFA (phospholipid fatty acid) mintázatában,
- a biomarker foszfolipid zsírsav metil-észterek mennyiségének és arányainak változása a hulladék szennyező hatásának tükrében,
- van-e összefüggés a szennyezés és a hulladék lerakók talajában felszaporodó *Bacillus* genusba tartozó fajok zsírsavösszetételének változása között.

## **2. Irodalmi áttekintés**

### **2.1. A régió jellemzése**

#### **2.1.1. A Szatmár-Bereg sík**

A Szatmár-Bereg sík egy részét magában foglaló Szatmár-Beregi Tájvédelmi Körzet összeköti az egész Beregi Tiszahát természetvédelmi területeit, felöleli a Tarpai-hegy területét, a Tiszával párhuzamos holtágak szövevényes hálózatát és az ártéri erdőket.

#### **2.1.2. Éghajlati, vízrajzi, talajtani és növényföldrajzi viszonyok**

A Szatmár-Bereg sík éghajlatát a Kárpátok közelsége és észak-keleti elhelyezkedése határozza meg. Az évi középhőmérséklet 9 °C. Magyarországon a tél itt a leghidegebb, a januári átlaghőmérséklet csupán 3,5 °C. Az Alföldön itt tavaszodik a legkésőbb, az utolsó fagyos nap április 20-25 körül van. Nem véletlen a vegetációban a sok montán - hegyvidéki – elem. A nyár itt a legkevésbé meleg, amit jelez az is, hogy a július átlagos középhőmérséklete mindössze 20-20,3 °C. A hűvös jelleget fokozza az uralkodó északi szél, amely az Erdős-Kárpátok alacsony hágóin keresztül érkezik a hegyek lábainál elterülő síkságra. A csapadék sok éves átlaga 600-700 mm, amely több az Alföld belső területein mért mennyiségnél. A maximum júniusban hullik - 70-80 mm - a minimum pedig februárban - 30-40 mm. A terület mérsékelt meleg klímájú, ahol még érvényesülnek az óceáni hatások, de a tél hideg és a tenyészidőszakban viszonylag száraz. A Szatmár-Beregi-síkságra 550-700 mm közötti átlagos csapadék jellemző (Borsy, 2007).

A talajtani folyamatokat és a talajtípusokat a folyók és a felszín közeli talajvizek nagymértékben meghatározzák. A folyókat nyers öntéstalajok kísérik. A gátakon kívül a hidromorf talajok minden típusával, altípusával és változatával találkozhatunk. Az öntésréti, réti, a szikes, a láp- és a mocsári erdőtalajok mellett a magas ártereken már megjelennek a csernozjomok (réti, sós réti, alföldi mészlepedékes csernozjom). A Szatmári-Bereg-síkságra jellemzőek ezen kívül a mocsári erdők alatt keletkezett talajok (Stefanovics et al., 2005).

A talajok geológiai, botanikai és éghajlati hatások eredményeképpen alakultak ki, amelyről elmondható, hogy allúviális üledéken létrejött réti agyagok (Stefanovics et al., 2005).

A növényföldrajzi helyzetet tekintve a Szatmár-Beregi-síkság Pannoniai flóratartományba, ezen belül az Eupannonicum flóraidékbe és a Samicum flórajárásba tartozik. Eredeti vegetációjára az ártéri ligeterdők, főként a keményfás ligeterdő (*Fraxino pannonicae-Ulmetum* Soó in Aszód 1953) társulások és helyenként az alföldi gyertyános-tölgyesek (*Quercu robori-Carpinetum* Soó és Pócs 1957 em. Soó 1980) voltak meghatározóak. Ezeknek kisebb-nagyobb foltjai jelenleg is fellelhetők a területen, igen sok montán elemmel (Hortobágyi és Simon, 2000).

## **2.2. A talajok mikrobiológiai állapotának jellemzése**

### **2.2.1. A környezeti monitoringra felhasználható mikrobiológiai módszerek**

Az ökotoxikológiai vizsgálatok két szinten folyhatnak: vagy az egyes fajok populációinak vagy az ökoszisztéma egészének válaszait vizsgálják. Az utóbbi általános használt, amennyiben az ökoszisztéma alapvető folyamatait pl. a szén és nitrogén körforgalmat tanulmányozzuk, a talajtani vizsgálatok során (Bååth, 1989; Brookes, 1995). Más kutatások a mikrobiális közösséget gyakran fekete doboznak tekintik. Habár a fekete dobozon belül tanulmányozott egyes paraméterek, például egyes fajok populációinak anyagcseréje, a közösségek tolerancia szintje jól használható indikátorok a szennyezések toxikus hatásának jelzésére, mégis megváltozhat a mikrobiális közösség anélkül, hogy ez változásokat eredményezne a talaj ökológiai rendszerében. Arra vonatkozólag kevés az információ, hogy hogyan változtatja meg a nehézfém-szennyezés a talaj mikroba közösségein belül az egyes fajok anyagcseréjét (Bååth, 1989). Léteznek általánosan használt módszerek pl. a különböző aktivitások mérése, biomassza vizsgálatok (Brookes, 1995). A módszerek többsége a baktériumok és gombák izolálásán és identifikálásán alapul, ami sok esetben bonyolult és időigényes a minták nagy száma miatt. Ezért szükséges egy olyan technika, amely segítségével rövid idő alatt jelezhetőek a mikrobiális közösségben bekövetkező változások.

A környezet állapotának monitorozásában alkalmazott indikátoroknak alkalmasnak kell lenniük arra, hogy jelezzék az ökoszisztéma folyamatiban, szerkezetében bekövetkező strukturális és funkcionális változásokat, érzékenynek kell lenniük a környezetgazdálkodásban és a klímában bekövetkező változásokra. Könnyen mérhetőnek, reprodukálhatónak, és mind helyi, mind nemzetközi szinten alkalmazhatónak kell lenniük (Neher, 2001). A legutóbbi időkben a

talaj fizikai, bio-kémiai paramétereit (pH, CEC, felvehető tápanyagok, szerves szén tartalom) használják fel a környezeti stressz hatások monitorozására a talaj ökoszisztémában. Ezek a paraméterek nem elég érzékenyek a talaj állapotában bekövetkező változások korai előre jelzésére. Ezzel szemben a talaj mikrobiális közössége sokkal gyorsabban reagál a zavarásra (Atlas, 1984), és e változások leírása szükséges az ökoszisztéma állapotának fenntartásához. Hagyományosan mikrobiális szinten a stresszre adott választ a folyamatok szintjén vizsgálják, mennyiségileg megadva a mikroorganizmusok számát, a légzés intenzitását és az enzimek aktivitását (Parkinson and Coleman, 1991), melyek segítségével képet kaphatunk a teljes populáció méretéről és a teljes aktivitási értékekről.

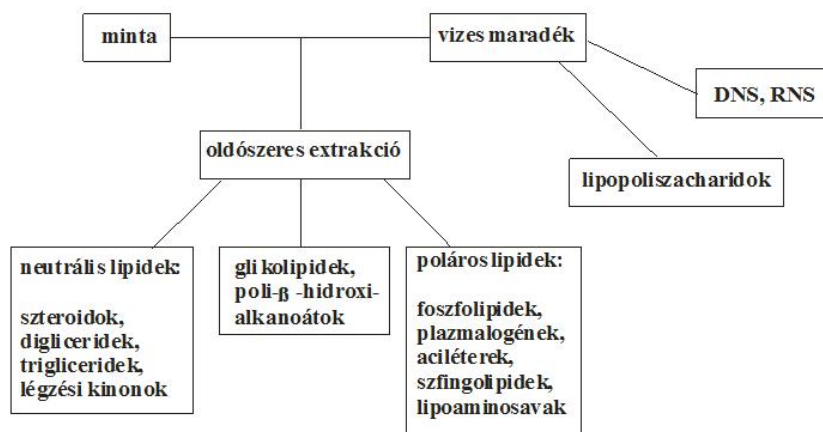
A mikrobióták közvetlen vizsgálata mikroszkópos technikák segítségével lehetséges. Ez a megközelítés azonban (különösen a csekély morfológiai változatosságot mutató baktériumflóra esetén) nem ad részletes választ. Az immunfluoreszcens (Dazzo and Wright, 1995), ill. fluoreszcens *in situ* hibridizációs (Amann, 1995) technikákkal lehetséges a mikroorganizmusok taxon-specifikus jelölése.

Az elkülöníthető mikroorganizmus-csoportok (baktériumok, gombák) mikroszkópos sejtszámlálással történő abundancia-vizsgálatát a talajszemcsék és más mikroorganizmusok takaró hatása, a sejtfestékek agyagásványok és humuszanyagok felületén végbemenő aspecifikus adszorpciója nehezíti (Halbritter és Uzinger, 2005). A talaj térfogatának kis részét kitevő mikrobiotának a kivonására és tisztítására léteznek ugyan különböző eljárások (homogenizálás az adszorpcióban fontos kétértékű kationok ioncserés megkötése és detergensnek használata mellett; ülepítés centrifugálással, ill. sűrűség gradiens-centrifugálás (Torsvik, 1995), de a kinyerés hatékonysága gyakran nem haladja meg a 30%-ot, ráadásul még szelektív is (Steffan et al., 1988).

Ezek nem elég érzékeny indikátorok (Hargreaves, 2003) a funkciók, folyamatok sokasága és a közösségeken belüli komplex interakciók miatt. A környezetet érő terhelések monitorozása során a mikrobiális közösség egészét kell vizsgálni, amely diverz élőlényekből áll, a diverzitás meghatározásával információt kaphatunk az ökoszisztémában zajló folyamatokról. A mikrobiális közösségek diverzitásának megváltozása környezeti stresszre, zavarásra, hosszú távú hatásokra segíthet megérteni a talajban lejátszódó szukcessziós folyamatokat a mikrobiális közösségen belül.

Léteznek olyan közvetett vizsgálatok, amelyek esetén nincs szükség a sejtek és a talaj más részeinek elkülönítésére (Halbritter és Uzinger,

2005). A mikrobiológia gyakorlatban a mikrobiális biomassza mérésére használt szubsztrát indukált respiráció (SIR) (Anderson and Domsch, 1992), a kloroform-fumigációs inkubáció (Jenkinson and Powlson, 1976), ill. a kloroform-fumigációs extrakció (Vance et al., 1987). Az enzimaktivitás-vizsgálatokra általánosan érvényes, hogy a szubsztrátum hozzáadása önmagában zavaró tényezőnek számít (White, 1995). A biomolekulákra alapozott mérések skálája széles. A genetikai alapon történő fajszintű meghatározás DNS és RNS segítségével történik, a biomassza mérhető az ATP fogyás alapján. A mikrobiális közösségek összetétele vizsgálható a légzési láncban megtalálható kinonok, a sejtfal felépítésében résztvevő muraminsav, hexózaminok, és a sejtmembránban megtalálható foszfolipidek, éterlipidek, ergoszterin meghatározásával. A biomolekulák több csoportját szerves oldószeres extrakció során (1. ábra) egy talajmintából, egymástól elkülönítve vonhatjuk ki (White et al., 1998).



**1. ábra. Oldószeres extrakció során a talajokból kinyerhető biomolekulák (White et al., 1998)**

Napjainkban csak két módszer ad lehetőséget a szelektív tenyésztés problémáján való túllépésre. Az egyik a riboszómális RNS (rDNS) alapján történő fajmeghatározás és a mikrobiális foszfolipid zsírsavészterek vizsgálata (Findlay, 1996). A mikrobiális közösségek rRNS alapján történő meghatározása lehetővé teszi a közösség tagjainak specifikus faj és törzs szerinti meghatározását, valamint a tenyészthetetlen baktériumok filogenetikai rokonsági viszonyainak felvázolását (Amann et al., 1995). A DNS alapú technikákban nagy lehetőségek rejlenek. Problémák

adódhatnak viszont a nukleinsav extrakció reprodukálhatóságában és a PCR érzékenységében.

A genetikai vizsgálat feltárja a mikroorganizmus közösségek teljes összetételét, és a genetikai alapon történő diverzitás meghatározás elég érzékeny a változások detektálására, ami elvárható egy rutin monitorozási folyamat során, mégsem alkalmas a változások korai előre jelzésére. Ezért terjedt el a foszfolipid zsírsav (PLFA) profil alapján történő meghatározás, amely egy fenotípusos alapon működő mikrobiális közösségek diverzitását meghatározó módszer. A foszfolipidek képezik a sejtmembránok fő alkotóit, a poláris feji végükhöz észter kötéssel kapcsolódó oldalláncukban különböznek egymástól az eukarióta és prokarióta élőlényekben, sőt nagy változatosságot mutatnak az egyes prokarióta csoportok között is. Ezek a komponensek gyorsan degradálódnak a sejtek halála után (Pinkart et al., 2002). A PLFA módszer a törzsek tenyésztése nélkül a foszfolipid metil-észterek alapján határozza meg közösségek összetételét. A különböző mikroorganizmus csoportokra jellemző foszfolipid zsírsavak felhasználásával White és Findlay (1988) kifejlesztett egy a közösségek jellemzésére szolgáló módszert és ennek segítségével értékelhetővé váltak a környezetből származó minták zsírsav profiljában bekövetkező eltolódások. Ez a módszer azon alapul, hogy foszfolipidek viszonylag állandó hányadát képezik a sejtek biomasszájának és a zsírsavak taxonómiai csoportok közötti variálódása olyan markereket eredményez, amelyek felhasználhatóak a közösségek profiljának leírására. Az ilyen lipideket White (1995) „signature lipid biomarker”-nek (SLB), az erre alapozott megközelítést *SLB-analízis*nek nevezi.

A PLFA profil nem ad információt a közösségek faji összetételéről, viszont megadja a közösség összetételének ujjlenyomatát és nagyon jól használható a környezeti hatásokra a közösségek összetételében bekövetkező változások feltárására, illetve, hogy a változás a közösség mely élőlény csoportjában következett be, Gram-pozitív baktériumok, gombák stb. (Bardgett and McAlister, 1999; Steer and Harris, 2000). Ez az elgondolás tette lehetővé az élő baktérium közösségek biomasszájának és összetételének meghatározását üledékekben (Balkwill et al., 1988; Rajendran et al., 1992; Ringelberg et al., 1988) és mezőgazdasági talaj mintákban (Zelles et al., 1992; Zelles et al., 1995). A PLFA módszer jól használható a nehézfémekkel szennyezett talajok mikroba közösségeinek karakterizálására (Bååth et al., 1995; Pennanen et al., 1996; Shi et al., 2002; Rajapaksha et al., 2004). Nehézfémekkel szennyezett remediált talajokat vizsgált ezzel a módszerrel Kelly and Tate (1998), valamint Kelly

et al., (2003), amelyeknél kommunális szennyvíziszap és energia növények hamuját használt szennyezett talajok remediálására.

A különböző remediációs technikák hatékonysága vizsgálható a mikrobiális populációk szerkezet változása alapján. A talaj mikroorganizmusok nagyon érzékenyek a környezetet ért változásokra (Turco et al., 1994), a mikrobiális közösségekben bekövetkező változások hatással lehetnek a biomasszára és az egyes fajok anyagcseréjére (Harris et al., 1991; Insam and Domsch 1988; Stahl et al., 1988). A szennyezett területek remediációja során a mikrobiális közösségek vizsgálata indikátorként használható (Harris et al., 1991) és mivel betekintést ad a benne lejátszódó folyamatokba lehetővé teszi a folyamatok mesterséges felgyorsítását. A molekuláris módszerek kombinálásával, elvégezhető a mikrobiális közösségek széleskörű és kvantitatív vizsgálata.

A PLFA vizsgálat megbízható módszer a mikrobaközösségek diverzitás változásának a feltárására mégsem hagyhatóak el a különböző fizikai és kémia vizsgálatok a talajállapotának felmérése során.

## **2.3. A talaj mikroorganizmus közösségeinek vizsgálata a PLFA (phospholipid-fatty acid) alapján**

### **2.3.1. A foszfolipid zsírsavak jellemzése**

A zsírsavak a sejtmembrán kulcsfontosságú összetevői. Az élő sejt pusztulásával a membránok integritása viszonylag hamar megszűnik, a különböző miliókben jelenlévő foszfatázok a foszfolipidek foszfátészterkötéseit intenzíven hasítják, és így gyors lebomlásukat okozzák (White et al., 1979; Tollefson and McKercher, 1983). Az általánosan alkalmazott izolálási-tisztítási módszerek hatékonyan különítik el a foszfolipideket bomlástermékeiktől. A foszfolipidek raktározva nem fordulnak elő, így e sejtalkotó molekulák össz mennyisége a sejtfelületről függ, arányos a biomasszával. A sejtfelület betüremkedései módosítják a foszfolipid-mennyiség biomassza-függését. A foszfolipidek a baktériumok és eukarióták körében univerzálisak, az ősbaktériumok membránjában éterlipidek szerepelnek helyettük.

A talajmikrobióta pontos biomassza becsléséhez elengedhetetlen a „makrobióta”: a gyökerek, talajlakó állatok szitálással, aprólékos kézi válogatással stb. való eltávolítása.

A foszfolipideket alkotó zsírsavak (PLFA) változatosak, előfordulásukat az adott taxon zsírsavanyagcserében aktív enzimikus működése szabja meg. Ez egyrészt a genotípus által meghatározott

enzimkészlet, másrészt környezeti adaptáció függvénye, ugyanis az élő sejtek foszfolipidjeik zsírsavösszetételének szabályozása által tartják megfelelő szinten membránjaik fiziko-kémiai paramétereit (fluiditását). Egy sejt membránjának fő zsírsavai általában univerzálisak, a taxon-specifikusak pedig minor komponensek: általában csak kis részét alkotják az összes PLFA mennyiségnek és arányuk változékony, erősen függ például a hőmérséklettől. A zsírsav-taxon-specifitás megismerésének elvi korlátját adja, hogy csak tiszta tenyészetből tudjuk egy adott faj PLFA-összetételét meghatározni. Ezzel a korláttal számolni kell, jóllehet tudjuk, hogy a nagyobb csoportok szintje (Actinobacteria,  $\delta$ -Proteobacteria) alatt a PLFA típusok eléggé általánosak, így egy jelenleg nem tenyészthető faj PLFA típusaira a DNS-alapon megállapított taxonómiai helye alapján következtethetünk.

### **2.3.2. Foszfolipid zsírsavak, mint biomarkerek**

A nagyfokú molekulaszervezeti változékonysággal rendelkező foszfolipidek és az ezeket alkotó foszfolipid zsírsavak spektruma alkalmas mikroorganizmusok taxonómiai meghatározásához (Sasser, 1990/a). A taxonómiai célú PLFA kutatás folyamatosan bővíti azokat az ismereteket, melyek alapján talajok, vizek stb. PLFA spektruma bioindikátorként használható (Parkes, 1987).

Az egyszeresen telítetlen zsírsavak (MUFA) a mikroeukarióták, Gram-negatív ill. Gram-pozitív baktériumok körében fordulnak elő, de az utóbbi csoportban rendkívül kis mennyiségben (1. táblázat). Így az egyszeresen telítetlen zsírsavakat a mikroeukarióták és a Gram-negatív baktériumok bioindikációjára használják (Ratledge and Wilkinson, 1988). A zsírsavakban a lánchossznál általában jelentősebb taxonómiai információ a szubsztituens vagy a telítetlen kötés láncvégtől számított helyzete. Tükrözi ugyanis, hogy milyen anyagcsere úton jöhetett létre az adott zsírsav. A zsírsavak lánchossza ezzel szemben gyakran változik  $\beta$ -oxidációval, ill. lánchosszabbítással. Példa erre a 16: 0 10-Me, a 17: 0 10-Me és a 18: 0 10-Me zsírsavak sorsa, amely gyakori az aktinobaktériumok („sugárgombák”) körében (Kroppenstedt, 1992). Ez okból kifolyólag az adatok értékelése és értelmezése során egyetlen zsírsav megjelölése helyett sokszor szerencsésebb a zsírsavsor, zsírsavcsoport megnevezése. Esetenként egyes zsírsavcsoportok egymáshoz viszonyított aránya lehet karakterisztikus, például az észterkötésű és nem észterkötésű zsírsavak aránya az aerob és anaerob szervezetek arányára és így a talaj tartós oxigén-ellátottságára ad információt.

A 15:0 és 17:0 zsírsavak általános baktérium biomarker (Tunlid and White, 1992; Vestal and White, 1989), a 15:0 izo és anteizo izomerei a Gram-pozitív baktériumok biomarkerei, a  $\beta$ -hidroxi zsírsavak ( $\beta$  10:0, 12:0), megtalálhatóak Gram-negatív baktériumok sejtfalának lipopoliszaharid (LPS) frakciójában (O'leary and Wilkinson, 1988); a 10Me18:0 az aktinomycetesek (Federle, 1986; Frostegard et al., 1993/a), a 18:2 $\omega$ 6 a gombák biomarkerei (Federle, 1986; Frostegard et al., 1993/b; Frostegard et al, 1996). Habár a PLFA-nak nagy a strukturális diverzitása, amihez hozzájárul biológiai specifitásuk is, mégis sok olyan zsírsav van, amely nem csak egy élőlény csoport jelölésére alkalmazható pl.: az elágazó láncú zsírsavak, amelyek a Gram-pozitív baktériumok biomarkerei, felhasználhatóak néhány anaerob Gram-negatív szulfát-redukáló baktérium nemzetség *Cytophaga* és *Flavobacterium* jelenlétének jelzésére (Haack et al., 1994). A cyclopropil zsírsavak általánosak a Gram-negatív baktériumokban, de megtalálhatóak számos anaerob Gram-pozitív törzsből is (O'leary and Wilkinson, 1988). Ehhez hasonlóan az LPS-HYFA, a Gram-negatív baktériumok sejtfalának lipopoliszaharid frakciójában található hidroxil szubsztituált zsírsavak (Zelles, 1999), szintén megtalálhatóak gombákban is.

A 18:2 $\omega$ 6, amely elfogadott gomba biomarker, az egyik leggyakoribb zsírsav a növényekben (Hitchcock, 1984). Federle (1986) számos talajban élő gombában megtalálta e jellegzetes zsírsavakat. Frostegård and Bååth (1996) különböző művelésű talajok PLFA vizsgálatokor pozitív korrelációt tapasztalt e komponens és számos más gombabiomarker között (pl. ergoszterin). Sundh et al., (1997) ezzel ellentétes eredményt kaptak egy tőzepláp tanulmányozásakor, azaz nem találtak szoros összefüggést a linolsav, valamint más gomba-biomarkerek között. Azt a következtetést vonták le, hogy ez a zsírsav nem minden életközösség esetében használható gomba-biomarkerként.

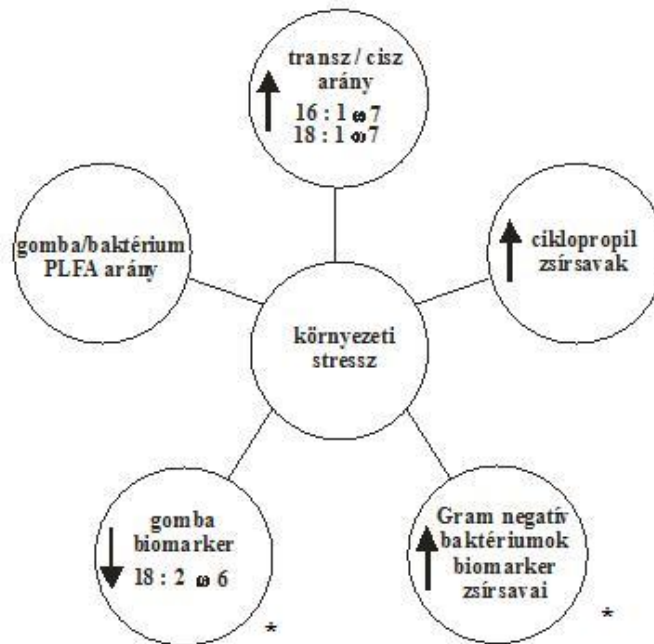
Zelles (1999) különböző baktérium-, gomba-, valamint növényfajok PLFA vizsgálata során azt tapasztalta, hogy a linolsav a növényekben is nagy koncentrációban megtalálható, nem csupán a gombákban. Következtetésként ez a zsírsav akkor jó indikátora a gombáknak, ha növényi sejt biztosan nincs jelen a vizsgálandó objektumban.

**1. táblázat. Az egyes mikrobacsoportokra jellemző foszfolipid-zsírsavak**

Jelölés	Elnevezés	Előfordulás, indikációs lehetőség
PLFA	Foszfolipid zsírsavak	biomassza
SATFA	Telített észter kötésű zsírsavak	Bacteria, Eucarya
-	egyenes láncú	Bacteria, Eucarya
i, a, Me	elágazó láncú	Gram-pozitív baktériumok (br 17:0, br 18:0, i17:0, a17:0, i16:0, i16:1, 10Me16:0, 10Me17:0) a 15:0 iso és anteiso izomerei. <i>Actinomycetes</i> 10Me16:0, 10Me17:0, 10Me18:0 (Kroppenstedt, 1992)
cy	ciklopropil	Gram-negatív baktériumok (cy17:0, cy19:0) (Guckert et al., 1985) <i>Clostridium</i> , <i>Bifidobacterium</i> Szulfát redukáló baktériumok: ( <i>Desulfobacter sp.</i> ) cy17:0. 10Me16:0 és kis mennyiségű 10Me 18:0
MUFA	egyszeresen telítetlen észter kötésű zsírsavak	Gram-pozitív baktériumok: MUFA < 20% (16:1 $\omega$ 9, 16:1 $\omega$ 7c, 16:1 $\omega$ 5, 18:1 $\omega$ 7, 19:1) (O'leary and Wilkinson, 1988) MUFA > 20% (16:1 $\omega$ 9, 16:1 $\omega$ 7c, 16:1 $\omega$ 5, 18:1 $\omega$ 7, 19:1) I-es típusú metanotrófok: 16:1 $\omega$ 6 (16-os láncosság, 1 kettős kötés az $\omega$ 6. helyen); II-es típusú metanotrófok: 18:1 $\omega$ 8 (18-as láncosság, 1 kettős kötés az $\omega$ 6. helyen) (Nichols et al., 1985; Sundh, 1995; Borjesson et al., 1998)
PUFA	többszörösen telítetlen észter kötésű zsírsavak	Eucarya, cianobaktériumok
PLOH	észter kötésű hidroxil-szubsztituált zsírsavak	
$\alpha$	-OH a karboxilcsoport melletti 1. szénatomon	Actinobacteria
$\beta$	-OH a karboxilcsoport melletti 2. szénatomon	Gram-negatívok (White, 1994; Parker, 1982) Mycobacterium
$\omega$	-OH az $\omega$ -szénatomon	gombák 18:2 $\omega$ 6 (linolén sav) (Federle, 1986)
EL-UNSFA	nem észter kötésű zsírsavak	Anaerob baktériumok pl: plasmalogens ( <i>Clostridium</i> ), szfingolipidek (Bacteroides, Flavobacterium)
NEL-UNOH	nem észter kötésű hidroxil-szubsztituált zsírsavak	Anaerob baktériumok
$\alpha$	-OH a karboxilcsoport melletti 1. szénatomon	Sphingomonas, Candida
$\beta$	-OH a karboxilcsoport melletti 2. szénatomon	Bacteroides/Flavobacterium
myl	mikolsavak ( $\beta$ -hidroxil-, $\alpha$ -elágazás)	Mycobacterium, Nocardia

Megjegyzés: *SAFTA*: *Saturated Fatty Acid* (telített észterkötésű zsírsav); *MUFA*: *Monounsaturated Fatty Acid* (egyszeresen telítetlen zsírsav); *PUFA*: *Polyunsaturated Fatty Acid* (többszörösen telítetlen zsírsav); *PLOH*: *PolyHydroxy substituted fatty acids* (polihidroxil szubsztituált zsírsav); *EL-UNSFA*: *Ester Linked Unsubstituted Fatty Acids* (nem észterkötésű zsírsav); *NEL-UNOH*: *Non-Ester Linked Hydroxy substituted fatty acids* (nem észterkötésű hidroxil-szubsztituált zsírsav)

## 2.4. A PLFA-k felhasználása stressz biomarkerként



2. ábra. A PLFA biomarkerek válasza a környezeti stressz hatásokra (Kaur et al., 2005) Megjegyzés: A \* jelölt biomarkerek válasza a környezeti stresszhatásokra változatos lehet.

A PLFA-k számos olyan tulajdonsággal rendelkeznek, ami miatt felhasználhatóak a környezeti stressz indikátoraiként. Kulcsfontosságú komponensei a mikrobiális membránnak, és mint ilyenek reagálhatnak mind az intracelluláris mind az extracelluláris környezetből származó stresszre. A környezeti stresszre ezen módszer segítségével két fajta választ kaphatunk. Az egyik válasz a mikrobiális membrán zsírsav összetételének megváltozása (fenotípusos változás), a másik lehetőség, hogy ha rendelkezünk a talaj mikrobiális közösségének korábbi zsírsav profiljával, akkor megfigyelhetjük a környezeti stresszre történő profilváltozást, ami a közösség összetételének változását jelzi. Azok a zsírsavak, amelyek mennyiségének megváltozik a környezeti stresszhatásra, felhasználhatóak

indikátorként környezeti monitoringra és a környezet állapotának felbecsülésére (2. ábra).

#### **2.4.1. A Gram-negatív baktériumok biomarker zsírsavai**

Különböző stresszhatások, mint a peszticid kezelés, a nehézfémek toxikus hatása és a talajművelés a Gram-negatív baktériumok számának növekedését okozzák, ami együtt jár a Gram-pozitív baktériumok számának csökkenésével (Frostegard et al., 1993/a; Zelles et al., 1994; Chaudhary, 2005/a). A Gram-negatív baktériumok egyrészt a membránjukban jelenlévő cyclopropil zsírsavaknak (Guckert et al., 1986) másrészt a külső lipopoliszacharid rétegüknek köszönhetik sikeresebb túlélő képességüket, ami megvédi őket a környezeti stresszhatásoktól. Általánosan elfogadott, hogy a nehézfémekkel szennyezett talajokban dominálnak a Gram-negatív baktériumok a Gram-pozitívakhoz viszonyítva. Habár irodalmi adatok szerint a baktérium közösségek másként is reagálhatnak nehézfém szennyezés hatására (Pennanen et al., 1996).

#### **2.4.2. A gomba biomarker 18:2 $\omega$ 6 mennyiségének megváltozása**

A gombák fontos szerepet töltenek be az ökoszisztémában jelentősen hozzájárulnak a talaj minőségének javításához, elősegítik az aggregációs folyamatokat (Eash et al., 1996) a növényi maradványok nagy százalékanak lebontása révén. Egyértelmű összefüggés tapasztalható a fizikai zavarás intenzitásának növekedése és a gomba biomarkerek csökkenése között talajművelés (Petersen and Klug, 1994; Calderson et al., 2000), trágyázás (Calderson et al., 2001), legeltetés (Bardgett et al., 2001) és tarló égetés hatására (Baath et al., 1995). Fizikai zavarás, mint a talajművelés és trágyázás 14,5-42,8% illetve 47,6%-os csökkenést okozott a 18:2 $\omega$ 6 zsírsav mennyiségében. Hasonló változást okozott a legeltetés 29,5-43,3%. A gomba biomarkerek mennyiségének csökkenése mögött az a jelenség áll, hogy a fonalas gombák sokkal érzékenyebbek a zavarással szemben, mint az élesztők (Kabir et al., 1999; Spedding et al., 1994) és így alkalmasabbak a környezeti stressz jelzésére. A gomba biomarker (18:2 $\omega$ 6) mennyiségének szignifikáns megváltozását okozza a nehézfém szennyezés (Frostegard et al., 1993/a; Pennanen et al., 1996; Fritze et al., 1997) és a peszticid kezelés (Macalady et al., 1988; Chaudhary et al., 2005/a; Schmidt, 2000). Frostegard et al., (1993/a; 1996) laboratóriumi körülmények között szántóföldi talajokban a gomba biomarkerek

mennyiségének növekedését tapasztalta nehézfém (kivéve a Cu) szennyezés hatására. Ezzel szemben 9,5%-os csökkenést tapasztalt Pennanen et al. (1996) és Fritze et al. (1997) nehézfém szennyezés hatására erdei talajban. A 18:2 $\omega$ 6 gomba biomarkerek mennyiségének fenti csökkenése az ektomikorrhizális gombák pusztulásának köszönhető, ami annak köszönhető, hogy a nehézfém szennyezés hatására elpusztult a fák hajszálgökökézete (Fritze et al., 1997).

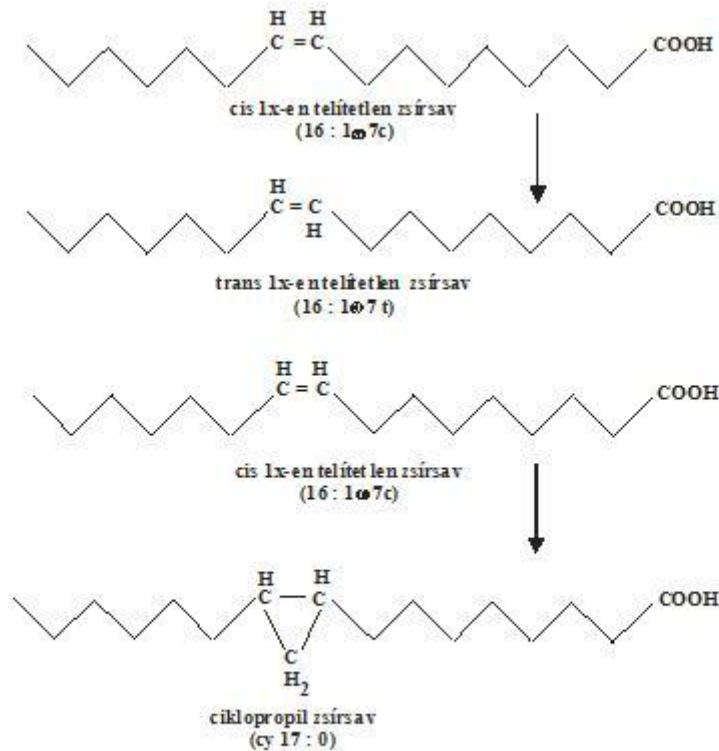
#### 2.4.3. Gomba/baktérium PLFA arány

A gomba/baktérium biomassza arány kalkulációja az i15:0, a15:0, 15:0, 16:0, 16:1 $\omega$ 9, 16:1 $\omega$ 7t, i17:0, 17:0, cy17:0, 18:1 $\omega$ 7 és cy19:0 bakteriális és 18:2 $\omega$ 6 gomba biomarkerek segítségével történik. Az arány jól használható a mikrobiális közösségek összetételében a környezeti stressz hatására bekövetkező változások tanulmányozásra. Ugyanakkor jól használható a különböző talajművelési technikák és a trágyázás hatásának tanulmányozására (Bardgett and McAlister, 1999) is. A műtrágyával kezelt talajokban növekedett a gomba/baktérium biomassza aránya a hagyományosan trágyázott talajokhoz képest (Bardgett et al., 1997). A legeltetés, tarlóégetés és a szárvégek eltávolítása a gomba/baktérium biomassza arány csökkenését eredményezi (Bardgett et al., 2001).

#### 2.4.4. Cyclopropil (cy17:0 és cy19:0) zsírsavak

A hőmérséklet emelkedése (Petersen and Klug, 1994), táplálék hiány (Guckert et al., 1986), az alacsony pH (Baath and Anderson, 2003) valamint a nehézfém szennyezés (Frostegard et al., 1993/a) mellett a peszticidek használata (Macalady et al., 1988; Chaudhary et al., 2005/a) és a trágyázás (Chaudhary et al., 2005/b) is megnöveli a cyclopropil zsírsavak mennyiségét. Száraz erdei humusz talaj hőmérsékletének emelése 45°C-ról 160 °C-ra a cy17:0 zsírsavak esetében 5%-os, míg a cy19:0 zsírsavak esetében 28,7%-os emelkedést okozott (Petersen and Klug, 1994). Guckert et al., (1986) a cy17:0 zsírsavak esetében 100%-os, míg a cy19:0 zsírsavak esetében 390%-os emelkedést tapasztalt *Pseudomonas putida* tenyészetekben táplálékhiány hatására. Chaudhary et al. (2005/b) trágyázás hatására 70% illetve 86%-os emelkedést tapasztalt a cy17:0 és cy19:0 zsírsavak esetében a kontrollal összehasonlítva. A cyclopropil zsírsavak (cy17:0, cy19:0) a *cisz* egyszeresen telítetlen zsírsavak (16:1 $\omega$ 7c, 18:1 $\omega$ 7c) transzmetilációjával keletkeznek, a sejt sztacionáris fázisból való kilépése során (3. ábra). A *cisz* egyszeresen telítetlen zsírsavak átalakulása

cyclopropil zsírsavakká (amelyek egyébként sokkal stabilabbak és nem metabolizálhatóak a baktériumok által), segít megőrizni a funkcionális élő sejtmembrán szerkezetét, megakadályozni a membrán lipidek elvesztését vagy a sejtmembrán fluiditásának megváltozását, amelyek a sejtek degradációjához vezetnek (Guckert et al., 1986).



3. ábra. Stresszhatásra bekövetkező strukturális változások a PLFA-ban (Kaur et al., 2005)

#### 2.4.5. Az egyszeresen telítetlen zsírsavak (16:1ω7, 18:1ω7) *transz/cisz* izomerek arányának változása különböző stresszhatásokra

A legtöbb környezeti stressz hatására megnövekszik a mikroorganizmusok membránjának fluiditása. A fluiditás növekedése a membrán szerkezet megváltozását és ez által egy nem specifikus permeabilitás kialakulását eredményezi, amelynek következtében a transzport folyamatok aktivitása megváltozik, növekszik, vagy gátlás alá

kerül. Ebből következően a membrán fluiditás megváltozása egy adaptációs mechanizmusnak is tekinthető a különböző hatások/stressz kompenzálására (Petersen and Klug, 1994).

A *cisz* egyszerűen telítetlen zsírsavak (16:1 $\omega$ 7c, 18:1 $\omega$ 7c) izomerizációs folyamata *transz* egyszerűen telítetlen zsírsavakká (16:1 $\omega$ 7t, 18:1 $\omega$ 7t) adaptációs mechanizmus a környezeti stresszre, ami a membrán fluiditásának növekedését eredményezi (Heipieper et al., 1996)(3. ábra). A *transz* zsírsavak izomerizációja a komplementer *cisz* konfigurációból a kettős kötés pozíciójának eltolódása nélkül történik meg (Diefenbach and Keveloh, 1994). A *transz/cisz* izomerizációs mechanizmus nem aktiválódik olyan stressz helyzetben, ami gátolja a mikroorganizmusok növekedését, viszont speciálisan hozzáköthető minden olyan környezeti stresszhez, ami növeli a membrán fluiditását. Az egyszerűen telítetlen zsírsavak *transz/cisz* izomerizációját megváltoztató stressz hatások a következők: magas hőmérséklet (Heipieper et al, 1996; Pietikainen et al, 2000), szerves szennyező anyagok (Heipieper et al, 1996), táplálékhiány (Guckert et al, 1986), ozmotikus stressz (Heipieper et al, 1996), alacsony pH (Bááth and Anderson, 2003), nehézfém szennyezés (Frostegard et al, 1993/a).

#### 2.4.5.1 Magas hőmérséklet

*Pseudomonas putida* tiszta tenyészetét 25-45°C-on inkubálva az egyszerűen telítetlen zsírsavak *transz/cisz* aránya 0,1-ről 0,4-re változott (Heipieper et al., 1996). Talaj inkubációs kísérletekben 0,12-ről 0,21-re nőtt a 16:1 $\omega$ 7 zsírsav *transz/cisz* aránya 160 °C-ra hevített humusz vizsgálata során (Pietikainen et al., 2000). Pozitív korrelációt talált a *cisz* egyszerűen telítetlen zsírsavak (16:1 $\omega$ 7c, 18:1 $\omega$ 7c) mennyiségének csökkenése és a talaj hőmérséklet növekedése 4,4-ről 25°C-ra között (Petersen and Klug, 1994; Peterson and Bááth, 2003).

#### 2.4.5.2 Szerves szennyező anyagok és ozmotikus stressz

A hőmérséklet emelkedése mellett a szerves szennyező anyagok (toluol), az ozmotikus stressz (NaCl és szaharóz) az egyszerűen telítetlen zsírsavak *transz/cisz* arányának növekedését eredményezte *Pseudomonas putida* törzsekben. A szerves szennyező anyagok esetében, az a koncentráció, ami a *transz/cisz* arány növekedését eredményezte

lényegesen magasabb volt, mint a legkisebb gátló koncentráció (Minimum Inhibitory Concentration MIC) (Heipieper et al, 1996).

#### 2.4.5.3 Táplálékhiány

Az egyszeresen telítetlen zsírsavak *transz/cisz* aránya 0,02-ről 1,56-ra nőtt 30 napos táplálékhiánynál *Vibrio cholerae* tenyészetekben (Guckert et al., 1986). Szintén az egyszeresen telítetlen zsírsavak *transz/cisz* aránya nőtt rövid idejű (<24 h) táplálékhiánynál tengeri algák izolátumaiban (Persson et al., 1989). Kedvezőtlen tápanyag ellátottsági körülmények a *cisz* egyszeresen telítetlen (16:1ω7c) zsírsav degradációját okozzák, ez a *transz* egyszeresen telítetlen (16:1ω7t) zsírsav mennyiségének növekedését vonja maga után, ami nehezebben metabolizálható, mint a *cisz* izomer. Ez a hatás membrán permeabilitás csökkenést okoz, ami segít fenntartani az egészséges sejtmembrán funkcióját (Guckert et al., 1986).

#### 2.4.5.4 Alacsony pH

A pH hatását vizsgálva a mikrobiális közösségek PLFA mintázatára hasonló változások jellemzőek a tiszta tenyészetekben (Heipieper et al, 1996) és szántóföldi kísérletekben a rhizoszféra mikroorganizmusoknál (Bååth and Anderson, 2003; Bååth et al., 1995; Schutter et al., 2001; Merila et al., 2002). Tiszta tenyészetekben a pH csökkenésével 0,1-ről 0,4-re növekedett az egyszeresen telítetlen zsírsavak *transz/cisz* aránya (Heipieper et al., 1996). 0,3-ről 0,07-re csökkent az egyszeresen telítetlen zsírsavak (16:1ω7) *transz/cisz* aránya, amikor a pH elérte a semleges tartományt (Bååth and Anderson, 2003). A pH növekedése a savas tartományból a semleges tartomány felé stressz a mikroorganizmusok számára, mert csökken a tápanyagok felvehetősége (Persson et al., 1989).

#### 2.4.5.5 Nehézfémek

Tiszta tenyészetekben a nehézfémek toxikus koncentrációja az egyszeresen telítetlen zsírsavak *transz/cisz* arányának növekedését váltotta ki (Heipieper et al., 1995; Heipieper et al., 1996). Frostegard et al. (1993/a) hasonló eredményt mért talajinkubációs kísérletekben. Különböző nehézfémek toxikus koncentrációja esetén (Zn, Cd, Cu, Ni, Pb). A

nehézfémek hatásmechanizmusa pontosan még nem ismert, de úgy tűnik, hogy hozzákapcsolódva a mikrobák membrán proteinjeihez, zavart okoz a fehérjék aktivitásában és konformáció változásában. A nehézfém kezeléseket túlélő mikroorganizmusok a nehézfémek, okozta stresszt a *cisz/transz* izomerizációs rendszer (3. ábra) aktiválásán keresztül ellensúlyozzák, mivel a *transz* egyszerűen telítetlen zsírsavak sokkal stabilabbak, mint a *cisz* izomerek. Számos szerző (Volkman and Johns, 1977; Gillan and Hogg, 1984; Guckert et al., 1985) számol be arról, hogy a legtöbb sejtenyészet egyszerűen telítetlen zsírsavainak *transz/cisz* aránya kisebb, mint 0,1. A *transz/cisz* arány szignifikánsan nagyobb ettől az értéktől a szennyezett talajokban, ezért ez az arány jól használható a környezeti stressz jelzésére (Guckert et al., 1986).

## 2.5. A foszfolipid-analízis a talajbiológiában

A mikrobiális lipidek felhasználása a mikroorganizmusok azonosítására és a természetes mikroorganizmus közösségek összetételének vizsgálatára egyre népszerűbbé válik a talaj mikrobiológiai vizsgálatokban. Számos módszer létezik a mikrobiális foszfolipid zsírsavak (PLFA) meghatározására és ezeket már több mint 20 éve használják a mikrobiális biomassza és a közösségek struktúrájának meghatározására az üledékekben White et al., 1979; Guckert et al., 1985; Rajendran et al., 1992). A PLFA módszert kifejlesztése óta alkalmazták már stressz hatásának vizsgálatára baktérium izolátumokon (Kieft et al., 1994, 1997), a gyökér exudátum hatásának vizsgálatára rhizoszféra mikroorganizmusokon (Griffiths et al., 1999), és foszfor adagolás hatásának vizsgálatára arbuscularis mycorrhiza gombák esetén (Olsson et al., 1997).

A módszer alkalmas mezőgazdasági művelésű talajok mikroba közösségeinek meghatározására (Zelles et al., 1992; Wander et al., 1995; Reichardt et al., 1997; Bossio et al., 1998; Ibekwe and Kennedy, 1998), nehézfémekkel, lúgos hamuval szennyezett és savas esőnek kitett talajok (Pennanen et al., 1996; Bååth et al., 1992; Pennanen et al., 1998) illetve alkalmas különböző élőhelyek vizsgálatára (Sundh et al., 1997; Klamer and Bååth, 1998; Steinberger et al., 1999).

A legtöbb talajban élő organizmus abundanciája és biomasszája a felső 0-10 cm-es rétegben a legnagyobb, a mélységgel illetve a szervesanyag tartalom csökkenésével párhuzamosan csökken. A felszíntől 2 m mélységig becsült biomassza 65%-a található a felső 25 cm-ben. E mélység alatt a mikrobiális biomassza általánosságban akár három nagyságrenddel is csökkenhet, amint ez kiderült Fierer et al. (2003)

kloroform fumigációs, szubsztrát indukált respirációs és PLFA vizsgálatainál. A gyökereket kolonizáló mikorrhiza gombák hyfáinak sűrűsége 20 cm-nél mélyebb rétegekben jelentősen csökken. Mikorrhizális gombaspóra nem található a növények gyökérszónája alatt. A mikroszkopikus méretű állatok (pl.: protozoa, collembola) mennyisége szintén csökken a mélységgel, sokkal gyorsabban, mint a táplálékukként szolgáló baktériumok és gombák mennyisége. Általánosságban elmondható, hogy a talajélőlények számának a mélységgel való változása, területtől függően változik a talajszerkezettel, a pH-val, a hőmérséklettel, a vízellátottsággal és a szervesanyag tartalommal. Az egyes rétegek közötti átmeneti zónákban gyakran kialakulnak jobban levegőzött rétegek, ahol a mikroorganizmusok száma és aktivitása megnövekszik köszönhetően a tápanyagokhoz való jobb hozzáférésnek. Az abundancián és az aktivitáson túl a mikroorganizmus közösségek összetétele és diverzitás is változik a talajprofilban. A Gram-negatív baktériumok, a gombák és a protozoák a mennyisége a talaj felszínén a legnagyobb, míg a Gram-pozitív baktériumok és az aktinomycesek mennyisége arányosan nő a mélység növekedésével (Fierer et al., 2003). A mélyebb talajrétegek mikrobái jobban függnék a szerves szén mennyiségétől, mint a felszíni mikroorganizmusok.

Talajok mikrobiológiai vizsgálatánál általános gyakorlat a talajminták vizsgálat előtti tárolása, szárítása, szitálása. A minták kezelésének, tárolásának módja hatással van az adott talajminta PLFA profiljára. A minták tárolási hőmérséklete befolyásolhatja az egyes zsírsavak mennyiségét. A 25 °C-on történő tárolás nemcsak jelentős eltéréseket okozott a zsírsavspektrumban, hanem az összes zsírsavmennyiséget is csökkentette, ezt a mikrobióta hőmérsékleti adaptációjával is lehet magyarázni. A minták 5,5 és 10 °C-on való tárolása nem okozott szignifikáns eltérést a talajmikrobióta összetételében, míg az első szitálás (<4 mm) csökkentette a gombákra jellemző 18:2ω6,9 zsírsav mennyiségét, feltehetően a hyfák töredezésének következtében (Petersen and Klug, 1994).

A fagyasztás hatásának vizsgálata a PLFA profilra nagy kihívása a mikrobiális ökológiai vizsgálatoknak. Például a közösségek struktúrájuk megváltozásával, válaszolhatnak a hőmérséklet fagypontra alá süllyedésére (Petersen and Klug, 1994). A mikrobiális biomassza és aktivitás, beleértve a nitrogén mineralizációt, kevésbé effektív az előzetesen -20 °C -ra fagyasztott, majd 2 °C-ra felengedett talajban (Steinberger et al., 1999). A talaj nedvességtartalma szintén módosítja a fagyasztás következményeit.

Különbség van, a légszáraz és nedves talaj fagyasztás után mért biológiai aktivitásában (Zelles, 1997).

A PLFA analízis felhasználható a komposztálás során lezajló, a mikrobiótát érintő szukcessziós folyamatok követésére is. A 10-Me PLFA-k mennyiségén keresztül az aktinobaktériumok abundancia-növekedése a komposzt érettségének indikátora lehet (Steger et al., 2003). Lehetséges a mikrobiális oltóanyag „sorsának” követése is, azaz hogy a növényi hulladék komposztálása kezdetén adott inokulum a termofil szakasztól kezdődően nincs hatással sem a lebontó folyamatokra, sem a mikrobióta PLFA spektrumára. A kezdetben beállított pH ugyanakkor mindkettőt befolyásolta, feltehetően a termofil szakasz hosszának változásán keresztül (Lei and Van Der Gheynst, 2000).

Tunlid et al. (1985) steril és baktériumokkal inokulált repcenövényeken pozitív rhizoszféra-effektust, valamint a rizoszférának a talajéhoz képest kiegyensúlyozottabb tápanyag-ellátottságát tudta kimutatni PLFA analízis segítségével.

Az alapkőzet mikrobiótájának vizsgálata érzékeny módszereket követel. Új-Mexikó üledékeiben a felszíntől 300 m mélységig feltérképezték a főbb élő mikrobacsoportokat, s a közeli tengeri üledékek jellemző fajait is megtalálták, melyek feltehetően az üledék képződésekor kerültek oda (Ringelberg et al., 1997).

## **2.6. A szennyezés hatása a mikrobiális közösségek összetételére**

Az ipari forradalom óta egyre nagyobb mértékben kerülnek a környezetbe nehézfémek. A termőtalajok, a talajvíz és a felszíni vizek elszennyeződése nehézfémekkel súlyos környezetkárosodást okoz, és veszélyezteti az élőlények egészségét. A nehézfém szennyezés a talaj tápanyagainak felvehetőségére és a biogeokémiai folyamatokra hat, és ezért a talaj mikrobiális közössége jó indikátora.

A talajmikrobióta mennyiségi viszonyait, struktúráját és funkcióit célzó vizsgálatok komoly bioindikációs értékűek, és jelentős gyakorlati jelentőséggel bírnak, ha a talaj állapotát, a kezelés vagy szennyezés hatását próbáljuk megismerni. Ekkor kimutatható, jól követhető és lehetőleg kvantitatíve mérhető markerekre, indikátorokra van szükség, melyekből a talaj belső történéseire, állapotára következtethetünk.

A veszélyes hulladékokat tároló lerakók gyakran komplex keverékét tartalmazzák a szervesanyagoknak és a nehézfémeknek (Kovalick, 1992). A szerves szennyezők bioremediációja, mikrobiális úton történő lebontása

eredményes eszköze lehet a környezet megtisztításának. Habár a nehézfémek a talajban toxikusak a mikrobák számára, a szerves szennyezők táplálékként való felhasználása, lelassítja vagy kivédi a káros hatásokat. Sok vizsgálat számol be arról, hogy rövid távon a mérgező nehézfémek nagymértékben csökkentik a mikrobiális aktivitást (Barnhart and Vestal, 1983; Capone et al., 1983; Jonas et al., 1984; Vives-Rego et al., 1986; Said and Lewis, 1991), míg más vizsgálatok szerint azok az élőhelyek is rendelkeznek mikroba közösséggel, ahol évek óta nagy a nehézfémek koncentrációja, bár ezen közösségek aktivitása elmarad a szennyezetlen területekhez képest (Roane and Kellogs, 1996; Hutchinson and Symington, 1997; Kuperman and Carreiro, 1997). Az említett közlemények alapján a nehézfémmel szennyezett talajok gátolják a szerves szennyező anyagok bioremediációját, míg Konopka et al. (1999) szerint a nehézfémmel szennyezett területek egy extrém élőhelyet jelentenek a mikroorganizmusok számára, amelyhez alkalmazkodni tudnak.

Khan and Scullion (2000) különböző agyag- és szervesanyag tartalmú talajok szennyvíziszap-kezelés hatására bekövetkező mikrobiális válaszreakcióit mérték. A kezelésekre hatására a kontrollhoz képest nőtt a gomba/baktérium arány, amit elsősorban a gombák mennyiségi növekedése eredményezett, amit az ergoszterin, mint a gomba biomarker növekedése is alátámasztott.

Trinitro-toluolos talajszennyezés hatására a PLFA analízis alapján a Gram-pozitív baktériumok, gombák és protozoonok mennyisége csökkent (Wilke et al., 2004), majd a szervesanyag-kezeléssel járó talajremediációs hatására lényegesen növekedett.

Hinojosa et al. 2005-ben nehézfémmel szennyezett talajokban vizsgálta a mikroorganizmus közösségek összetételének változását PLFA módszer segítségével. A Cd, Cu és Zn nehézfémek valamint a pH változás volt legnagyobb mértékben hatással a mikrobiális közösség struktúrájára illetve az egyes zsírsavak arányára a vizsgált talajokban. Az általános gomba marker (18:2 $\omega$ 6c), az arbuscularis mycorrhiza marker (16:1 $\omega$ 5c) és a Gram-pozitív baktériumokra jellemző izo- és anteizo-elágazást tartalmazó zsírsavak aránya csökkent a szennyezés növekedésével. A Gram-negatív baktériumokat jelölő 17:0cy zsírsav metil észter mennyisége megemelkedett a fémszennyezés hatására. Erős pozitív korrelációt talált a Gram-pozitív/Gram-negatív arány és a pH között, ezzel szemben negatív korrelációt a Gram-pozitív/Gram-negatív arány és a Cd, Cu és Zn között.

A szennyezés különböző fokozatai közötti különbségek jellemzésére úgy tűnik jobban használható a gomba/baktérium biomassza aránya, mint a populációk relatív nagysága. Hinojosa et al. 2005-ben magasabb

gomba/baktérium arányt talált a szennyezetlen és remediált területeken a szennyezethez képest, bár a remediált területek nagy szórást mutattak. A gomba/baktérium biomassa aránya jó indikátorként használható fel a remediációs folyamatok sikerességének tanulmányozására (Bardgett and McAlister, 1999; Zeller et al., 2001) és kifejezheti az ökoszisztéma stabilitásának fokát (Mummey et al., 2002).

Hinojosa et al. (2005) szerint a 16:1 $\omega$ 5c zsírsav mennyiségének meghatározása alkalmas a talajok különböző szennyezettség szintjének jelzésére. A 16:1 $\omega$ 5c zsírsav az arbuscularis mycorrhiza (AM) gombák legfontosabb összetevője (Haack et al., 1994; Graham et al., 1995), amelynek értékes biomarként való használatát javasolta Olsson (1999) az AM biomasszájának és talajban történő eloszlásának jellemzésére. Fontos, hogy néhány baktérium csoport pl. *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Flexibacter* stb szintén termelnek 16:1 $\omega$ 5c zsírsavat (Nichols et al., 1986). Frostegård et al. (1993/a) drasztikus növekedését mérte a 16:1 $\omega$ 5c zsírsavnak meszes talajokban. Cink és más nehézfémek adagolására a talajban csökkent e zsírsavnak a mennyisége (Frostegård et al., 1993/b, 1996; Kelly et al. 1999). A 16:1 $\omega$ 5c zsírsav mennyisége pozitívan korrelál a pH-val és negatívan a nehézfémek (főleg a Cu és Zn) mennyiségével a talajban. Ezek alapján a 16:1 $\omega$ 5c zsírsav különösen érzékeny a környezeti változásokra, és jó indikátora lehet a mikrobiális közösségek összetételében bekövetkező változásoknak.

A többszörösen telítetlen zsírsavak, mint pl. a 18:2 $\omega$ 6c, elsősorban gombákra jellemző (Guckert et al., 1985), de előfordulnak a növényi membránok alkotórészeként is. Hinojosa et al. (2005) negatív korrelációt találtak a 18:2 $\omega$ 6c zsírsav mennyisége és a nehézfém, Cu és Zn, szennyezés között. Ezzel megegyező eredményre jutott Kelly and Tate, (1998) az Egyesült Államok Atlanti vidékén cink kohók közelében elhelyezkedő erdő talajokban, és Finnországban Pennanen et al. 1996-ban fém feldolgozó üzemekhez közeli talajokban. Ezek az eredmények cáfolják azt az általánosan elfogadott megállapítást, miszerint a gombák toleránsabbak a nehézfém szennyezéssel szemben, mint a baktériumok. A talajban a baktériumok kisebb méretük révén a talaj kisebb pórusaiban helyezkednek el, amelyek védelmet jelentenek a számukra. Ezzel szemben a gombák nagyobb méretük miatt jobban ki vannak téve a nehézfémek káros hatásának. A gombák esetében, ha már egy hyfa is érintkezik a nehézfém szennyezéssel az érintheti az egész élőlényt. Az egy sejtből álló élőlények esetében a nehézfém szennyezés csak egyetlen sejtet érint és nem az egész kolóniát.

Rajapaksha et al. (2004) végzett 60 napos laboratóriumi kísérleteiben viszont a gombák aktivitását kevésbé befolyásolta a nehézfém szennyezés, mint a baktériumokét. Rövidtávon a nehézfém érzékeny baktériumok felelősek a baktériumok mennyiségének csökkenésért. A hosszú távú kísérletekben a kompetitív versengés során a toleránsabb baktériumok válnak uralkodóvá a baktérium közösségben és okoznak biomassza növekedést. Viszont a gombák mennyisége megnő néhány napon belül a nehézfém terhelést követően. Ez valószínűleg annak a ténynek köszönhető, hogy a gombák növekedése szén limitált. Extra mennyiségű szén szabadul ki az elpusztult baktériumokból és így serkenti a gombák növekedését felülírva a nehézfémek toxikus hatását. A nehézfémek által negatívan befolyásolt baktériumok nem tudnak előnyt szerezni ebből az extra mennyiségű szénből.

A nehézfém szennyezés összetettebb hatást okoz a mikorrhizális gombák esetében. Pennanen et al. (1996) kimutatta, hogy a nehézfémek elpusztítják a hajszálgököket és ez által csökkentik a rhizoszféra nagyságát. Ebből az következik, hogy a meg növekedett nehézfém koncentráció csökkenti, vagy egyes esetekben megakadályozza a növényi gyökök mycorrhizális fertőzését. Ennek következtében a gombák részesedése csökken az összes mikroorganizmus számból a nehéz fémekkel szennyezett területeken, amit a 18:2ω6c zsírsav mennyisége jelez (Hinojosa et al., 2005).

Dahlin et al. (1997) kísérletében az egyik vizsgált területet nehézfémekkel, a másikat szennyvíziszappal (kontroll, alacsony, közepes, nagy dózis) kezelték. A nehézfémekkel-kezelés esetében nem történt szignifikáns változás a kezelések hatására, ellentétben a másik területtel, ahol a közepes és nagy dózisú szennyvíziszap alkalmazásakor növekedett a 18:2ω6,9 (gomba-biomarker) zsírsav mennyisége. Szignifikáns különbség volt tapasztalható a nagy dózisú szennyvíziszap-kezelésnek alávetett és a kontroll talajok PLFA mintázatában, valamint a baktériumközösségek Cu-toleranciájában.

Mivel a gombák fontos szerepet játszanak a talaj lebontó folyamataiban, a nehézfém szennyezés szignifikánsan hat a talaj ökológiai rendszerében a gombák mennyiségének csökkentése révén, és ez által indirekt módon csökkenti a talaj dekompozíciós képességét. Mindezek ellenére ezzel markerrel óvatosan kell bánni, mert nem csak gombáktól származhat (Nichols et al., 1986; Frostegård and Bååth, 1996; Olsson, 1999).

## 2.7. A talajenzimek és aktivitásuk

Az enzimek az élő szervezet anyagcseréjét és energiaáramlását szabályozó biokatalizátorok. Talajenzimek alatt a talajban fellelhető összes enzim mennyiségét, enzimaktivitás alatt pedig ezen enzimek összes aktivitását értjük.

A talajban felhalmozódott enzimek származhatnak a már elhalt, de még intakt sejthez vagy sejtfragmenthez kötött, továbbá a gyökerekből, a mikrobákból és a faunából származó extracelluláris enzimekből, valamint a tönkrement sejtek endoenzimeiből. Legnagyobb mennyiségben az oxidoreduktázok (pl. dehidrogenáz, kataláz, stb.) és a hidrolázok (pl.: foszfatáz, szacharáz, ureáz, stb.) fordulnak elő (Szabó, 1986). A talajoknak jól mérhető enzimaktivitása van, a talajenzimek eredete nagyon eltérő lehet (Szabó, 1986).

A talajenzimek vizsgálatával betekintést nyerhetünk a talajok biodinamikájába, de ez korántsem ad teljes képet, hiszen a talaj egy rendkívül összetett rendszer és e vizsgálatok, csak egy részét tárják fel a benne lejátszódó folyamatoknak. A természetes és xenobiotikum anyagok lebomlása és transzformációja a talajban a mikroorganizmusok számának, tevékenységének és a talajenzimek aktivitásának köszönhető.

A talajenzimek működését nagymértékben befolyásolják a talaj különböző tulajdonságai pl.: pH, szervesanyag tartalom. Moller (1979) pozitív korrelációt talált az ureáz aktivitása és a talaj pH-ja, szervesanyag bontottságának foka és a C/N aránya között, míg Borie and Fuenteacba (1982), Reddy et al., (1996) negatív korrelációt tapasztalt az ureáz aktivitás és a talaj pH-ja között. Kovács (1990) a kataláz aktivitási értéket a talaj biológiai aktivitásának indikátoraként használta. Zhang et al. (2000) az ureáz, kataláz, celluláz, dehidrogenáz és proteáz enzimeket a talaj szervesanyag tartalmának változása szempontjából fontos tényezőnek tartja.

A talaj enzimek alkalmasak a talajban természetes úton vagy zavarás hatására lejátszódó folyamatok leírására. Shillam et al. (2008) különböző fejlettségi állapotú vulkanikus talajok mikrobiális közösségének összetételét és enzim ( $\beta$ -glükózidáz, foszfatáz, arylsulfatáz) aktivitását vizsgálták. Az idősebb területekről származó talajminták mikroorganizmus közösségének összetétele szerkezetileg diverzebb volt, viszont nem volt olyan rezisztens és rugalmas a környezeti zavarással szemben, mint a fiatalabb talajoké. A mikrobiális közösség nagyobb diverzitása nem eredményez nagyobb talaj enzim aktivitást, ez inkább más talaj paraméterekkel van összefüggésben, mint a tápanyagok mennyisége a

talajban (Allison and Vitousek, 2005). Az is nagyon fontos, hogy a talaj enzimek nem csak a talaj mikroorganizmusoktól származnak, hanem léteznek más forrásból származó extracelluláris enzimek is (Burns, 1978).

A talaj enzimek aktivitására hatással vannak a talaj művelése során alkalmazott különböző tápanyagpótló módszerek is, a műtrágyázás, szerves trágyázás. Folyamatos szerves trágyázás és szervesetlen trágyázás (N, P) hatását vizsgálták indiai kutatók (33 évig) a talaj enzimek aktivitására, szántóföldi kísérletekben, mérsékelt égövi éghajlat alatt. A szerves trágyázás eredményeként szignifikánsan növekedett a talajban a dehidrogenáz, savas és lúgos foszfatáz, celluláz és proteáz aktivitás. Az ureáz aktivitást nem befolyásolta a trágyázás és aktivitása a kontrollban volt a legnagyobb. A savas és lúgos foszfatáz aktivitását is negatívan befolyásolta a szervesetlen trágyázás. Az összes vizsgált enzim aktivitása szignifikánsan korrelált a talaj szén tartalmával. Az eredményeik alapján megállapították, hogy az istállótrágya alkalmazása direkt vagy indirekt módon befolyásolja az enzimek működését és ezen keresztül a tápanyagok lebontását (Supradip, 2008).

A komposztálás során ellenőrzött körülmények között mikroorganizmusok segítségével játszódnak le a dekompozíciós folyamatok, melynek során CO<sub>2</sub> termelődik (Hoitink and Kutar, 1986), ha a folyamatban földigiliszták (*Eisenia fetida*) is részt vesznek féregkomposztálásnak, nevezzük (Reinecke et al. 1992). Pramanik et al. (2007) különböző szerves hulladékok: szarvasmarha trágya, szalma, vízi növények, települési szilárd hulladék mésszel keverve és mikroorganizmus keverék beoltásának hatását vizsgálta a féregkomposzt kémiai és biokémiai tulajdonságaira. A vizsgálatok során a szarvasmarha trágya szolgáltatta a legjobb szubsztrátot a földigiliszták számára. A szilárd települési hulladék mésszel keverve és a mikroorganizmusok beoltása növelte meg a legjobban a szervesanyag tartalmat illetve a foszfatáz és ureáz aktivitást.

Ismert a különböző káros és/vagy mérgező anyagok felhalmozódása a talajban, ezekhez tartoznak a nehézfémek is. Dar (1996) Cd és szennyvíziszap együttes hatását vizsgálta a mikrobiális biomasszára és talaj enzim aktivitásokra laboratóriumi körülmények között. A Cd-al szennyezett talajokban a Gram-negatív baktériumok aránya növekedett meg. A Cd magas koncentrációja szignifikáns csökkenést okozott a dehidrogenáz, foszfatáz enzimek aktivitásában a szennyvízzel kezelt talajokban, bár a csökkenés nem volt olyan kifejezett, mint a szennyvízzel nem kezelt talajokban. Eredményeik alapján a Cd enzimekre kifejtett toxikus hatása fordított arányosságban áll a talajok agyag és szervesanyag tartalmával. A Cd gátló hatása a talaj enzimek működésére nem közvetlen,

hanem inkább a növekedésükben a Cd által korlátozott mikroorganizmusok, csökkent enzim szintézisének következménye. A Cd hatására bekövetkező változások a mikroflórában, megváltoztatják a talaj enzimek aktivitását.

Carbonell et al. (2009) nehézfém (Cu, Ni, Pb, Zn) tartalmú szennyvíz iszap hatását vizsgálta a talaj enzimekre (dehidrogenáz, foszfatáz). Mindkét enzim aktivitása felhasználható a mikrobiális közösség monitorozására. A szennyvíziszap adagolás hatására a dehidrogenáz és foszfatáz enzimek aktivitása szignifikánsan növekedett. Wang et al. (2007) végzett vizsgálatai szerint a talaj mikroorganizmus közösségeinek aktivitását csökkentik a szennyvíziszappal a talajba jutó nehézfémek.

Számos vizsgálatban használták fel indikátorként az enzim aktivitásokat a nehézfém szennyezés jelzésére (Speir et al., 1995; Kandeler et al., 1996; Moreno et al., 2003; Hinojosa et al., 2004/a; Pérez-de-mora et al., 2006). Schlotter et al. (2003) szerint nehéz eldönteni, hogy melyik enzim a legérzékenyebb a nehézfém-szennyezés hatására, mert az enzimek aktivitása nagymértékben függ az őket körülvevő talaj mikrokozmosztól.

Moreno et al. (2009) a Cd és Zn toxikus hatását vizsgálta az enzim aktivitásokra erdő talajokban és cserjés területek talajaiban. A nehézfém szennyezés toxikus hatását és mértékét a talaj biológiai folyamataira nagymértékben meghatározza a talaj típusa (Moreno et al., 2001; Smolders et al., 2004; Speir et al., 1992). Ez előbbi megállapítás az extracelluláris enzimekre igaz, azok között is elsősorban a hidrolázokra (ureáz, foszfatáz és  $\beta$ -glükózidáz), amelyek hozzá kötődnek az agyag és humusz szemcsékhez (Nannipieri et al., 1996). A humusz-enzim komplex stabilizálja az enzimet és megvédi a nehézfémek toxikus hatásától, emiatt az alacsonyabb humusz tartalmú talajokban az enzimek érzékenyebbek a nehézfém szennyezésre. A nehézfémek talaj enzimekre gyakorolt gátló hatása többféleképpen érvényesül. A nehézfémek hozzákapcsolódnak a humusz-enzim komplexekhez, denaturálják az enzimek fehérje természetű részeit, gátolják az enzimek szintézisét a mikrobiális sejtekben, vagy változásokat indukálnak a talaj mikrobiális közösségeinek összetételében (Nannipieri et al., 1994).

Hasonló eredményekről számol be Hinojosa et al. (2004/a) Zn és Cd szennyezés hatására. Eredményeik alapján az ureáz,  $\beta$ -glükózidáz és dehidrogenáz enzimek aktivitásában jelentkező nagyobb különbség a szennyezett és kontroll terület között. Más szerzők szerint az aryl-szulfatáz érzékenyebb, mint az ureáz és foszfatáz (Haanstra and Doelman, 1991). Az alacsonyabb humusz tartalmú talajok mikrobiális közösségei alacsonyabb katabolikus diverzitással rendelkeznek, a nagyobb humusztartalmú

talajokhoz viszonyítva (Moreno et al., 2009). A katabolikus diverzitás a mikroorganizmusok funkcionális diverzitásának része. A mikrobiális közösségek katabolikus diverzitásának csökkenése sebezhetővé teszi a közösségeket a különböző stresszhatásokkal és zavarással szemben (Degens et al., 2001).

Moreno et al. (2009) a legnagyobb gátló hatást a talaj enzimek aktivitására a Cd+Zn együttes adagolásakor tapasztalta két különböző talaj típusban. Renella et al. (2007) szerint a Cd+Zn fémekkel együttesen szennyezett szennyvíziszap nem okozott olyan mértékű szignifikáns csökkenést az enzim aktivitásokban, mint a Cd-al vagy csak Zn-el szennyezett szennyvíziszap.

Az expozíciós idő hossza szintén befolyásolja az enzimek aktivitását (Moreno et al., 2009). Haanstra and Doelman (1991) a különböző nehézfémek gátló hatásának növekedését tapasztalta az aryl-szulfatáz enzimre az expozíciós idő növekedésével. Speir et al. (1999) viszont csökkenést tapasztalt néhány enzim aktivitás gátlásában 60 napos As szennyezés után a három napos kezeléshez viszonyítva. Belyaeva et al. (2005) kisebb csökkenést tapasztalt az enzim aktivitásokban a nehézfém szennyezés után kettő évvel, az inkubációt követő első évhez viszonyítva, két különböző talaj típusban. Más szerzők is megállapították az expozíciós idő egyértelmű hatását a nehézfém szennyezésre (Moreno et al., 2003).

### **2.7.1. A foszfatáz enzim**

A talaj foszforkészletének jelentős részét a növények nem tudják értékesíteni, mivel különböző szerves vegyületekbe vannak beépülve, vagy vízoldhatatlan kalcium- és vas-foszfátok formájában fordul elő (Szegei, 1979). A kötött és a növények által könnyen felvehető oldható foszforformák megfelelő egyensúlyát a foszfatáz enzim biztosítja. A szerves foszfortartalom növekedése serkenti, a szervetlen foszfátok mennyiségének növekedése csökkenti a foszfatáz aktivitását (Kramer és Erdei, 1959). Változik a foszfatáz enzim aktivitás attól függően, hogy a talajminta milyen mélységből származik (Fu et al., 1998). Ezzel kapcsolatban Samuel et al. (2000) azt tapasztalta, hogy a mélyebb talajrétegekben alacsonyabb a foszfatáz aktivitása. A szervesanyag-tartalmat (Kátai és Veres, 2001; 2002; 2003) egyértelműen kedvezőnek ítélték a foszfatáz aktivitás szempontjából. Ugyanakkor Speir et al. 1992-ben nem tudott kimutatni korrelációt a szerves-szén tartalom és a foszfatáz aktivitása között. A talaj foszfatáz aktivitására hatással van a növényborítottság, Mu (1997) a növényzettel fedett talajban magasabb

aktivitást mért, mint a fedetlenben. Srinivas et al. 2000-ben növényfajtól függő aktivitásbeli különbséget tapasztalt, amit azonban a termőhely módosított. Chen et al. (2000) az erdő talajában folyó nagyobb mineralizáció ellenére a gyepterület talajában mérte a magasabb foszfatáz aktivitást. A növénytakarón kívül az agrotechnika is lényegesen befolyásolja az enzimaktivitást. Mu (1997) és Samuel et al. (2000) a nem művelt vagy minimális művelésben részesített területeken alacsonyabb foszfatáz aktivitás értékeket mért. Garcia-Gil et al. (2000) és Parham et al. (2002) szerint a magas szervesanyag tartalmú trágyák gátolják a foszfatáz enzim aktivitását, a műtrágyák viszont serkentőleg hatnak rá. A foszfatázok aktivitása a komposzttal vagy zöldtrágyával kezelt területeken szignifikánsan magasabb, mint a nem kezelt területeken (Pascual et al., 2002). A nehézfémek talajba jutása gátolja a foszfatáz aktivitást (Mikanova et al., 2001).

### **2.7.2. A szacharáz (invertáz) enzim**

Az invertáz (szacharáz) enzim hidrolitikus katalízis során glükózra és fruktózra bontja a talaj szacharóz tartalmát (Szegi, 1979). Az enzim aktivitása nagyban függ a talajtípustól (Galsztjan, 1978), azon belül is elsősorban a pH-tól, a szervesanyag és tápanyagtartalomtól. A talaj tulajdonságai közül a szerves széntartalom, az összes nitrogéntartalom (Frankenberger and Johanson, 1983) pozitívan korrelált a szacharáz aktivitással. A növénytakaró faji összetétele befolyásolja az enzim aktivitását (Khan, 1970). A TCA, PMA, toluol, karbaril és atrazin hatóanyagokat kedvezőtlenül, a paraquatot és a glifozátot pedig kedvezően hatnak az enzim aktivitására (Abdel-Yussif et al., 1976). Hasonlóan néhány peszticidhez a nehézfémek is gátolják a szacharáz enzim aktivitását (Maarit Niemi et al., 1998). A mezőgazdasági gyakorlatban az invertáz enzimet a talaj termékenységének meghatározására használják. A talaj szervesanyag tartalmának, összes mikroba számának, xylanáz és invertáz enzim aktivitásának növekedését tapasztalta Poll et al. (2003) istállótrágya adagolás hatására. Kátai és munkatársai (2002) a szerves trágyázást találta kedvező hatásúnak az invertáz aktivitásra nézve.

### **2.7.3. A dehidrogenáz enzim**

A dehidrogenáz enzim csak intakt sejtek szerves részeként lehet jelen a talajban (Szabó, 1986). A talajnedvesség- és tápanyagtartalma befolyásolja az enzim működését (Dkhar and Mishra, 1983; Baruah and

Mishra, 1984). A dehidrogenáz aktivitás a növényzettel fedett talajban magasabb, legnagyobb mennyiségben a rhizoszférában fordul elő (Mamatha et al., 2001) és aktivitása a talajszelvényben függőlegesen lefelé haladva csökken. Aktivitására pozitív hatással van a talaj szerves-szén és összes nitrogén tartalma (Baruah and Mishra, 1984; Rao és Ghai, 1985), viszont negatívan korrelál az összbaktérium számmal (Baruah and Mishra, 1984). Működését befolyásolja a növényborítottság és a csapadékellátottság (Quilchano and Maranon, 2002). Csökkenti a dehidrogenáz aktivitását a talaj nehézfém szennyezettsége (Yeats et al., 1994; Gong et al., 1997; Mikanova et al., 2001; 2002;). Hasonló eredményről számolt be Oliveira and Pampulha (2006), aki higannyal és arzénnal szennyezett talajokat vizsgált és Lee et al. 2006-ban Cd, Zn, Cu és Pb szennyezés és a dehidrogenáz enzim aktivitása között.

#### **2.7.4. A celluláz enzim**

A lebontási folyamatok intenzitása alapján következtetni lehet a talajok biológiai aktivitására. A CO<sub>2</sub> produkció mellett a dekompenzációs folyamatok intenzitásának egyik mértéke a talajba került növényi eredetű szervesanyagok súlycsökkenése. A növényi szövetek legfontosabb alkotó része a cellulóz, amely évről évre óriási tömegben kerül a talajba. Lúgokkal és savakkal szemben igen ellenálló, a cellulózbontó mikroorganizmusok celluláz enzimjének hatására hidrolizálódik és végtermékként glükóz keletkezik (Szegi, 1979).

Hattori (1991) a cellulóz talajban történő lebontását vizsgálva, megállapította, hogy a Cd - a koncentrációtól függően - serkenti vagy gátolja a cellulózbontó aktivitást. Nehézfémeket tartalmazó szennyvíziszappal kezelt talajok biomasszája és cellulózbontó aktivitása csak 50%-át érte el a nem szennyezett talajokénak (Chander and Brookes, 1991).

Bulgár kutatók szerint a különböző szerves trágyák (istállótrágya, fahulladék, komposzt) hatására növekedett a cellulózbontás aktivitása. Helmeczi (1965) szerint, ahogy nő a herbicidek alkalmazási területe és növekszik az engedélyezett vegyszerek száma, úgy válik egyre meghatározóbb ökológiai faktorrá a talaj-mikroorganizmusok számára. Ez ma már egyáltalán nem kétséges és jól ismert, hogy a cellulózbontó aktivitás is, nagymértékben függ az alkalmazott herbicidektől is.

### 3. Anyag és Módszer

#### 3.1. Mintavételihelyek leírása

Mintavételi helyeink Szabolcs-Szatmár-Bereg megye kis településeinek közelében lévő legális és felhagyott, de illegálisan használt hulladéklerakók voltak Beregsurány, Beregdaróc és Gelénes külterületén.

##### 3.1.1. Beregsurányi hulladéklerakó

Beregsurány községtől délkeletre található, mintegy 1 km távolságra. Itt egy hajdani, elhagyott folyómedret töltöttek fel a település kommunális hulladékával. Ma már a faluból szervezeten szállítják el a szemetet a regionális lerakóba, ezért ide bármit kihozni tilos. Ennek ellenére ma is látható kisebb kupacokban kihordott kommunális hulladék illetve lomtalanítás maradványa. Súlyosabb probléma, hogy szippantott szennyező anyagot - fekáliás szennyvizet - ürítenek a területre. A korábban lerakott hulladékot már jórészt benőtte a növényzet, a nagy csalán (*Urtica dioica* L.) a bojtorján bogáncs (*Arctium lappa* L.), a vérehulló fecskefű (*Chelidonium majus* L.), a kúszó boglárka (*Ranunculus repens* L.), a vízi hídör (*Alisma plantago-aquatica* L.), és a széleslevelű gyékény (*Typha latifolia* L.).

Az észak-dél irányban megnyúlt terület északnyugati szegélyén rekettyefűz bokrok (*Salix cinerea* L.), törékeny fűzfák és bokrok (*Salix fragilis* L.), valamint vadkörte (*Pyrus pyraeaster* L. *Burgsdorf*) nőtt és alkotnak szinte átjárhatatlan sűrűséget. A keleti oldalon haladó út északi részén öreg kocsányos tölgyek (*Quercus robur* L.) szegélyzik a területet. Ettől délre haladva egy kisebb erdő határos a hajdani lerakóval, amelyet fehér akác (*Robinia pseudoacacia* L.), rezgő nyár (*Populus tremula* L.), törékeny fűz (*Salix fragilis* L.) és kocsányos tölgy (*Quercus robur* L.) alkotnak. Az erdő közepén levő tiszta vizű tóban vízi harmatkását (*Glyceria maxima* (Hartm.) Holmbg), zsombéksást (*Carex elata* All.), és mocsári nősziromot (*Iris pseudocorus* L.) figyelhetünk meg. A terület déli csücske gyeperes, amelyet a szomszédos szántó földektől törékeny fűz (*Salix fragilis* L.) fasor választ el. A gyeperben réti margitvirág (*Chrysanthemum leucanthemum* L.), kakukktorma (*Cardamine pratensis* L.), kakukkszekfű (*Lychnis flos-cuculi* L.), koloncos legyezőfű (*Filipendula vulgaris* Mönch) valamint mocsári nőszirom (*Iris pseudocorus* L.) virágzott, lehetőséget teremtve számos rovar megtelepedésének.

### 3.1.2. Beredgaróci hulladéklerakó

Beredgaróc községtől 1,5 km-re délre, a Beregszászi erdő szélén volt a hajdani települési hulladéklerakó. Itt korábbi agyagnyerő gödröket - kubik gödröket - töltöttek fel kommunális hulladékkal. Már jó ideje nem használják és ennek eredményeképpen a szukcesszió előrehaladott állapotban van. Csak itt-ott bukkan ki a szemét, főként műanyagok. A területet fiatal kocsányos tölgy (*Quercus robur* L.), rezgőnyár (*Populus tremula* L.), amerikai kőris (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh) és vadkörte (*Pyrus pyraeaster* L.) fák, valamint kökény (*Prunus spinosa* L.) bokrok szegélyzik és részben fedik. A területen megtalálható még a nagy csalán (*Urtica dioica* L.) borítja, melyek közt megjelent a pénzlevelű lizinka (*Lysimachia nummularia* L.), a mezei zsurló (*Equisetum arvense* L.) és az erdei pajzsika (*Dryopteris filix-mas* L. Schott) is. Dominálnak a ruderalis növények. A növényzet mozaikos szerkezetű.

### 3.1.3. Gelénesi hulladéklerakó

Gelénes községtől kb. 3 km-re északra, a Gelénes-barabási út mentén fekszik a szakszerűen kiépített regionális hulladéklerakó, ahová a környék településeiről gyűjtik össze a kommunális hulladékot. A drótkerítéssel elzárt telepet nemesnyár (*Populus* spp.) takaró fásítás fedi, amelynek feladata a szél megtörése és a hulladék széthordásának megakadályozása. A nyáras alatti gyeppen gyermekláncfűt (*Taraxacum officinale* Weber), kerekrepkényt (*Glechoma hereracea* L.), ragadós galajt (*Galium aparine* L.), piros árvacsalánt (*Lamium purpureum* L.), fehér herét (*Trifolium repens* L.), lóherét (*Trifolium pratense* L.), gilisztaűző varádcitot (*Chrysanthemum vulgare* L.), és erdei pajzsikát (*Dryopteris filix-mas* L. Schott) figyelhetünk meg. A telepet északról szántóföld, keletről és délről fiatal gyümölcsös ültetvény határolja. Nyugatról, a Gelénes-barabási út másik oldalán egy kb. 3 hektáros akácerdő található, melyben az állományalkotó fehér akác (*Robinia pseudoacacia* L.) mellett fekete bodzát (*Sambucus nigra* L.), hamvas szedret (*Rubus caesius* L.), nagy csalánt (*Urtica dioica* L.), ragadós galajt (*Galium aparine* L.) és fürtös salamonpecsétet (*Polygonatum multiflorum* L. All.) találhatunk.

### 3.1.4. A Kontroll terület

Beredgaróc községtől dél-keletre, az ukrán-magyar határ mentén található. Az alföldi gyertyános-tölgyesek (*Querceto robori-Carpinetum* Soó és Pócs 1957 em. Soó 1980) egyetlen, többé-kevésbé eredeti

formájában megmaradt foltja. Kontroll területként az erdő kb. 3 hektáros idős állományát vizsgáltuk a korábbi hulladéklerakó közelében. Ennek során az alábbi növényfajok jelenlétét állapítottuk meg: kocsányos tölgy (*Quercus robur* L.), gyertyán (*Carpinus betulus* L.), mezei juhar (*Acer campestre* L.), korai juhar (*Acer platanoides* L.), tatárjuhar (*Acer tataricum* L.), amerikai kőris (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.), egybibés galagonya (*Crataegus monogyna* Jacq.), veresgyűrűs som (*Cornus sanguinea* L.) és a kökény (*Prunus spinosa* L.) a fásszárúak közül. Az aljnövényzetben gyöngyvirágot (*Convallaria majalis* L.), fürtös salamonpecsétet (*Polygonatum multiflorum* L. All.), indás infűt (*Ajuga reptans* L.), ragadós galajt (*Galium aparine* L.), medvetalpat (*Heracleum sphongylium* L.) találtunk. A területről elmondható, hogy egy jól szentezett, dús vegetációjú, az állatvilág számára kiválóan megfelelő élőhely.

A mintavételi helyek néhány talaj paramétere látható a 2. táblázatban. A talajok pH-ja a savas tartományba tartozik. A hulladéklerakók területén a talajok TOC (teljes szerves szén) tartalma magasabb, mint a Kontroll területen. A vízkapacitási értékekben nincsenek nagy különbségek az egyes területek között. A CaCO<sub>3</sub> nem jellemző a talajokra.

2. táblázat. A mintavételi helyek talajának néhány paramétere

Mintavételi helyek	pH <sub>(KCL)</sub>	TOC%	WHC%	CaCO <sub>3</sub> %
1. Gelénes	4,33	5,58±0,3	22±0,1	0,00
2. Beregsurány	4,81	9,42±0,4	25±0,4	0,00
3. Beregdaróc	4,52	7,34±0,2	24±0,3	0,00
4. Kontroll	5,22	4,96±0,4	24±0,2	0,00

## 3.2. Vizsgálati módszerek

### 3.2.1. Mikroorganizmus vizsgálatok

A talajmintákat a szemételepek három pontjáról, két mélységből (20-50 cm) vettük és azokból átlagmintát készítettünk. Ezekből 1-1 g talajt 100 ml steril desztillált vízzel összeráztunk (Unihood 650, 26 °C-on, 30 percig), majd a mintákból 10<sup>3</sup>–10<sup>5</sup>-szeres hígítást készítettünk. A hígításból 50 µl-t Nutrient táptalaj felszínére szélesztettünk, majd 48 órás inkubálás után számoltuk a kinőtt telepeket. A jellegzetes formákat random módon izoláltuk és az 1g talajban található telepszámot értékeltük (CFU. g-1talaj). A baktériumok nemzetség szerinti elkülönítését telepmorfológia, Gram-festés (Hucker 1922), spórafestés (Bartholomew and Mittwer 1950),

oxidáz-reakció (Kovács 1956), kataláz-reakció (Kovács 1990), glükózbontás (Hugh and Leifson 1953) alapján végeztük.

### **3.2.2. Talajenzim vizsgálatok**

#### **3.2.2.1 Dehidrogenáz enzim aktivitás mérése (Mersi and Schinner, 1991)**

1 g talajhoz adunk 1,5 ml TRIS puffert és 2 ml szubsztrát oldatot, majd 40 °C – on két órát inkubáljuk. Inkubáció után 10 ml extraháló oldatot (100 ml NN dimetil-formamidot oldunk fel 100 ml 96 % - os etanolban) adunk hozzá, és szobahőmérsékleten egy óráig sötétben tartjuk, és 20 percenként összerázzuk. Szűrés után a minta INTF (indonitrotetrazolium formazán) tartalmát 464 nm – en fotometráljuk az extraháló oldattal szemben. A minta INTF tartalmát extinció görbéről olvassuk le ( $\mu\text{gINTF/g}$  talaj).

#### **3.2.2.2 Foszfátáz enzim aktivitásának mérése (Krámer és Erdei, 1959)**

150 ml – es Erlenmeyer – lombikban 5 g talajhoz adunk 2, 5 g toluolt. 15 perc múlva hozzáadunk 20 ml 0, 5 – 2 %-os dinátrium-fenolfoszfát oldatot, majd két óráig 37°C-on inkubáljuk. Ezután 100 ml 0, 5 %-os timsóoldattal összerázzuk, majd redős szűrőn át leszűrjük. A szűrletből 5 ml-t 25 ml-es mérőlombikba adagolunk, hozzáadunk 5 ml 9,4 pH-jú bórax-puffert és 4 csepp Gibbs-reagenst. A jelig töltött oldat színerősségét 640 nm hullámhosszon fotometráljuk. Kontrollként szárítószekrényben 3 órán át 180 °C-on hőkezelt talajt alkalmazunk. Olyan kontroll is szükséges, amely nem tartalmaz talajt, csupán az oldatokat. A hidrolizált foszforsavat 1 g abszolút száraz talajra vonatkoztatva  $\text{P}_2\text{O}_5$ - ban fejezzük ki, figyelembe véve a 24 órás expozíciós időt.

#### **3.2.2.3 Invertáz enzim aktivitásának mérése (Schinner and Mersi, 1990)**

5-5 g nedves talajt teszünk 3 db Erlenmeyer lombikba. Kettőhöz 15 ml szubsztrát oldatot és 15 ml acetát puffert adunk, a harmadikhoz csak 15 ml acetát puffert (kontroll). Az edényeket összerázzuk és 3 óráig 50 °C-on inkubáljuk. Ezután hozzáadunk 15 ml szubsztrát (12 g szaharóz feloldva 1000ml acetát pufferban) oldatot a kontrollhoz. A mintákat leszűrjük. A filtrátumból 0,5 ml-t 20 ml desztillát vízben feloldunk. A feloldott

filtrátumból 1ml-hez hozzá adunk 1 ml A reagenst (16 g vízmentes nátrium karbonát és 0,9 g kálium cianid 1000 ml desztillált vízben oldva) és 1 ml B reagenst (0,5 g kálium hexacianoferrát (III) 1000 ml desztillált vízben oldva), jól összerázzuk és 15 percig forró vízfürdőre, tesszük. Szobahőmérsékletre hűtjük és 5 perc után hozzá adunk 5 ml C reagenst (1,5 g vas-ammónium szulfát és 1 g nátrium dodecil szulfát 1000 ml desztillált vízben oldva). Szobahőmérsékleten állni hagyjuk 60 percig, a szín megjelenéséig. 690 nm fotometráljuk vakkal szemben. Az invertáz enzim aktivitását mg glükóz mennyiség/10 g talaj/ 24 óra mértékegységben fejezzük ki.

#### 3.2.2.4 Celluláz enzim aktivitásának mérése (Unger, 1979)

Ritka szövésű szintetikus szövetből 8x16 cm méretű zacskókat készítünk. Az egyes zacskókba 5 g előzőleg 105°C-on súlyállandóságig szárított gyapotvattát mérünk, és egyenletesen elosztatjuk. A zacskókat 15 cm mélységben ássuk a talajba. A zacskókat 3 hónap múlva szedjük fel. A zacskókat légszárazra szárítjuk, a talajt róla kíméletesen eltávolítjuk. 1%-os sósav oldatban főzzük, majd 70-80°C-os csapvízzel végül hideg csapvízzel többször átöblítjük, végül kiszárítjuk. A maradék cellulózt 105°C-on súlyállandóságig szárítjuk és lemérjük. Izzítás után a karbonátokat stabilizáljuk, a mintát szárítjuk és visszamérjük. A 105°C-on szárított és az izzítási súly különbsége alapján megkapjuk a visszamaradt cellulóz súlyát. Az elbontott cellulóz mennyiségét a bevitt és visszamaradt cellulóz mennyisége alapján számítással határozzuk meg. Ehhez szükség van az ún. standard cellulózesztekre, amelyeket nem helyezünk a talajba, de ugyanolyan mosási, szárítási, izzítási kezelésnek vetjük alá, mint a kísérletben alkalmazott tesztek. Ezek izzítási veszteségéből állapítjuk meg az eredeti, bevitt cellulóz mennyiségét.

#### 3.2.3. Az enzim aktivitás eredményeinek statisztikai analízise

Az eredmények statisztikai értékelését többváltozós variancia analízissel (Tukey b-teszt), SPSS 14.0 (Windows 98) programcsomaggal, páros t-próbával (ANOVA) határoztuk meg. A Tukey-b teszt vizsgálja, hogy kettőnél több – meghatározott szempontból eltérő – sokaság valamilyen más tekintetben is különbözik-e egymástól. A szignifikáns különbségeket a, b, c, betűkkel jelöljük. A legkisebb érték “a” és az ettől szignifikánsan különböző, és nagyobb értékek “b”, illetve “c” (a “b”

értéktől is nagyobb) jelölést kapnak. Az “ab” jelölés: az érték sem az “a”, sem a “b” értéktől nem különbözik szignifikánsan. A páros t-próba két meghatározott szempontból eltérő sokaság egymással való összehasonlítására szolgál.

### 3.2.4. PLFA (phospholipid fatty-acid) analízis

A talajminták mikrobiális közösségeinek összetételét a talajminták zsírsav metil-észter tartalmának feltárásával végeztük el. A lipidek extrakciója és a keletkezett zsírsav metil-észterek szétválasztása (Sasser, 1990/b; Ibekwe and Kennedy, 1998) módszere alapján történt. A mintákat HP 7890A (Agilent Technologies) gáz kromatográfval vizsgáltuk FID detektorral (300°C). A colonna típusa HP Ultra 2 (5% diphenyl-95% dimethylpolysiloxane, 25 m × 0.2).

Az egyes mikroorganizmus csoportok azonosításához használt biomarker zsírsavak a következők: i-15:0, a-15:0, 15:0, i-16:0, i-17:0, a-17:0, i-16:1, 16:1 $\omega$ 7t, 16:1 $\omega$ 7c, 17:0, cy17:0, 18:1 $\omega$ 7c, 18:1 $\omega$ 7t, cy19:0 általános baktérium biomarker zsírsavak (Tunlid and White, 1992; Frostegard and Bååth, 1996). A 18:2 $\omega$ 6 zsírsav a gombák biomarkere (Federle, 1986; Frostegard et al., 1993/a; Frostegard et al., 1996). A gomba/baktérium arányt a 18:2 $\omega$ 6 zsírsav mennyiségének és a bakteriális zsírsavak összegének hányadosából számoltuk. A 16:1 $\omega$ 7t, 16:1 $\omega$ 7c, cy17:0, 18:1 $\omega$ 7c, 18:1 $\omega$ 7t és a cy19:0 zsírsavak a Gram-negatív baktériumok biomarkerei (Wilkinson, 1988; Joner et al., 2005). Az i-15:0, a-15:0, 15:0, i-16:0, i-16:1, i-17:0, a-17:0, 17:0 zsírsavak a Gram-pozitív baktériumok biomarker zsírsavai (O’leary and Wilkinson, 1988). Az aktinomycesek biomarkerei a 10Me16:0, 10Me17:0, 10Me18:0 zsírsavak (Kroppenstedt, 1992). A mikrobiális közösség összetételének meghatározásához a biomarker zsírsavak mol%-os értékeit használtuk fel.

#### 3.2.4.1 A talajminták PLFA mintázatának vizsgálata

A módszer négy fő lépésből áll: szappanosítás, metilálás, extrakció és mosás. 3 g talaj teszünk egy teflon bevonatú csavaros kémcsőbe és hozzáadunk 3 ml 3.75 M NaOH-t amelyet MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1) oldottunk fel előzőleg. A kémcsöveket Vortexen rázatjuk majd 100°C-on 30 percig inkubáljuk vízfürdőn. A metilálás 6 ml 6.00 M HCl:MeOH (1:0,85) hozzáadásával történik, amit 10 percig 85°C-os vízfürdő követ. Ezután adjunk hozzá 2-3 ml hexán: metil-tercier butil éter (1:1) arányú keverékét.

A mintákat centrifugáljuk teflon bevonatú, zárható 35ml-es üveg centrifuga csőben 480 x g 10 percig. A szerves fázist mossuk át 3 ml 0.3 M NaOH-al és keverjük enyhén 5 percig. Ezután a mintákat nitrogénáramban (99,99 %) beszárítjuk, hexánba felvesszük majd GC mintatároló üvegcsébe, helyezük. Az analízist Hewlett-Packard 7890A készülékkel végeztük, HP Ultra 2 kapilláris colonnával (5% diphenyl-95% dimethylpolysiloxane, 25 m x 0.2) és FID detektoron. A csúcsokat bakteriális zsírsav metil-észter standard (FAME 37, 24 bakteriális zsírsav Supelco) segítségével azonosítottuk.

#### 3.2.4.2 A PLFA vizsgálat statisztikai elemzés

A talajszennyezés hatására a mintavételi helyek talaj mikroorganizmus közösségeinek PLFA mintázatban bekövetkező változásokat főkomponens analízissel (Principal Component Analysis) végeztük. A mintavételi helyek hasonlósági viszonyainak feltárása érdekében klaszter analízist használtunk. A statisztikai számításokat SPSS/PC+ programmal végeztük. A főkomponens analízishez (Principal Component Analysis) az egyes zsírsavak mólszázalékos (mol%) értékeit (n) használtuk fel  $\log_{10}(n+1)$  képlet szerinti transzformáció után. A számításokat korrelációs mátrixból végeztük. Az egynél nagyobb sajátértékű főkomponenseket vettük figyelembe. Varimax rotációt alkalmaztunk. A varimax rotáció megkönnyíti az eredmények értékelését, mert a főkomponens tengelyek egy-egy zsírsav csoportnak feleltethetők meg (faktorok). A mintavételi helyek klaszter analíziséhez (Cluster Analysis) a főkomponensek átlagos értékeit használtuk fel, és euklidészi távolság szerint csoportosítottuk. A zsírsavak csoportosítása a főkomponens súlyok klaszter analízisével történt.

#### 3.2.5. A baktérium törzsek izolálása és meghatározása

A vizsgálati helyek talajából és a talajban élő növények felszínéről izoláltunk baktériumokat. A talajmintákat a mintavételi helyek három különböző pontjáról vettük. Az egy mintavételi helyről származó mintákat homogenizáltuk, majd 1 g-ot feloldottunk 100 ml steril desztillált vízben. Az oldatokból 50  $\mu$ l-t nutrient táptalajra szélesztettünk. A kiválasztott növényekről 3-3 db levelet vettünk le és steril petricsészébe zárva szállítottuk a laboratóriumba. A levelek felszínét és fonákát nutrient táptalajhoz érintettük ezzel a módszerrel a könnyen leváló

mikroorganizmusokat izoláltuk. A mintákat 48 órán át 27-30°C-on inkubáltuk. A fajszerinti meghatározáshoz gáz kromatográfot használtunk (Hewlett Packard 7890A). Hét a *Bacillus* genusba tartozó fajt vizsgáltunk: *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus firmus*, *Bacillus licheniformis*. A faj szerinti meghatározást API teszt (bioMeriux, Franciaország) segítségével is elvégeztük. A különböző mintavételi helyekről származó azonos fajba tartozó baktérium törzsek, és törzstenyészetből származó törzs (*Bacillus brevis* (NCIM B.9372), *Bacillus cereus* (NCIM B.9373, NCAIM B 020781), *Bacillus pumilus* (NCIM B.9369, NCAIM B. 01081), *Bacillus subtilis* (NCAIM B. 010952-3), *Bacillus megaterium* (NCIM B.9376, NCAIM B. 1160), *Bacillus firmus* (NCAIM B. 01087), *Bacillus licheniformis* (NCAIM B. 01470) zsírsav profilját hasonlítottuk össze, klaszter analízissel segítségével. A statisztikai számításokat SPSS/PC+ programmal végeztük. A klaszter analízishez (Cluster Analysis) az egyes zsírsavak mólszázalékos (mol%) értékeit (n) használtuk fel  $\log_{10}(n+1)$  képlet szerinti transzformáció után.

#### 3.2.5.1 Az izolált baktérium törzsek zsírsav metil-észtereinek feltárása

A meghatározni kívánt baktérium törzseket Trypticase Soy Broth agaron (TSBA), amelynek összetétele 30 g Trypticase Soy Broth és 15g agar (BBL), szélesztettük és 28°C-on 24 óráig inkubáltuk. Oltókacs segítségével 40 mg mintát helyezünk egy teflon bevonatú csavaros kémcsőbe és hozzáadunk 1 ml 3.75 M NaOH-t amelyet MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1) előzőleg feloldottunk. A kémcsöveket Vortexen rázatjuk 5 percig, majd 100°C-os vízfürdőbe tesszük, újra vortexen rázatjuk majd 100°C-on 30 percig inkubáljuk. A metilálás 2 ml 6.00 M HCl:MeOH (1:0.85) hozzáadásával történik, amit 10 percig 85°C-os vízfürdő követ. Ezután adjunk hozzá 1.25 ml hexane: metil-tercier butil éter (1:1) arányú keverékét. A mintákat 5 percig forgassuk kémcsőforgató állványon, majd a vizes fázist távolítsuk el. A szerves fázist mossuk át 3 ml 0.3 M NaOH –al és keverjük enyhén 5 percig. Ezután a mintákat nitrogénáramban (99,99 %) beszárítjuk, hexánba felvesszük majd GC mintatároló üvegcsébe helyezük. Az analízist Hewlett-Packard 7890A készülékkel végeztük, HP Ultra 2 kapilláris colonnával (5% diphenyl-95% dimethyl-polysiloxane, 25 m × 0.2) és FID detektoron. A csúcsokat bakteriális zsírsav metil-észter standard (FAME 37, 24 bakteriális zsírsav Supelco) és könyvtár segítségével azonosítottuk.

### 3.2.5.2 Az baktériumok zsírsav összetételének statisztikai analízise

Az eredmények statisztikai értékelését többváltozós variancia analízissel (Tukey b-teszt), SPSS 14.0 (Windows 98) programcsomaggal, páros t-próbával (ANOVA) határoztuk meg. A Tukey-b teszt vizsgálja, hogy kettőnél több – meghatározott szempontból eltérő – sokaság valamilyen más tekintetben is különbözik-e egymástól. A szignifikáns különbségeket a, b, c, betűkkel jelöljük. A legkisebb érték “a” és az ettől szignifikánsan különböző, és nagyobb értékek “b”, illetve “c” (a “b” értéktől is nagyobb) jelölést kapnak. Az “ab” jelölés: az érték sem az “a”, sem a “b” értéktől nem különbözik szignifikánsan. A páros t-próba két meghatározott szempontból eltérő sokaság egymással való összehasonlítására szolgál.

### 3.2.6. A talajok fémtartalmának meghatározása

A talaj Cd, Cu, Fe, Pb és Zn tartalmát (ICP-OES) készülékkel mértük.

A talajmintákat 70°C-on tömeg állandóságig szárítottuk. 1 g talajt 10 cm<sup>3</sup> tömény salétromsavval elegyítettük és 12 órán keresztül állni hagytuk, Kjeldahl lombikban homokfürdőn roncsoltuk az összes NO<sub>2</sub> eltávozásáig. Kihűlés után 3 cm<sup>3</sup> tömény kénsavat adtunk hozzá, üvegszűrőn szűrtük, és desztillált vízzel 100 cm<sup>3</sup>-re töltöttük. A minták fémtartalmát ICP-OES készülékkel határoztuk meg.

#### 3.2.6.1 A talajminták nehézfém tartalmának statisztikai analízise

Az eredmények statisztikai értékelését többváltozós variancia analízissel (Tukey b-teszt), SPSS 14.0 (Windows 98) programcsomaggal, páros t-próbával (ANOVA) határoztuk meg.

A Tukey-b teszt vizsgálja, hogy kettőnél több – meghatározott szempontból eltérő – sokaság valamilyen más tekintetben is különbözik-e egymástól. A szignifikáns különbségeket a, b, c, betűkkel jelöljük. A legkisebb érték “a” és az ettől szignifikánsan különböző, és nagyobb értékek “b”, illetve “c” (a “b” értéktől is nagyobb) jelölést kapnak. Az “ab” jelölés: az érték sem az “a”, sem a “b” értéktől nem különbözik

szignifikánsan. A páros t-próba két meghatározott szempontból eltérő sokaság egymással való összehasonlítására szolgál.

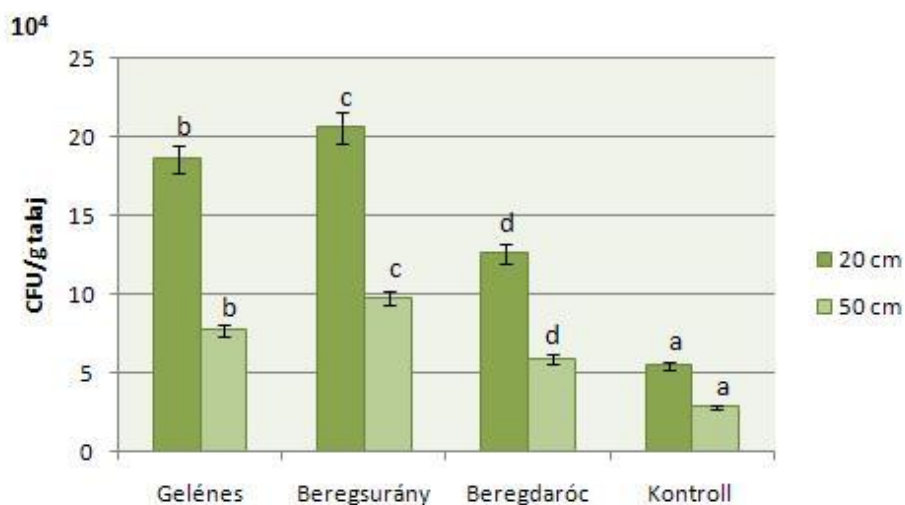
### **3.2.7. Korrelációs vizsgálatok a talajok enzim aktivitási értékei és nehézfém tartalma között**

A talajok enzim aktivitási értékei és nehézfém tartalma közötti összefüggés matematikai mennyiségi értékelése érdekében korrelációs vizsgálatot végeztünk. A változók összefüggését a Pearson-féle korrelációs együtthatóval mértük. Az együtthatót  $r$ -rel jelöljük, és a mérések közötti lineáris kapcsolat szorosságát méri. Ha az  $r$  értékének kisebb mint, 0,3 gyenge az összefüggés, 0,4-0,7 között közepes az összefüggés, 0,8 felett erős összefüggés.

## 4. Eredmények és értékelésük

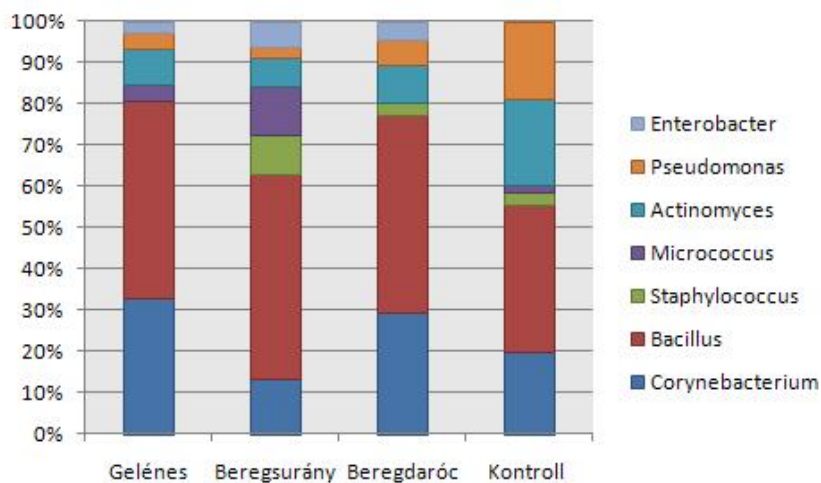
### 4.1. Mikroorganizmus vizsgálatok

A szemétkerakók talajában a mikroba populációk kis változatossággal és ezzel egyidőben az egyes mikrobák nagy számával jellemezhető. A szennyezett területek talajának összes mikroba száma (4. ábra) nagyobb a talaj felső rétegében (20 cm), mint a Kontroll területen ( $5,48 \times 10^4$ ). Legnagyobb értéket Beregsurány ( $20,61 \times 10^4$ ) területén mértünk ezt követi Gelénes ( $18,5 \times 10^4$ ), majd Beregdaróc ( $12,6 \times 10^4$ ). Különbség van a két talajmélység között is, a felső rétegben nagyobb az összes baktériumszám, mint az alsó rétegben (50 cm). A baktérium nemzetségek százalékos megoszlásában (5. ábra) eltérések vannak az egyes mintavételi helyeken. A mintákban a *Bacillus*, a *Staphylococcus*, a *Micrococcus*, az *Actinomyces*, a *Pseudomonas* nemzetségeket és a *Coryneform* baktériumokat találtuk meg nagy mennyiségben, illetve e nemzetségek arányában találtunk eltéréseket.



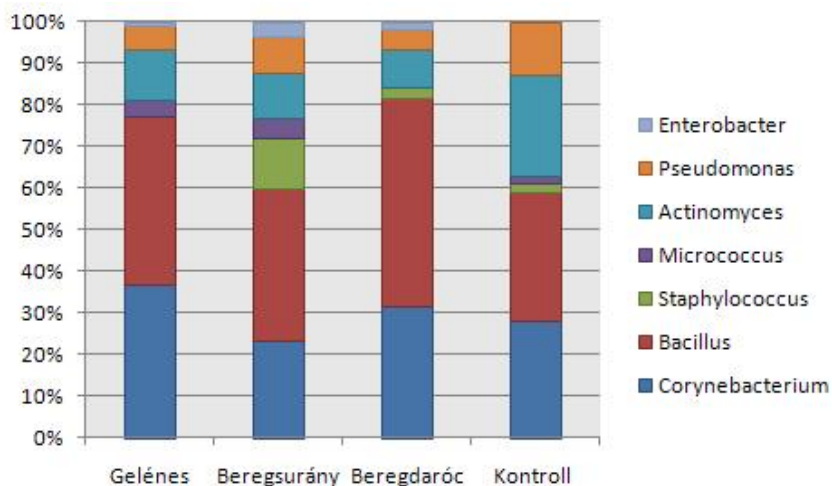
4. ábra. A talajok összes mikroorganizmus száma

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test ( $n=6$ ). Az azonos betűvel jelölt értékek az oszlopok fölött nem különböznek szignifikánsan egymástól. ( $p < 0.05$ ).



5. ábra. A baktérium genusok százalékos megoszlása 20 cm mélységből vett talajmintákban

A három hulladéklerakó talajában mindenütt előfordul az *Enterobacter* nemzetség. A legnagyobb mennyiségében Beregsurány területén ezt követi Beregdaróc, majd Gelénes. Az enterobaktériumok a talajban elsősorban a szerves háztartásihulladék-maradványokon szaporodnak fel.

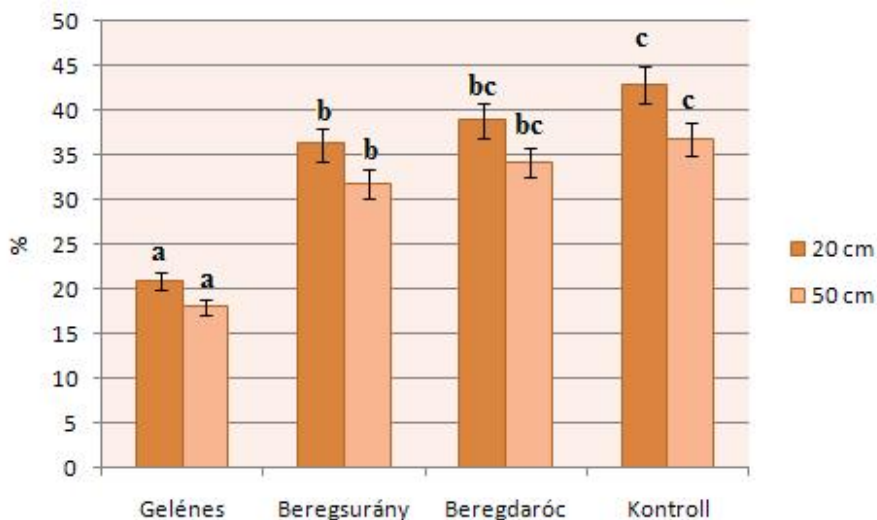


6. ábra. A baktérium genusok százalékos megoszlása 50 cm mélységből vett talajmintákból

## 4.2. Enzim aktivitások

### 4.2.1. Celluláz aktivitás

A mintavételi helyek talajainak celluláz aktivitása látható a 7. ábrán. A Kontroll terület celluláz aktivitása (42,9%) nagyobb, mint a hulladékot tartalmazó talajoké. A hulladéklerakók talajainak celluláz aktivitása nem tér el nagymértékben egymástól, kivételt képez a Gelénesi hulladéklerakó (20,9%) ahol kisebb a többi területhez képest. A Beregdaróci (38,9%) területén mért celluláz aktivitás megközelítette a Kontroll, területen mért celluláz aktivitást.

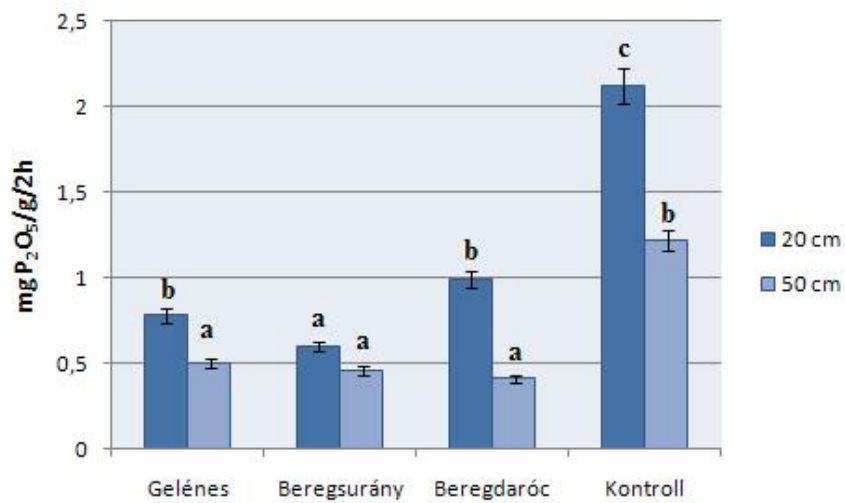


7. ábra. A talajok celluláz enzim aktivitási értékei két mélységben

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test ( $n=6$ ). Az azonos betűvel jelölt értékek az oszlopok fölött nem különböznek szignifikánsan egymástól. ( $p < 0.05$ ).

### 4.2.2. Foszfátáz aktivitás

A Kontroll területen ( $2,12 \text{ P}_2\text{O}_5/\text{g}/2\text{h}$ ) mért nagy foszfátáz aktivitási értéket (8. ábra) csak a Beregdaróci ( $0,98 \text{ P}_2\text{O}_5/\text{g}/2\text{h}$ ) hulladék lerakó talajának foszfátáz aktivitása közelítette meg. A Beregsurányi ( $0,06 \text{ P}_2\text{O}_5/\text{g}/2\text{h}$ ) és Gelénesi ( $0,78 \text{ P}_2\text{O}_5/\text{g}/2\text{h}$ ) területek talajában ezektől szignifikánsan kisebb értéket mértünk.

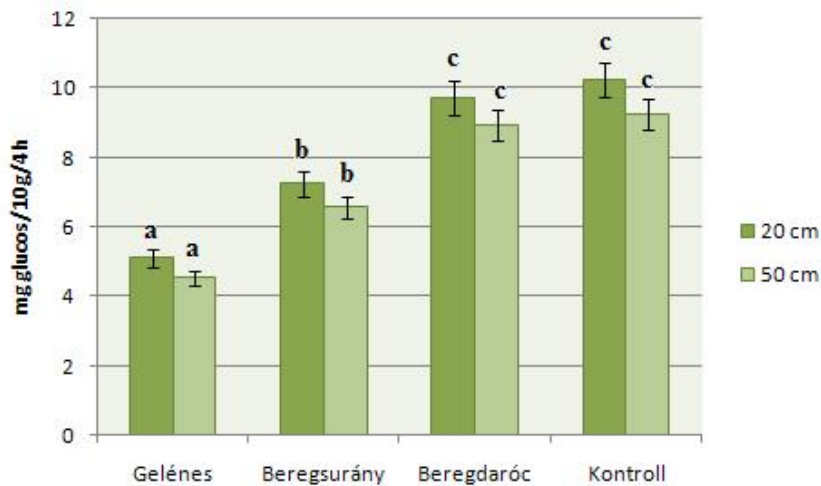


8. ábra. A talajok foszfatáz enzim aktivitási értékei két mélységben

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=6). Az azonos betűvel jelölt értékek az oszlopok fölött nem különböznek szignifikánsan egymástól. ( $p < 0.05$ ).

#### 4.2.3. Invertáz aktivitás

A Kontroll (10,24 mg glükóz/10g/4h) terület invertáz aktivitás értékei (9. ábra) szignifikánsan nagyobbak a hulladéklerakók talajainál, kivételt képez a Beregdaróci (9,73 mg glükóz/10g/4h) terület.



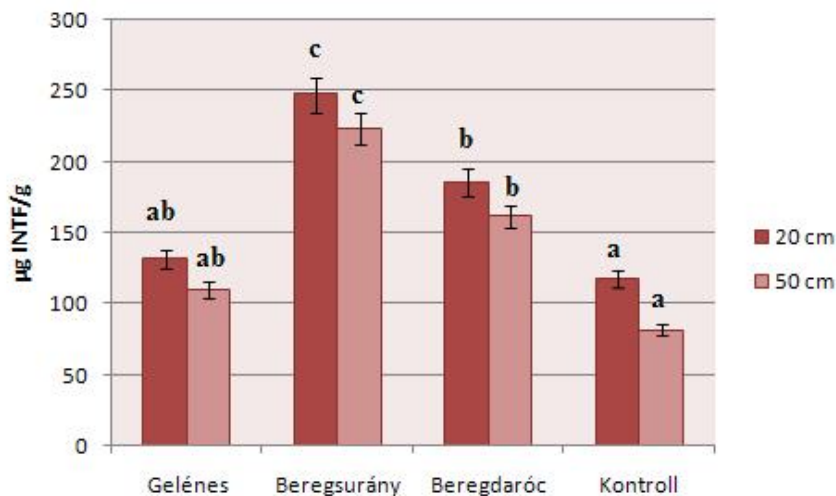
9. ábra. A talajok invertáz aktivitási értékei két mélységben

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=6). Az azonos betűvel jelölt értékek az oszlopok fölött nem különböznek szignifikánsan egymástól. ( $p < 0.05$ ).

A legkisebb invertáz aktivitást a Gelénesi (5,12 mg glükóz/10g/4h) hulladéklerakó területén mértük, ettől szignifikánsan nagyobb a Beregsurányi (7,25 mg glükóz/10g/4h) hulladék lerakó invertáz aktivitása.

#### 4.2.4. Dehidrogenáz aktivitás

A dehidrogenáz enzim aktivitása (10. ábra) jól tükrözi a talajok szervesanyag tartalmának különbségeit. Ennek megfelelően a dehidrogenáz enzim esetében jelentősek a különbségek a szennyezett területek és a Kontroll terület (117,5  $\mu\text{g INTF/g}$ ) enzim aktivitásában. A legnagyobb értéket a Beregsurányi (247,5  $\mu\text{g INTF/g}$ ) területen mértük. Ezen a hulladéklerakón nagy mennyiségű a háztartásokból származó könnyen felvehető szervesanyag tartalmú hulladék halmozódott fel. A legkisebb értéket Gelénes (131,5  $\mu\text{g INTF/g}$ ) területén mértünk, ahol jelentős a műanyag, és fém hulladék aránya és kevés gyorsan bomló szervesanyag található. A kettő közé eső értéket mértük Beregdarócon (185,5  $\mu\text{g INTF/g}$ ), amely terület átmenet a két szeméttelp között, kisebb területű, kevesebb szeméttel borított, nagy részét talajtakaró fedi.



10. ábra. A talajok dehidrogenáz aktivitási értékei két mélységben

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=6). Az azonos betűvel jelölt értékek az oszlopok fölött nem különböznek szignifikánsan egymástól. ( $p < 0.05$ ).

### 4.3. A talajok nehézfém tartalma

A talajok fémtartalmának meghatározása során (3. táblázat) az egyes fémek koncentrációjában jelentős eltéréseket mértünk. A talajokban a vas fordul elő a legnagyobb mennyiségben minden hulladéklerakón (Beregdaróc 913,2 mg/kg, Beregsurány 890,5 mg/kg, Gelénes 787,1 mg/kg), meghaladva a kontroll (616,8 mg/kg) terület talajának vas tartalmát. A kadmium mennyisége sokkal kevesebb, mint a vas. A kadmium szignifikánsan kevés a Kontroll (0,0 mg/kg) területen és a Gelénesi (0,2 mg/kg) hulladéklerakó talajában is, ellentétben a Beregsurányi (2,2 mg/kg) és Beregdaróci (1,8 mg/kg) hulladéklerakókkal. Az ólom hasonló tendenciát mutat, mint a vas és a kadmium. A hulladéklerakók (Beregsurány 22,1 mg/kg, Beregdaróc 13,7 mg/kg, Gelénes 7,18 mg/kg) talajában szignifikánsan több az ólom, mint a Kontroll (5,39 mg/kg) terület talajában a cink és a réz mennyiségei között kicsi az eltérés a hulladéklerakók és a Kontroll terület talaja között.

3. táblázat. A talajok fémtartalma és pH (H<sub>2</sub>O) értéke (n=6; p<0.05)

Mintavételi helyek	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Pb mg/kg	Cd mg/kg	Fe mg/kg	pH (H <sub>2</sub> O)
1. Gelénes	17,9±0,3b	34,8±0,3a	7,18±0,3a	0,2±0,2a	787,1±1,5ab	5.6
2. Beregsurány	17,2±0,3b	37,5±0,4b	22,1±0,2c	2,2±0,3b	890,5±2,6b	5.1
3. Beregdaróc	14,8±0,2a	33,2±0,2a	13,7±0,4b	1,8±0,2b	913,2±1,1b	6.3
4. Kontroll	19,5±0,3c	39,3±0,4b	5,39±0,5a	0±0a	616,8±3,5a	7.1

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=6). Az oszlopokon belül azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (p< 0.05).

### 4.4. Korrelációs vizsgálatok

A kapott eredmények közötti összefüggések matematikai értékelésére korrelációs vizsgálatot végeztünk a talaj felső 20 cm-ből vett talajminták enzimaktivitásának és nehézfém tartalmának mért eredményeiből. A korrelációs vizsgálatok alapján (4.táblázat) pozitív korreláció van a talaj celluláz és foszfatáz aktivitása között  $r = 0,74$  valamint a celluláz és invertáz aktivitás  $r = 0,26$  a foszfatáz és invertáz aktivitás  $r = 0,24$  között.

Negatív korrelációs mutatókkal jellemezhető a talajok dehidrogenáz aktivitása és a többi vizsgált enzimek közötti kapcsolat. Pozitív a korreláció a dehidrogenáz enzim aktivitása és az összes mikroba szám között.

**4. táblázat. Korreláció a talaj enzimek aktivitása és a talaj összes mikroba száma között.**

Korreláció	Celluláz aktivitás	Invertáz aktivitás	Foszfátáz aktivitás	Dehidrogenáz aktivitás	ÖMSZ
Celluláz aktivitás	1				-0,17
Invertáz aktivitás	0,26	1			-0,38
Foszfátáz aktivitás	0,74	0,24	1		0,02
Dehidrogenáz aktivitás	-0,04	-0,26	-0,15	1	0,72

Megjegyzés: ÖMSZ: összes mikroba szám.

A celluláz enzim (5. táblázat) negatív korrelációban van a Zn ( $r=-0,76$ ) és Cd ( $r=-0,53$ ) fémekkel. Az invertáz enzim aktivitására az Pb ( $r=-0,49$ ) és a Cd ( $r=-0,55$ ) nehézfémek fejtenek ki gátló hatást. A foszfátáz enzim a Cd –al van negatív korrelációban ( $r=-0,62$ ). A dehidrogenáz enzim aktivitása és a Cd esetében negatív korreláció ( $r=-0,73$ ) tapasztalható. A korrelációs vizsgálatok eredménye szerint pozitív a korreláció a talaj réztartalma és a celluláz enzim aktivitása ( $r=0,83$ ) illetve a foszfátáz enzim aktivitás ( $r=0,74$ ) között.

**5. táblázat. Korreláció a talaj fémtartalma és az enzim aktivitások között**

Korreláció	Celluláz aktivitás	Invertáz aktivitás	Foszfátáz aktivitás	Dehidrogenáz aktivitás
Cu	0,83	0,05	0,74	0,006
Pb	0,005	-0,49	-0,45	-0,08
Zn	-0,76	-0,33	-0,34	-0,15
Cd	-0,53	-0,55	-0,62	-0,73
Fe	0,34	-0,32	0,43	-0,21

#### **4.5. A mikroorganizmusok, enzim aktivitások és a korrelációs vizsgálatok értékelése**

A talajok fontos funkciója, hogy élőhelyet biztosít a növények, mikroorganizmusok és a talajban élő állatok számára. A talaj enzimek azáltal, hogy részt vesznek a tápanyagok körforgalmában, és felvehetővé teszik azokat a növények számára, felhasználhatóak a talajfunkciók leírására (Nannipieri et al., 1996). Nem csak a növények fejlődésében van fontos szerepük, hanem a talajok termékenységében is. A talaj biológiai tulajdonságait nagymértékben meghatározza a környezeti faktorok, és ezért jó indikátorai lehetnek a talajt érő ökológiai stressznek (Dick and Tabatabai 1992).

Az antropogén tevékenységek akarattal és akaratlanul is a szennyezőanyagok felhalmozódásával járnak a talajban, amelyek károsak a talaj élővilágára.

Az általunk tanulmányozott hulladéklerakókon változatos a szemét mennyiségi és minőségi összetétele. A hulladékból származó nagy szervesanyag tartalom és a nehézfémek jelentik a két fő szennyező forrást, azonban az arányokat illetően különbségek vannak a mintavételi helyek között. A két tényező együttes hatásával kell számolni a hulladéklerakók esetében. A nehézfémek a talajban toxikusak a mikrobák számára, a szerves szennyezők táplálékként való felhasználása, viszont lelassítja, vagy kivédi a káros hatásokat. Hasonló eredményről számol be Zhang et al. (2008) long term kísérletekben, 30 éve magas szervesanyag tartalmú de nehézfémekkel (Cd, Zn, Cu) szennyezett szennyvízzel öntözött mezőgazdasági talajok vizsgálata során. A talaj dehidrogenáz, celluláz aktivitása és a tenyészthető mikroorganizmusok száma nem csökkent szignifikánsan a nehézfém tartalom növekedésével. A talajban található nagy mennyiségű tápanyag, kivéve a foszfort, pozitívan befolyásolta a mikrobiális paramétereket, mivel ellensúlyozni tudta a nehézfémek toxikus hatást.

A hulladéklerakók talajaiban mért nagy összes mikroba szám kialakulásában több tényező is szerepet játszik. A mintavételi helyek talaj-mikroorganizmus közösségeinek összetételét a területek eredeti növény borítása meghatározza. A Kontroll terület erdővel borított, viszont a hulladéklerakók területére is jellemző a fás vegetáció. Beregdaróc felszámolt hulladéklerakó és felszínének nagy részét már visszahódította az erdő. A Beregsurányi és Gelénesi lerakók növényflórájában szintén megtalálhatóak a korábbi erdős vegetáció elemei. A hulladék szervesanyag tartalma a talajba jutva könnyen hasznosítható táplálékforrás a mikroorganizmusok számára. A talaj eredeti mikroflórájának mennyiségi és minőségi összetételét gazdagítják a szeméttel együtt kihordásra kerülő mikroorganizmusok. A Kontroll terület összes mikroba száma kisebb a hulladéklerakókhoz viszonyítva, ennek egyik oka a terület hulladékmentessége illetve az érintetlen erdő talajokra jellemző mikroflóra összetétel, amelyben inkább a gombák dominálnak a baktériumokhoz képest. Ezt a megállapítást igazoltuk a PLFA vizsgálatok során. Frostegård et al. (1993/a), szerintük az erdei talajok mikroorganizmus közösségeinek összetételére a gombák dominanciája jellemző, ez a humuszos erdő talajokban természetes úton lejátszódó folyamatok eredménye. A zavarás mentes területek talaj mikroba közösségeiben megfigyelhető a gombák biomasszájának dominanciája (Bardgett and McAlister, 1999).

A baktérium nemzetségek százalékos megoszlása a hulladék lerakók talajában Gram-pozitív túlsúlyt jelez. A vizsgálatokból megállapítottuk, hogy a szennyezések hatására az *Actinomyces* és *Pseudomonas* genusok

aránya csökkent, míg a hatékonyabb túlélőképességgel rendelkező *Bacillus* genus százalékos aránya növekedett. Ezzel ellentétes eredményre jutott Hinojosa et al. (2005) nehézfémekkel (Cd, Cu, Zn) szennyezett talajok vizsgálta során. Eredményeik alapján a Gram-negatív baktériumok mennyisége megnőtt a Gram-pozitív baktériumokhoz viszonyítva. Hasonló megállapítást tett Bååth et al. (1992) Finnországban vas és acélművekből származó lúgos hamuval szennyezett talajok elemzése során, illetve Dar (1996) Cd-al szennyezett szennyvíziszap hatását vizsgálva.

A celluláz enzim aktivitásában mért különbségek háttérében a szennyezés mellett a területek növényborítása áll. A Kontroll nagy aktivitási értékét a szeméthyány és a nagy mennyiségű avar adja. A hulladéklerakók területére is jellemző a fás növényzet, viszont ezeken, a helyeken a szemét borítás dominál. A beregdaróci használaton kívüli hulladék lerakó nagy része talajtakaróval fedett, növényzettel borított. Zhang et al. (2000) szintén nagy celluláz, kataláz, dehidrogenáz enzim aktivitásokat mért a magas szervesanyag tartalmú, növényzettel borított területeken. Bolgár kutatók szerint a különböző szerves trágyák (istállótrágya, fahulladék, komposzt) hatására növekedett a cellulózbontás aktivitása.

A foszfatázok aktivitása a komposzttal vagy zöldtrágyával kezelt területeken szignifikánsan nagyobb, mint a nem kezelt területeken (Pascual, 2002). A talaj foszfatáz aktivitására hatással van a növényborítottság, Mu (1997) a növényzettel fedett talajban magasabb aktivitást mért, mint a fedetlenben. A Kontroll területeken mért nagy aktivitási értékek betudható az itt található, dús elsősorban erdős makrovegetációnak. Ettől kisebb értéket mértünk a Beregdaróci területen, ahol a fás vegetáció újra kialakulóban van. Beregsurány és Gelénes területén a növényborítás mellett a szemét borítás dominál.

A mezőgazdasági gyakorlatban az invertáz enzimet a talaj termékenységének meghatározására használják. A nagy invertáz aktivitás értékek a felszíni növény flóra intenzív fejlődésével is magyarázhatók (Khan, 1970). Mu 1997 szerint a növénytakaró faji összetétele, fejlettségi állapota befolyásolja az invertáz enzim aktivitását. A Kontroll terület esetében tapasztalt magasabb aktivitási érték köszönhető az erdővel való borítottságnak. A Gelénes területén mért kisebb invertáz aktivitás azzal magyarázható, hogy tömörre vált a talaj az állandó nehézgépjármű forgalom, és a szemét kezelésére használt buldózerek miatt. Hiányoznak a talaj összetételéből könnyen felvehető, mobilizálható szervesanyagok, amelyek lehetővé teszik az invertáz enzim működését.

A dehidrogenáz aktivitás nincs korrelációban a talajok teljes szervesanyag tartalmával, és a talajok mikrobiológiai aktivitásával (Garcia et al., 1997). A talajok mikrobiológiai aktivitását a talajok lebontható szervesanyag tartalmával lehet összefüggésbe hozni, és mindkettő értékére utal a dehidrogenáz aktivitás. A Beregdaróc területén mért nagy aktivitás érték, köszönhető annak, hogy ez a hulladéklerakó már nem használt szemétklerakó. A területe földdel, növényekkel borított, a korábban itt elhelyezett hulladék mineralizációja megindult. Beregsurány területén illegálisan működő szemétklerakó estében a szervesanyagok már előrehaladott lebomlási állapotban vannak illetve eleve könnyen bonthatóak. A terület szervesanyag terhelését növeli az ide kihordott kommunális szennyvíz is. A dehidrogenáz enzim aktivitásának növekedését tapasztalta Reber (1992) és Dar (1995) szennyvíziszap adagolás hatására, ami egyezik mérési eredményeinkkel. Reddy and Fazza (1989) ezzel szemben a dehidrogenáz enzim aktivitásának csökkenését tapasztalta szennyvíziszappal kezelt talajokban. Carbonell et al. (2009) szerint a szennyvíziszap adagolása megnöveli a talajenzimek aktivitását, ami indirekt módon javítja a talaj mikrobiális funkcióját. A Gelénesi hulladéklerakó területén elsősorban műanyag hulladékot helyeznek el és kevés a könnyen bontható szervesanyag. Ennek következtében a szemétklerakó talajában mért dehidrogenáz aktivitás nem különbözik szignifikánsan a Kontroll területtől. Az itt mért aktivitási értékek, valószínűleg a talaj eredeti aktivitását tükrözik.

A nehézfémek, mint a talajok egyik fő szennyezői különböző forrásokból erednek: szennyvíziszap folyamatos kijuttatásából, kommunális hulladékból, állati tetemekből, kohók és fémolvasztók működésének következtében, a szervesetlen trágyák nehézfém szennyeződéséből, a fosszilis tüzelőanyagok elégetéséből kiszabadulnak a légkörbe, majd kiülepsznek a talajba és egyéb ipari tevékenységek következtében. A talajok jellemzőit, beleértve a biológiai tényezőket, alapvetően befolyásolják a nehézfémek. Az elmúlt években számos publikáció jelent meg a nehézfémek talajenzimekre kifejtett gátló hatásáról (Tyler, 1974; Stott et al., 1985; Fu and Tabatabai, 1989; Deng and Tabatabai, 1995; Marzadori et al., 1996; Xia, 1988; Liu, 1996; Huang and Shindo, 2000; Ekenler and Tabatabai, 2002). A kutatások nagy részében azt vizsgálták, hogy az egyes nehéz fémek hogyan hatnak a talaj enzimek aktivitására, de nehézfémek együttes hatásáról kevés publikáció született, holott ezek a kísérletek közelebb állnak a talajban lejátszódó természetes folyamatokhoz. A talajszennyező nehézfémek közül a kadmium és az ólom tartoznak a legtoxikusabbak közé, míg a cink toxicitása kisebb viszont

általában nagyobb koncentrációban található meg a talajban (Yang et al., 2006). A nehézfémek mellett a szennyező anyagok más csoportjai is hatással vannak a talaj enzimek működésére.

A vizsgált hulladék lerakók talajában az ólom és a kadmium mennyisége különbözött szignifikánsan a Kontroll terület talajához viszonyítva. A celluláz, invertáz és foszfatáz enzimek aktivitásában érvényesült a nehézfémek toxikus hatása, minden hulladék lerakó talajában szignifikánsan kisebb ezen enzimek aktivitása a Kontrollhoz viszonyítva. Negatív korrelációs mutatókkal jellemezhető a talajok dehidrogenáz aktivitása és a többi vizsgált enzimek közötti kapcsolat.

A nehézfémek és enzim aktivitások korrelációs vizsgálata alátámasztja ezt az eredményt. A celluláz enzim negatív korrelációban van a Zn ( $r=-0,76$ ) és Cd ( $r=-0,53$ ) fémekkel. Az invertáz enzim aktivitására az Pb ( $r=-0,49$ ) és a Cd ( $r=-0,55$ ) nehézfémek fejtenek ki gátló hatást. A foszfatáz enzim a Cd -al van negatív korrelációban ( $r=-0,62$ ). Hasonló eredményről számol be Dar (1996) a dehidrogenáz és foszfatáz enzimek esetében, Cd és szennyvíziszap együttes hatását vizsgálva. A nehézfémeknek a szacharáz aktivitására gyakorolt gátló hatását mutatta ki Maarit Niemi et al. 1998. Yang et al. (2006) a Cd, a Zn és az Pb kombinált hatását vizsgálta invertáz és foszfatáz talaj enzimek aktivitására. Eredményei szerint az Pb, a Cd-al ellentétben nem gátolta szignifikánsan a két enzimet. Az invertáz és foszfatáz enzimek aktivitása szignifikánsan csökkent a Cd koncentrációjának növekedésével a talajban.

Ezt alátámasztja Reber (1992) és Dar (1995) is, akik a baktériumok diverzitásának és szervesanyag lebontóképességének csökkenését mérték más nehézfémekkel szennyezett talajokban. Eredményeink alapján a dehidrogenáz enzim és a kadmium esetében mért negatív korreláció ( $r=-0,73$ ) nem érvényesül az enzim aktivitásában. Moreno et al. (2003) szerint a kadmium gátlólag hat a dehidrogenáz enzim aktivitására a talaj nagy szervesanyag tartalma mellett is. Eredményeink alapján az enzim aktivitása minden hulladéklerakón nagyobb, mint a Kontroll területen. A dehidrogenáz enzim aktivitása, összefügg a talaj aerob kemoorganotróf mikroorganizmusainak össz mennyiségével  $r = 0,72$ . Dar (1996) szerint a mikrobiális biomassza szignifikáns korrelációban van a dehidrogenáz ( $r=0,92$ ) és foszfatáz ( $r=0,82$ ) ( $p<0.05$ ) enzimek aktivitásával, szennyvíz iszappal kezelt talajokban. Pascual et al. (2007) véleménye alapján a dehidrogenáz enzim aktivitása függ a talaj mikroorganizmusok metabolikus aktivitásától, amit jól tükröz a dehidrogenáz enzim és a mikrobiális biomassza közötti pozitív korreláció ( $r= 0,77$ ;  $p<0.001$ ). Ez

magyarázza a nagy dehidrogenáz aktivitást a szemételepek talajában, a felvehető szervesanyag tartalom mellett, a kontroll terület dehidrogenáz aktivitásához képest.

A növények bomlása a talajban függ a talaj rézvegyület-tartalmától, sőt, minél nagyobb mennyisége, annál nagyobb a celluláz aktivitás. Ellenkező irányú összefüggés van a talaj celluláz aktivitása és a talaj cink tartalma között  $r = -0,76$ . Negatív korreláció mutatható ki a foszfatáz enzim és a talaj kadmium tartalma között  $r = -0,62$ , hasonló az összefüggés a kadmium és a dehidrogenáz enzim között  $r = -0,73$ . A glycopolimerek lebomlásának sebessége fordított arányosságban áll a talaj ólomvegyület-tartalmával  $r = -0,49$ . A foszfatáz aktivitás, akár csak a celluláz aktivitás, egyenes arányosságban van a talaj réztartalmával. A nehézfémek hatását a talaj enzimek aktivitására többen vizsgálták. Nehézfémekkel szennyezett talajok vizsgálata során Lee et al. (2002) megállapította, hogy a talaj összes nehézfém koncentrációja negatívan korrelál a dehidrogenáz és a foszfatáz enzimek aktivitásával. A Cd, a Zn és az Pb kombinált adagolása gátolta a talaj, invertáz és foszfatáz aktivitását. Hinojosa et al. (2004a, 2004b) nehézfémekkel szennyezett és remediált területek enzim aktivitását vizsgálta. A nehézfémek csökkentették a dekompozíciós folyamatok aktivitását, azáltal hogy csökkentették a szervesanyag lebontásban résztvevő enzimek (foszfatáz, aryl-szulfatáz,  $\beta$ -glukozidáz, ureáz és dehidrogenáz) aktivitását. A remediált terület enzim aktivitásai magasabbak a nehéz fémekkel szennyezett területnél, és mindkettő enzim aktivitásai alacsonyabb (1,5 illetve 3), a kontroll területen mért értékeknél.

#### 4.6. PLFA analízis

Az egyes mikroorganizmus csoportokhoz tartozó zsírsav metil-észterek biomarkerként használhatóak a mikrobiális közösségek összetételének leírásához. A zsírsavak relatív mennyiségét mol%-ban adtuk meg (6. táblázat).

A Gram-pozitív baktériumokat jelölő zsírsav biomarkerek relatív mennyisége a legnagyobb a Beregsurányi (79,35%) és a Gelénesi mintákban (76,13%), melyek értéke nem tér el szignifikánsan egymástól. A Beregsurányi (58,35%) minta értéke ezektől szignifikánsan kisebb és végül ezt követi a Kontroll terület (44,73%), amely szignifikánsan kisebb a szemételepek talajában mértektől.

**6. táblázat. A zsírsav biomarkerek százalékos megoszlása a mintavételi helyek talajában**

Mintavételi helyek	Gram-pozitív biomarker zsírsavak (mol%)		Gram-negatív biomarker zsírsavak (mol%)		Actinomycetes biomarker zsírsavak (mol%)		Gomba biomarker zsírsav (mol%)	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
Gelénes	76,13c	0,02	6,36a	0,02	3,25a	0,02	1,70a	0,01
Beregsurány	79,35c	0,02	4,25a	0,02	2,05a	0,01	1,54a	0,03
Beregdaróc	58,35b	0,01	14,21b	0,00	4,25a	0,01	1,99a	0,01
Kontroll	44,73a	0,01	21,35c	0,02	9,12b	0,01	4,61b	0,02

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=6). Az oszlopokon belül azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. ( $p < 0.05$ ).

A Gram-negatív baktériumokat jelölő zsírsav metil-észterek relatív mennyisége esetén fordított tendencia figyelhető meg. A legnagyobb a Kontroll terület (21,35%) értéke, ami szignifikánsan nagyobb a szeméttelpek talajában mért értékeknél. A Beregsurányi (4,25%) és Gelénesi (6,36%) minták, hasonlóan a Gram-pozitív baktériumokhoz, nem térnek el egymástól szignifikánsan, értékük a legkisebb a minták közül. A Beregsurányi (14,21%) minta a két előző csoporttól szignifikánsan különbözik, értéke a Kontroll területtől kisebb. Az *Actinomycetes* családot jelölő biomarker zsírsavak relatív mennyisége a szeméttelpekről származó minták esetén nem tér el szignifikánsan egymástól. Beregsurány (4,25%), Beregsurány (2,05%), Gelénes (3,25%), míg tőlük szignifikánsan nagyobb a Kontroll terület értéke (9,12%). A gombák esetében hasonló a tendencia a legnagyobb a Kontroll terület (4,61%) értéke, ezt követi a három szeméttelpről származó minta, amelyek nem térnek el szignifikánsan egymástól.

A baktériumokat jelölő zsírsav biomarkerek és a gomba biomarker segítségével megadható a gomba/baktérium arány (7. táblázat). Az arány szignifikánsan legnagyobb a Kontroll (0,0699) területen. A szeméttelpek talajára jellemző értékek (Beregdaróc 0,0270, Beregsurány 0,0184, Gelénes 0,0209) nem különböznek szignifikánsan egymástól, szignifikánsan kisebbek viszont a Kontroll területtől.

**7. táblázat. A gomba/baktérium arány és a zsírsavak 16:1 $\omega$ 7, 18:1 $\omega$ 7 transz/cisz izomereinek aránya a mintavételi helyek talajában**

Mintavételi helyek	Gomba/baktérium arány	transz/cisz arány 16:1 $\omega$ 7	transz/cisz arány 18:1 $\omega$ 7
Gelénes	0,0209a	2,5601b	1,1254b
Beregsurány	0,0184a	2,4323b	1,1114b
Beregdaróc	0,0270a	1,9235a	1,1044b
Kontroll	0,0699b	1,6449a	0,5886a

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=6). Az oszlopokon belül azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. ( $p < 0.05$ ).

A mikroorganizmusok membránjában a *transz/cisz* izomerek arányának megváltozása jó indikátora, a környezeti stresszhatásoknak. A 16:1 $\omega$ 7 és 18:1 $\omega$ 7 zsírsavak *transz/cisz* izomereinek aránya látható a 7. táblázatban a hulladéklerakók és a Kontroll terület talajában. A 16:1 $\omega$ 7 esetén a Gelénesi (2,5601) és Beregsurányi (2,4323) mintavételi helyek talajában szignifikánsan nagyobb *transz/cisz* izomer arányjellemző, a Beregsurányi (1,9235) és a Kontroll (1,6449) területhez viszonyítva. A 18:1 $\omega$ 7 zsírsav *transz/cisz* izomer aránya a hulladéklerakók (Beregsurány 1,1114; Gelénes 1,1254) talajában szignifikánsan nagyobb a Kontroll (0,5886) területéhez képest.

#### 4.6.1. A főkomponens (PCA) analízis eredménye

A PCA előnye, hogy a nagyszámú változót kevesebb ún. főkomponensváltozóval (PC) helyettesítjük. Azokat a főkomponenseket, melyek kis variancia-hányadot foglalnak magukban (sajátérték <1) figyelmen kívül hagytuk. A varimax rotáció megkönnyíti az eredmények értékelését, mert a főkomponens tengelyek egy-egy zsírsavcsoportnak feleltethetők meg (faktorok). Az egy csoportba került zsírsavak koncentrációi egymással pozitívan (esetleg negatívan) korrelálnak.

Az analízisben 18 változót használtunk: i-15:0, a-15:0, 15:0, i-16:0, i-17:0, a-17:0, i-16:1, 16:1 $\omega$ 7t, 16:1 $\omega$ 7c, 17:0, cy17:0, 18:1 $\omega$ 7c, 18:1 $\omega$ 7t, cy19:0, 18:2 $\omega$ 6, 10Me16, 10Me17, 10Me18. A sajátértékek alapján kiemelt főkomponensek teljes varianciája nagynak bizonyult (PCA1 60,686%; PCA2 19,091%; PCA3 14,074%). Az első 3 főkomponens kumulatív variancia értéke 93,851% (8. táblázat).

A zsírsavak (9. táblázat) közül i-15:0, i-16:1, 18:1 $\omega$ 7c, i-17:0, a-15:0, 16:1 $\omega$ 7c, 15:0, a-17:0, 16:1 $\omega$ 7t egymással korrelálva az első főkomponensbe fűződtek, a cy17, 10Me18, 18:1 $\omega$ 7t, 10Me16, 10Me17 zsírsavak a második főkomponensbe, a cy19, 17:0, i-16:0 zsírsavak a harmadik főkomponensbe kerültek nagy súllyal.

8. táblázat. A sajátértékek és a teljes variancia alakulása az első három (>1.0) főkomponensre nézve.

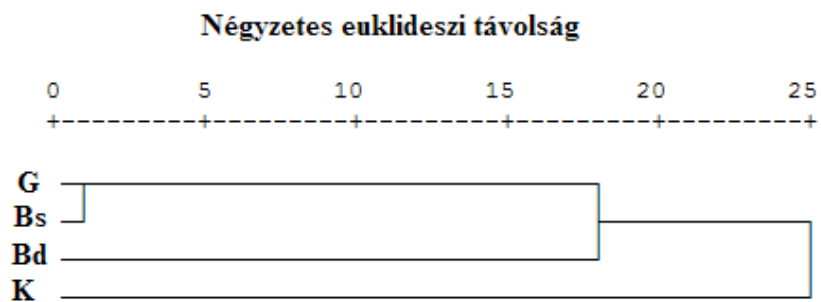
Főkomponens	Sajátérték	Teljes variancia-%	Kumulativitás-%
1. (PCA1)	10,927	60,686	60,686
2. (PCA2)	3,436	19,091	79,777
3. (PCA3)	2,533	14,074	93,851

9. táblázat. A főkomponensek mátrixa

Zsírsavak	PCA1	PCA2	PCA3
i-15:0	0,973	-0,105	-0,005
i-16:1	0,973	0,158	-0,011
18:1 $\omega$ 7c	-0,920	0,320	-0,195
i-17:0	0,896	-0,429	0,087
a-15:0	0,856	-0,462	0,175
16:1 $\omega$ 7c	-0,838	0,528	-0,054
15:0	0,740	-0,383	0,507
a-17:0	0,710	-0,383	0,550
16:1 $\omega$ 7t	-0,709	0,561	0,375
cy17	-0,215	0,968	-0,055
10Me18	0,194	-0,964	-0,137
18:1 $\omega$ 7t	-0,391	0,856	-0,323
10Me16	-0,507	0,783	0,332
10Me17	-0,107	0,760	-0,621
18:2 $\omega$ 6	-0,187	-0,381	-0,874
i-16:0	0,245	-0,497	0,818
17:0	0,533	0,406	0,671
cy19	-0,087	-0,089	0,637

#### 4.6.2. Klaszter analízis

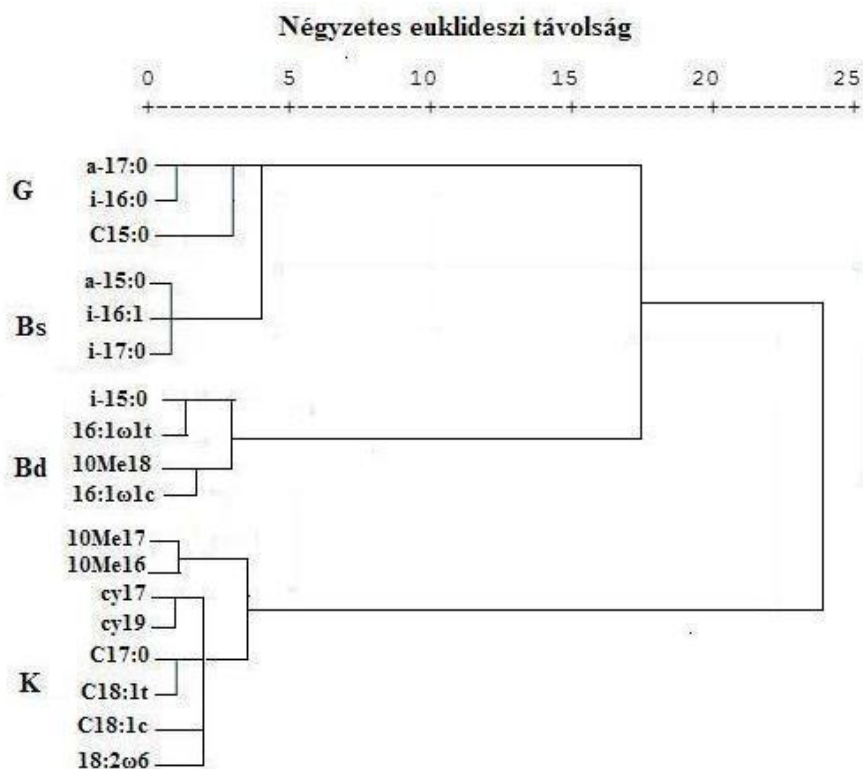
A főkomponens értékek átlagának klaszter analízisével csoportokba soroltuk a négy különböző mintavételi helyről származó eredményeket (11. ábra), a mintavételi helyek hasonlósági viszonyainak feltárása érdekében.



11. ábra. A mintavételi helyek csoportosítása a főkomponens értékek átlagának klaszter analízisével

Az összehasonlítás alapja a PLFA analízis eredményeként kapott mikrobiális közösség-összetétel. A dendrogram alapján megállapítható, hogy a legnagyobb hasonlóság a Beregsurányi és a Gelénesi minta között van, tőlük különbözik a Beregdaróci minta és mind a három szeméttel, nagymértékben különbözik a kontroll területtől.

Az egyes mintavételi helyekre jellemző zsírsavak meghatározásához elvégeztük a főkomponens súlyok klaszter analízisét. A Kontroll területre (12. ábra) a Gram-negatív baktériumok biomarker zsírsavai cy17:0, cy19:0, C17:0, C18:1 $\omega$ 7c, C18:1 $\omega$ 7t mellett az *Actynomyceteseket* jelölő két zsírsav biomarker 10Me17 és 10Me16 és a gomba biomarker 18:2 $\omega$ 6 jellemző. A harmadik *Actynomycetes* biomarker zsírsav 10Me18, a Beregdaróci mintavételi helyre jellemző, a Gram-negatív baktériumokat jelölő 16:1 $\omega$ 7t és 16:1 $\omega$ 7c és Gram-pozítivakra jellemző i-15:0 zsírsavak mellett. A Gram-pozitív baktériumok biomarker zsírsavai a Gelénesi és Beregsurányi mintavételi helyek között oszlanak meg. Az a-17:0, i-16:0 és C15:0 zsírsavak a Gelénesi, az a-15:0, i-16:1 és i-17:0 zsírsavak a Beregsurányi mintavételi helyre jellemzőek leginkább.



12. ábra. A zsírsavak csoportosítása a főkomponens súlyok klaszter analízisével

#### 4.7. A PLFA eredmények értékelése

A talaj mikrobiológiai állapota fontos szerepet játszik a fenntartható mezőgazdasági földhasználatban, felhasználható egy korai változást jelző szignálként a talaj ökológiai állapotának jelzésére. Az első életközösségi szintű foszfolipid analízist King és munkatársai végezték 1977-ben. Azóta számos kutató alkalmazta és alkalmazza a talaj mikrobiális biomasszájának becslésére, valamint a mikrobióta struktúrájának meghatározásához a PLFA analízist, például mezőgazdasági talajhasználat, talajszennyezés hatásának vizsgálatára, ökotoxikológiai tesztekhez, jelölt szubsztrátok beépülésének vizsgálatára.

A hulladéklerakók hatását a talaj mikroorganizmus közösségeire PLFA módszer segítségével is vizsgáltuk. Szignifikáns különbség látható a szennyezett területeken (Beregsurány 79,3526%, Gelénes 76,1302%, Beregdaróc 58,3526%) és a Kontroll területen (44,7352%) a Gram-pozitív baktériumokat jelölő biomarker zsírsavak százalékos arányában. A Gram-negatív baktériumok mennyisége a Kontroll (21,3526%) területen a legnagyobb, míg a hulladék lerakók talajában ettől kisebb értékeket mértünk (Beregdaróc 14,2145%, Beregsurány 4,2516%, Gelénes 6,3627%). A PLFA vizsgálat eredményei összhangban állnak a hagyományos, tenyésztéses módszerrel kapott eredményekkel. A szeméttelések talajára a Gram-pozitív baktériumok jellemzőek, ezen belül is a hatékonyabb túlélő képességgel rendelkező *Bacillus* genus dominál. Hinojosa et al. (2005) viszont nehézfémekkel szennyezett talajokban a Gram-pozitív baktériumokra jellemző izo- és anteizo-elágazást tartalmazó zsírsavak arányának csökkenését mérte a szennyezés növekedésével. Ezzel szemben a Gram-negatív baktériumokat jelölő 17:0cy zsírsav metil észter mennyisége növekedett a fémszennyezés hatására. Dar (1996) Cd-al szennyezett talajokban a Gram-negatív baktériumok számának növekedését tapasztalta.

A gombákra jellemző általános biomarker (18:2ω6c) százalékos arányával megadható a gombák mennyisége a talajban. A hulladéklerakók talajában (Beregdaróc 1,9933, Beregsurány 1,5481, Gelénes 1,7017%) szignifikánsan csökkent a gombák mennyisége a Kontrollhoz (4,6113%) viszonyítva.

A szennyezés különböző fokozatai közötti különbségek jellemzésére jobban használható a gomba/baktérium biomassza aránya, mint a populációk relatív nagysága. A gomba és baktérium biomarkerek segítségével számolható a gomba/baktérium arány. Az arány értéke a legnagyobb a Kontroll területen 0,0699, míg a szennyezett területek

talajában ettől kisebb értékek tapasztalhatóak (Bregdaróc 0,0270, Beregsurány 0,0184, Gelénes 0,0209). A gombák számának csökkenése a hulladék lerakók talajában a zavarás intenzitás növekedésének köszönhető. A területeken jelentős a gépjármű forgalom és a talaj mozgása, ami kedvezőtlen hatással van a gomba-mycéliumok fejlődésére. A zavarás mentes területek talajmikroba közösségeiben megfigyelhető a gombák biomasszájának dominanciája (Bardgett and McAlister, 1999). A zavarás különösen hátrányos a gomba populációk számára. Számos tanulmány beszámol róla, hogy a fizikai zavarás a baktériumok dominanciájához vezet a talajban (Beare et al., 1992; Stahl et al., 1988; Shutter and Fuhrmann 2001). A talajok nehézfém tartalmára is érzékenyebben reagálnak a gombák. Hinojosa et al. (2005) nehézfémekkel szennyezett talajokban a gomba biomarker (18:2 $\omega$ 6), zsírsav arányának csökkenését mérte a szennyezés növekedésével és ebből következően nagyobb gomba/baktérium arányt számolt a szennyezetlen és remediált területeken a szennyezethez képest. Khan and Scullion, (2000) viszont különböző agyag- és szervesanyag tartalmú talajokban szennyvíziszap-kezelés hatására a kontrollhoz képest nagyobb gomba/baktérium arányt mért. Más szerzők szerint a nehézfém szennyezés hatása a talaj mikrobiális közösségre, talajtípustól függ. Frostegård et al. (1993/a) két kísérletileg nehézfémekkel szennyezett (Cd, Cu, Ni, Pb és Zn) talajtípust (erdő talaj, művelt terület) vizsgált. Eredményeik alapján a bakteriális eredetű 15:0 és 17:0 zsírsavak mennyisége növekedett az összes fém esetében a szántóföldi talajoknál, míg az erdő talaj esetében a mennyiségük nem változott. A túlnyomórészt gombákból származó 18:2 $\omega$ 6 zsírsav mennyisége növekedett a szántóföldi talaj esetében, kivéve a Cu-el kezelt talajban, amelyben csökkent.

Az *Actinomyces* családra jellemző biomarker zsírsavak százalékos mennyisége a Kontroll területen volt a legnagyobb (9,1203%). A hulladéklerakók talajában (Bregdaróc 4,2516%, Beregsurány 2,0516%, Gelénes 3,2536%) ez a biomarker zsírsav csoport szignifikánsan kisebb mennyiségben található meg.

Lechevalier (1977) a metil oldalláncot tartalmazó zsírsavak (elsősorban *Actinomyces* család tagjaira jellemző) mennyiségének csökkenését mérte a Cd, Cu és Zn szennyezés hatására a szennyezés mértékének növekedésével. Frostegård et al., (1993/a) a 10Me16:0, 10Me17:0 és 10Me18:0 zsírsavak mennyiségének növekedését tapasztalta nehézfémekkel szennyezett erdőtalajokban, ezzel szemben szántóföldi talajokban ennek ellenkezőjét mutatta ki. Más irodalmi adatok szerint az *Actinomyces* család tagjai különböző módon reagálnak a talaj nehézfém-

tartalmának növekedésére (Williams et al., 1977; Hiroki, 1992). Az *Actinomyces* család morfológiai sajátossága az elágazó hosszú láncokba való rendeződés révén, nagyobb felületen tudnak érintkezni a nehézfémekkel a talajban így érzékenyebben reagálnak a talajt érő szennyeződésekre, de ez függ természetesen a talaj típusától és a szennyezés tulajdonságaitól.

A megnövekedett *transz/cisz* izomer arány a 16:1 $\omega$ 7 és 18:1 $\omega$ 7 zsírsavaknál, amelyek számos baktériumban megtalálhatóak, környezeti stresszt jeleznek (Guckert et al., 1986; Guckert et al., 1991). Az általunk vizsgált hulladéklerakók talajában a 16:1 $\omega$ 7 (Beregsurány 2,4323; Beregsurány 1,9235; Gelénes 2,5601) és 18:1 $\omega$ 7 (Beregsurány 1,114; Beregsurány 1,1044; Gelénes 1,1254) zsírsavak esetében megnőtt a *transz/cisz* izomerizációs arány a Kontroll (16:1 $\omega$ 7 1,6449; 18:1 $\omega$ 7 0,5886) területhez képest. Eredményeinkkel ellentétben a *transz/cisz* izomer arányának csökkenését mérte nehézfémrel szennyezett területen (0,10) a kontroll területhez képest (0,16) Persson et al. (1989). Alacsonyabb *transz/cisz* izomer arány (16:1 $\omega$ 7) volt mérhető a meszezett talajokban (0,07) a meszezetlen talajokhoz képest (0,12) (Frosteárd et al., 1993/b).

A klaszter analízis eredménye alapján a hulladéklerakók talaj mikrobiális közösségei hasonlóságot mutatnak egymással és különböznek a Kontroll területtől. A leghasonlóbb egymáshoz a Gelénesi és a Beregsurányi hulladéklerakók, tőlük különbözik és egyben átmenetet képez a Kontroll terület felé a Beregsurányi terület. A főkomponens analízis eredménye szerint a Gelénesi és Beregsurányi területen dominálnak a Gram-pozitív baktériumok. A Kontroll területre a Gram-negatív baktériumok és az *Actinomyces*ek jellemzőek. A Beregsurányi hulladéklerakó területére jellemzőek a Gram-pozitív, Gram-negatív baktériumok és az *Actinomyces*ek is.

A hulladék lerakók talajában megváltozik a mikrobiális közösségek összetétele. A változás nemcsak mennyiségi, hanem érinti a szennyezetlen területekre jellemző a talaj mélységével összefüggő természetes diverzitást is. Fierer et al. (2003) a mikroorganizmusok eloszlását vizsgálta a talajmélység növekedésével. A Gram-negatív baktériumok, a gombák és a protozoák a mennyisége a talaj felszínén a legnagyobb, míg a Gram-pozitív baktériumok és az *Actinomyces*ek mennyisége arányosan nő a mélység növekedésével. A mélyebb talajrétegek mikrobái jobban függnek a szén mennyiségétől, mint a felszíni mikroorganizmusok.

A hulladék lerakók talajának felszíni rétege sérül. A területekre jellemző járműforgalom következtében tömörödik a talaj felső rétege. A hulladék rétegződése a talaj közvetlen felszínén megváltoztatja a

hőmérsékleti, nedvességi, oxigén ellátottsági viszonyokat. Ugyanakkor a hulladékból nagy mennyiségű könnyen felhasználható szervesanyag jut be a talajba, ami szén és más tápanyagforrást jelent a mikroorganizmusok számára. Ennek következtében visszaszorulnak a felszíni talajrétegre jellemző mikroorganizmusok, Gram-negatív baktériumok és gombák és teret nyernek a kedvezőtlenebb körülményekhez alkalmazkodni tudó, hatékonyabb túlélő képességgel rendelkező Gram-pozitív baktériumok, a hulladéklerakók esetében a *Bacillus* nemzetség tagjai.

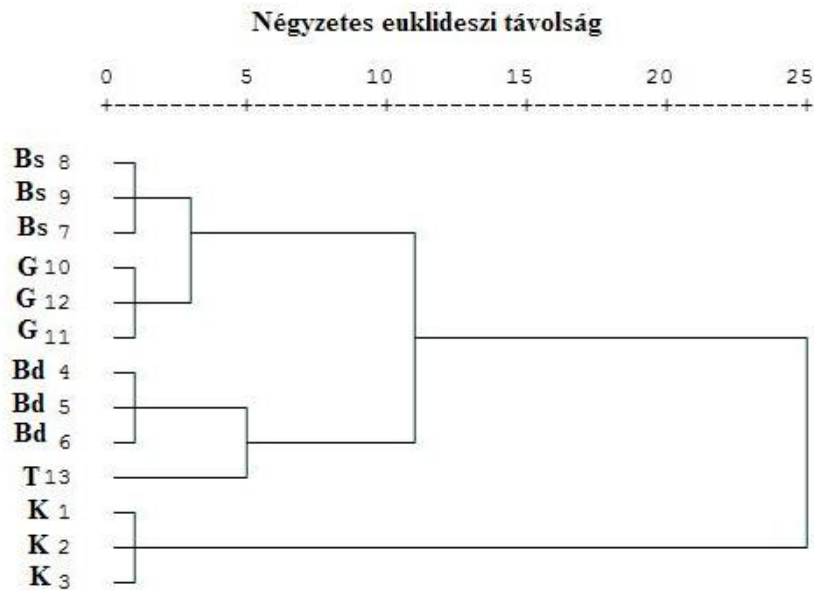
#### 4.8. Az izolált baktérium törzsek zsírsav profilja

A vizsgálati helyek talajából és a talajban élő növények felszínéről izolált törzsek közül hét *Bacillus* genusba tartozó fajt vizsgáltunk: *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus firmus*, *Bacillus licheniformis*. A különböző mintavételi helyek talajából és levélfelszínéről származó azonos fajba tartozó baktérium törzseket, és törzstenyészetből származó törzsek zsírsav profilját hasonlítottuk össze, klaszter analízissel, segítségével. A klaszterfákat a 10-es szintnél elvága elemeztük.

A szeméttelpek talajából izolált *Bacillus brevis* törzsek zsírsav profiljának klaszter analízissel (13. ábra) történő összehasonlítása során az azonos mintavételi helyek talajából származó törzsek kerültek azonos hasonlósági csoportba. A Beregsurányi és Gelénesi mintavételi helyek hasonlítanak egymáshoz a legjobban a törzsek zsírsav profilja alapján. Velük távolabbi rokonságot mutat a Beregsurányi mintavételi hely, míg a Kontroll mindháromtól különbözik. A törzstenyészetből származó *B. brevis* törzs a Beregsurányi mintavételi hely törzseivel áll kapcsolatban.

A különböző mintavételi helyekről származó *Bacillus brevis* törzsekben (1. sz. melléklet) nem találhatóak meg a következő zsírsav metil-észterek: C6:0, C8:0, C10:0, C11:0, C13:0, C21:0, C20:4n6, C21:0, C22:6n3, C22:2, C22:1n9, C22:0, C23:0, C24:1, C24:0. A C15:1, C17:1, C18:2n6t, C20:3n6, C20:2, C20:1 zsírsav metil-észterek csak a kontroll területéről származó mintákban találhatóak. A C14:1 (0,6460%) FAME a kontroll területen szignifikánsan nagyobb százalékos mennyiségben található, meg mint a Gelénesi (0,1111%) mintában, míg a másik két mintavételi helyen nincs. A C18:1(9)c FAME százalékos mennyisége a Beregsurányi (2,7424%) területen kétszer annyi, mint a Kontroll (1,2987%) minta esetében. A 2-OH 10:0 és a C18:1(9)t FAME nincs a Kontroll területen, ellentétben a többi mintavételi helyhez képest. A 2-OH 12:0 FAME csak a Beregsurányi és Gelénesi mintákban van. Az i-15:0 FAME

százalékos mennyisége a Beregsurányi (5,5771%) és Gelénesi (3,4496%) mintákban szignifikánsan nagyobb a Kontroll (0,8874%) területről izolált mikrobákban, viszont a a-15:0 izomernél fordított tendencia figyelhető meg.

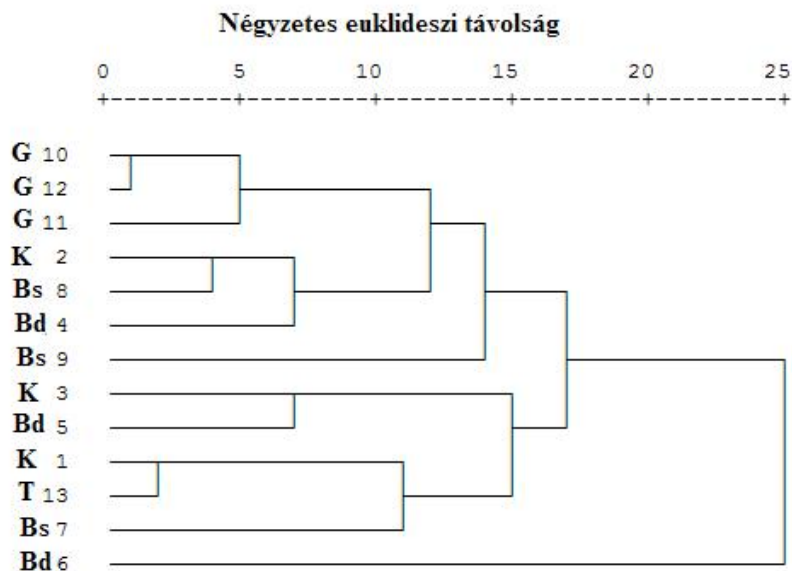


**13. ábra. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus brevis* törzsek zsírsav profiljának klaszter analízise**

A Kontroll (2,5882%) területen mért százalékos mennyiség szignifikánsan nagyobb a többi mintavételi helyhez (Bregdaróc 0,4906%; Beregsurány 0,2869%; Gelénes 1,1574%) képest. A C16:1 FAME szignifikánsan eltér az összes mintavételi helyen egymástól (Kontroll 5,7406%; Bregdaróc 13,0220%; Beregsurány 0,4614%; Gelénes 3,2292%). A C18:2(9,12) százalékos mennyisége szignifikánsan nagyobb a szennyezett területekről (Bregdaróc 14,8211%; Beregsurány 20,2551%; Gelénes 20,3264%) származó mintákban, mint a Kontroll területen (3,7506%).

A levelek felszínéről izolált *Bacillus pumilus* törzsek csoportokba rendeződése (14. ábra) nem ilyen egyértelmű. A Gelénesről származó minták elkülönülnek a többi mintától. A Kontroll 2, Beregsurány 8 és Bregdaróc 4-es minta hasonlóságot mutat egymással. Ugyan ez elmondható a Kontroll 3 és Bregdaróc 5 mintákról, bár a hasonlóság terén

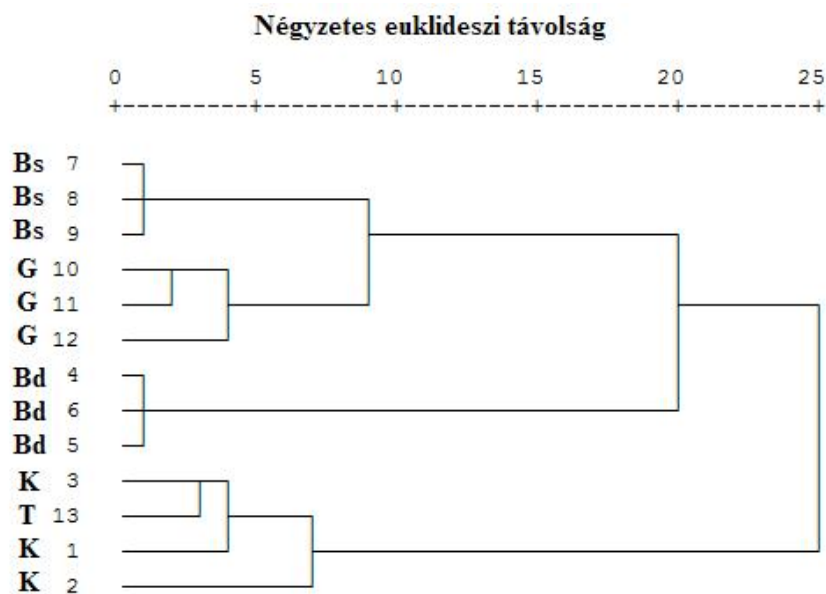
nagyobb, az eltérés. A törzstenyészetből származó minta hasonlósága a Kontroll 1-hez a legnagyobb.



14. ábra. A különböző mintavételi helyek levélfelszínéről származó *Bacillus pumilus* törzsek zsírsav profiljának klaszter analízise

A különböző mintavételi helyek levélfelszíni *Bacillus pumilus* törzseiben (2. sz. melléklet) nem találhatóak meg C6:0, C8:0 zsírsav metil-észterek. A C14:0 FAME a Kontroll (0,9701%) és Beregdaróci területen (0,9712%) szignifikánsan kisebb százalékos mennyiségben található, meg mint a másik két mintavételi helyen (Beregsurány 3,8361%; Gelénes 2,3604%). Az a-15:0 FAME a Kontroll (0,9132%) és Beregdaróci (0,4126%) mintákban szignifikánsan kisebb, mint Beregsurányi (4,2678%) és Gelénesi (5,4285%) mintákban. A 13-OH 10:0 FAME mennyisége a Beregdaróci (16,6480%) és Kontroll (16,3604%) mintában háromszorosa a másik két mintához (Beregsurány 6,4943%; Gelénes 5,8936%) viszonyítva. A C16:1 és C17:1 zsírsav metil-észterek mennyisége szignifikánsan nagyobb a Gelénesi (15,3097 és 3,4547%) mintavételi helyen a többi mintavételi helyhez (Kontroll 6,4968% és 1,5987%; Beregdaróc 4,7248% és 0,4175%; Beregsurány 8,3776% és 1,6405%) képest. A C20:4n6 és a C23:0 zsírsav metil-észterek csak a Beregdaróci és Kontroll mintákban vannak.

A talajból származó *Bacillus pumilus* törzsek esetén a mintavételi helyek szerinti csoportosulás egyértelműbb (15. ábra), mint a levelek esetén. A Gelénesi és a Beregsurányi mintavételi helyek hasonlósága a legnagyobb. Tőlük különbözik a Beregdaróci mintavételi hely, a Kontroll nem mutat hasonlóságot egyik mintavételi hellyel sem. A törzstenyészetből származó törzs a Kontroll terület mintáival került azonos csoportba.

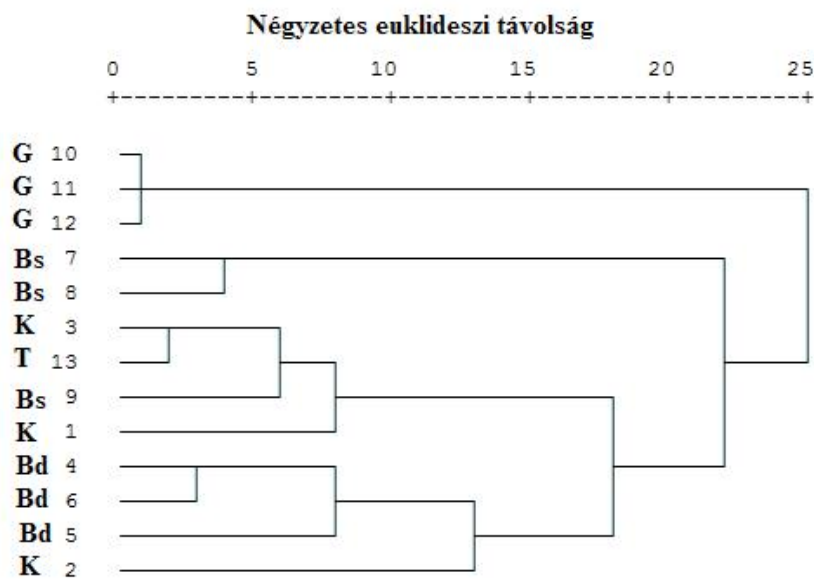


**15. ábra. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus pumilus* törzsek zsírsav profiljának klaszter analízise**

A különböző talajokból izolált *Bacillus pumilus* törzsekben (3. sz. melléklet) nincsenek meg a C6:0 és a C8:0 zsírsav metil-észterek, a C10:0 pedig csak a Kontroll területen fordul elő. A C14:0 FAME a Beregsurányi (0,3050%) és a Gelénesi (0,1437%) területen szignifikánsan kisebb, mint a másik két mintavételi helyen (Beregdaróc 1,1028%; Kontroll 1,8182%). A C15:0 esetében fordított a tendencia, a Beregdaróci (1,7828%) és a Kontroll (2,9975%) mintákban nagyobb ennek a zsírsav metil-észternek a százalékos aránya, a másik két mintavételi helyhez viszonyítva (Beregsurány 0,3398%; Gelénes 0,2044%). Az a-15:0 FAME százalékos mennyisége a Beregdaróci (4,7309%) mintában a legnagyobb, míg az i-15:0 a Beregdaróci (7,8432%) és Kontroll (4,6564%) mintákban szignifikánsan nagyobb, mint a Beregsurányi (1,3057%) és Gelénesi

(0,1437%) mintákban. A 3-OH 10:0 FAME mennyisége a Beregsurányi (4,8527%) és a Gelénesi (1,5534%) területen szignifikánsan nagyobb a másik két területhez viszonyítva (Beregdaróc 0,9707%; Kontroll 1,5534%). A levélről származó *B. pumilus* törzsek esetében a helyzet fordított. A C18:2n6t FAME mennyisége a Beregsurányi (10,8893%) és Gelénesi (9,5429%) mintákban szignifikánsan nagyobb a másik két mintavételi helyhez (Beregdaróc 1,2161%; Kontroll 1,5500%) képest. A C18:1(9)c esetében fordított tendencia figyelhető meg.

A *Bacillus subtilis* levélfelszínről izolált törzsei esetén (16. ábra) hasonló jelenség tapasztalható, mint a *B. pumilus* levélfelszíni törzsei esetén. A Gelénesi minták azonos csoportba kerülve egyértelműen elkülönülnek a többi mintavételi helytől. A Beregsurányi minták szintén azonos csoportba kerültek, bár hasonlóságuk mértéke kisebb. A Beregsurány 7 és 8 hasonlóságot mutat egymással. A törzstenyészetből származó törzs a Kontroll 3-al került egy csoportba, velük került kapcsolatba a Beregsurány 9 minta illetve a Kontroll 1.

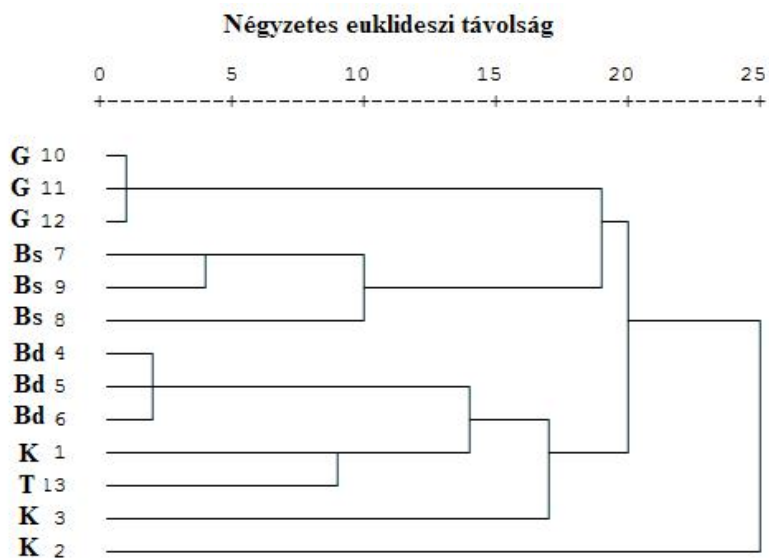


**16. ábra.** A különböző mintavételi helyek levélfelszínéről származó *Bacillus subtilis* törzsek zsírsav összetétele

A különböző mintavételi helyek levélfelszíni *Bacillus subtilis* törzseiben (4. sz. melléklet) nem található meg C6:0 a zsírsav metil-észter. A C8:0 csak a Gelénesi a C10:0 pedig csak a Gelénesi és Beregsurányi

mintákban van. A C12:0 mennyisége szignifikánsan nagyobb a Beregsurányi (5,2473%) mintában, viszont nincsen benne C13:0 zsírsav metil-észter. A 3-OH 12:0 és C14:1 zsírsav metil-észterek mennyisége a Kontroll (5,5744% és 4,6554%) mintában a legnagyobb. Az i-15:0 mennyisége szignifikánsan nagyobb a Beregsurányi (11,4971%) és Beregdaróci (11,5026%) mintákban, a másik két mintához (Kontroll 7,606%; Gelénes 1,6857%) képest. Az a-15:0 mennyisége a Beregsurányi (3,9893%) mintában a legnagyobb. A C16:1 százalékos mennyisége a Beregsurányi (8,8108%) és Beregdaróci (9,2928%) mintákban, az i-17:0 pedig a Kontroll (7,5742%) területéről származó mintában a legnagyobb. A C18:2n6t FAME csak a Beregdaróci mintában található meg. A C18:2(9,12) és C18:1(9)t FAME-k mennyisége szignifikánsan nagyobb a Gelénesi (28,7446% és 14,9988%) mintában a többi mintavételi helyhez (Kontroll 4,1847% és 3,7222%; Beregsurány 2,3007% és 1,0568%; Beregdaróc 0,5309% és 5,8353%) képest.

A talajokból származó *Bacillus subtilis* törzsek (17. ábra) az egyes mintavételi helyeknek megfelelően csoportokba rendeződtek.



**17. ábra. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus subtilis* törzsek zsírsav profiljának klaszter analízise**

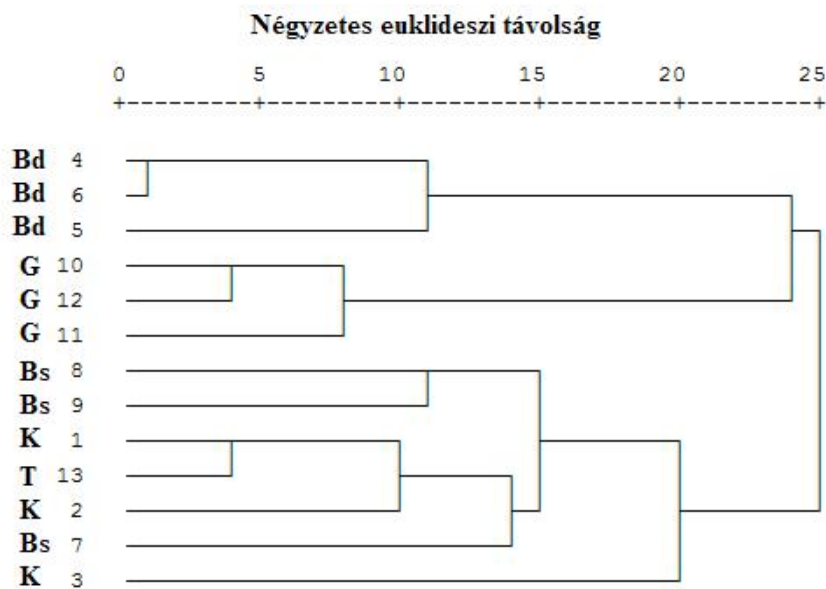
A Gelénesi és Beregsurányi területek hasonlósága a legszorosabb. A Beregsurányi mintavételi hely nem mutat velük rokonságot a klaszterfát a 10 szintnél elvágva. A törzstenyészet a Kontroll 1-el mutat hasonlóságot, tőlük különbözik a Kontroll 2 és 3.

A talajból izolált *Bacillus subtilis* törzsekben (5.sz. melléklet) nem találhatóak meg C6:0, C8:0 zsírsav metil-észterek, a C10:0 viszont csak a Gelénesi területről hiányzik. A C12:0 zsírsav metil-észter mennyisége szignifikánsan nagyobb a Beregsurányi (2,1373%) mintában a többi mintához (Beregsurány 0,2803%, Gelénes 0,7108%, Kontroll 0,8846%) képest. A 2-OH 12:0 és 3-OH 12:0 zsírsav metil-észterek mennyisége szignifikánsan nagyobb a Kontroll területen (2,5065% és 2,2665%), a többi mintavételi helyhez képest (Beregsurány 0,1737% és 0,4795%; Beregsurány 1,4415% és 1,6032%; Gelénes 0,9154% és 1,2283%). Az i-15:0 FAME mennyisége szignifikánsan nagy a Beregsurányi mintában (7,9398%), míg a többi mintában ettől kisebb értékeket mértünk (Beregsurány 1,9624%, Gelénes 3,4195%, Kontroll 2,1094%). Az a-15:0 mennyisége a legnagyobb a Kontroll területen (2,1676%), míg a többi területen ettől szignifikánsan kisebb értékeket mértünk (Beregsurány 0,8412%, Beregsurány 1,9006%, Gelénes 1,7952%). Az i-16:0 FAME mennyisége szignifikánsan nagyobb a Beregsurányi (12,6755%) és a Gelénesi (8,8851%) mintavételi helyeken, a másik két mintavételi helyhez (Beregsurány 2,1173%, Kontroll 4,7456%) képest. Az i-17:0 mennyisége szignifikánsan a legnagyobb a Gelénesi mintában (10,6226%), a többi mintához viszonyítva (Beregsurány 3,1474%, Beregsurány 2,0806%, Kontroll 3,7018%).

A *Bacillus cereus* levélfelszínről származó törzsei közül (18. ábra) a Beregsurányi és Gelénesi minták kerületek a mintavételi helynek megfelelően azonos csoportba. A törzstenyészet a Kontroll 1-el és 2-el mutat rokonságot. A Beregsurányi minták szétválnak egymástól, a 8 és 9 csak távoli rokonságot mutat, míg a Beregsurány 7 a Kontroll törzseivel került távoli kapcsolatba.

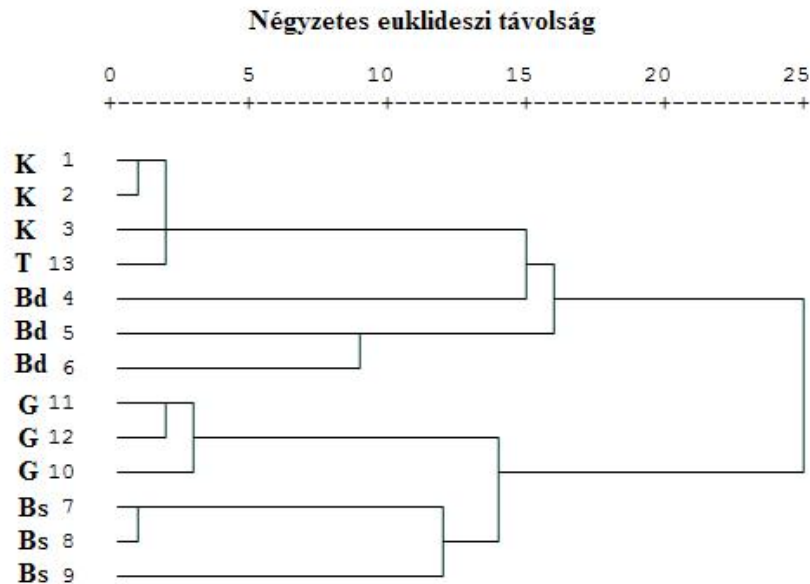
A különböző mintavételi helyek levélfelszíni *B. cereus* törzseiben (6. sz. melléklet) nem található meg C6:0 a zsírsav metil-észter. A C8:0 csak a Gelénesi a C10:0 pedig csak a Beregsurányi mintákból hiányzik. A C12:0 mennyisége szignifikánsan nagyobb a Beregsurányi (5,9400%) és a Beregsurányi (5,4676%) mintákban a Kontroll (0,5180%) és a Gelénesi mintához képest (0,4874%). A C13:0 nincs a Beregsurányi mintában. a 2-OH 12:0 mennyisége a Beregsurányi (3,4504%) a 3-OH 12:0 mennyisége a Gelénesi (7,6685%) mintákban a legnagyobb. Az i-15:0 zsírsav metil-észter mennyisége a hulladéklerakók talajában (Beregsurány 3,4841%; Beregsurány 3,6325%; Gelénes 4,7276%) szignifikánsan nagyobb, mint a

Kontroll terület (0,8868%) talajában. Az a-15:0 esetében fordított tendencia figyelhető meg Beregdaróc (7,3008%), Beregsurány (1,4398%) és Gelénes (4,7276%), míg a Kontroll területen (11,1040%). A C16:1 mennyisége a Kontroll területen (13,0981%) a legnagyobb, a többi mintavételi helyhez viszonyítva (Beregdaróc 3,6236%; Beregsurány 7,3224%; Gelénes 0,0626%). Az i-17:0 esetében fordított tendencia figyelhető meg, szignifikánsan magasabb az értéke a Beregsurányi (3,9897%) és a Gelénesi (2,8961%) mintákban, mint a Kontroll (1,6709%) és a Beregdaróci (0,5789%) mintavételi helyeken.



**18. ábra. A különböző mintavételi helyek levélfelszínéről származó *Bacillus cereus* törzsek zsírsav összetétele**

A *Bacillus cereus* talajból származó törzsei esetén (19. ábra) erőteljesebben érvényesül az azonos mintavételi helyen belüli hasonlóság. A Gelénesi minták rokonsága közeli. Ugyanez elmondható a Kontroll területéről, ebbe a csoportba került a törzstenyészetből származó minta is. A Beregsurányi minták szintén azonos csoportba kerültek, viszont az egymással való rokonságuk nem olyan közeli mint az a Gelénesi minták esetében látható. A Beregdaróc 5 és 6 közel van egymáshoz, viszont a Beregdaróc 4 elválk tőlük.

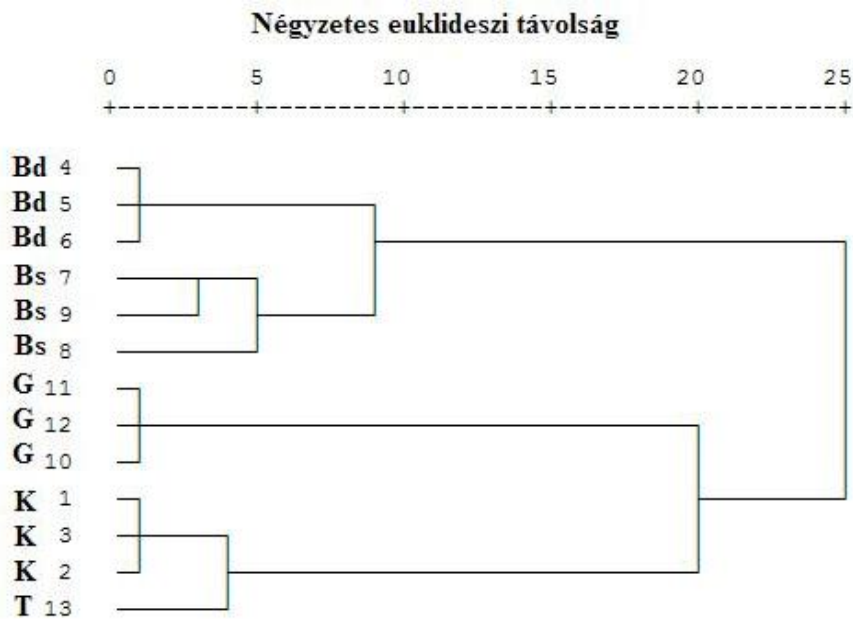


**19. ábra. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus cereus* törzsek zsírsav összetétele**

A különböző talajokból izolált *Bacillus cereus* törzsekben (7.sz. melléklet) nincs C6:0 zsírsav metil-észter, a C8:0 csak a Kontroll mintában van, a C10:0 viszont csak a Gelénesi területről hiányzik. A 3-OH 12:0 zsírsav metil-észter mennyisége szignifikánsan nagyobb a Kontroll területen (3,7746%), a többi mintavételi helyhez viszonyítva (Beregsurány 0,3173%; Beregsurány 0,7405%; Gelénes 2,3293%). Az i-15:0 FAME szignifikánsan nagy a Beregsurányi (5,1403%) és a Gelénesi (3,5037%) mintában, míg a többi mintában ettől kisebb (Beregsurány 0,5382%; Kontroll 1,8138%). Az a-15:0 a legnagyobb a Beregsurányi (2,2733%) és a Beregsurányi (2,1719%) területeken, a többi területen ettől szignifikánsan kisebb (Kontroll 1,9465%; Gelénes 1,2027%). A C18:2(9,12) FAME mennyisége szignifikánsan nagy a Beregsurányi (18,4150%) és a Beregsurányi (18,4150%), mintákban a Kontroll (2,9211%) és a Gelénesi (1,0839%) mintákhoz képest.

*Bacillus firmus* törzseket csak talajokból izoláltunk. Az azonos mintavételi helyről származó törzsek azonos, a többi mintavételi helytől elkülönülő csoportokba kerültek (20. ábra). A Beregsurányi és Beregsurányi hulladéklerakók rokonságot mutatnak a *Bacillus firmus* alapján egymással.

Tőlük elkülönülnek a Gelénesi és a Kontroll terület, amelyek egymással sincsenek kapcsolatban. A törzstenyészet a Kontroll terület mintáival fűződött azonos csoportba.

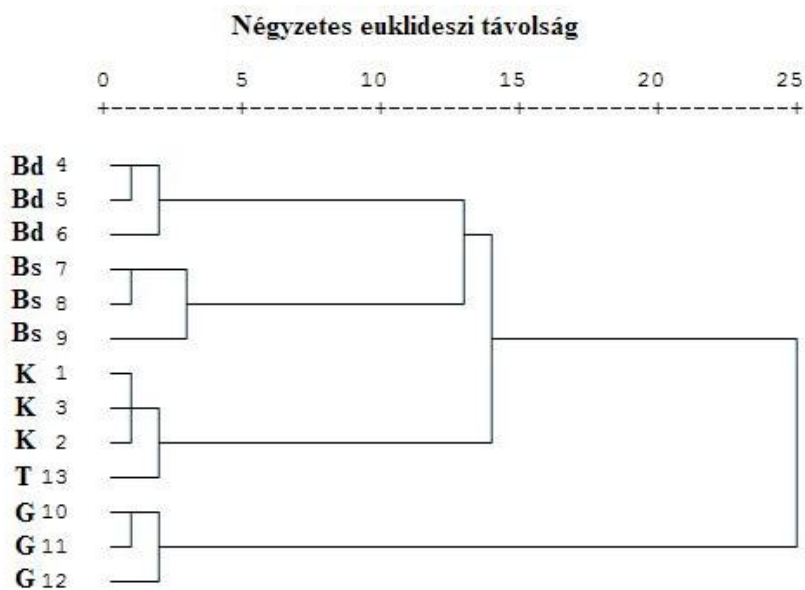


**20. ábra. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus firmus* törzsek zsírsav összetétele**

A különböző talajokból izolált *Bacillus firmus* törzsekben (8. sz. melléklet) nincsenek C6:0, C8:0 zsírsav metil-észterek, a C10:0 viszont csak a Beregsurányi és Beregdaróci területeken van. A C11:0 hiányzik a Kontroll területről. A C12:0 zsírsav metil-észter mennyisége szignifikánsan nagyobb a Kontroll (1,9620%) mintában a többi mintához (Beregsurány 0,2638%, Gelénes 0,2112 %, Kontroll 0,0889% ) képest. A 2-OH 12:0 zsírsav metil-észter nem fordult elő a Kontroll területen. A 3-OH 12:0 zsírsav metil-észterek mennyisége szignifikánsan nagyobb a Beregsurányi területen (3,1303%), a többi mintavételi helyhez viszonyítva (Kontroll 2,8108%; Beregdaróc 1,3583%; Gelénes 1,1866%). Az i-15:0 FAME mennyisége szignifikánsan nagy a Beregsurányi (19,5704%) és a Gelénesi (12,8986%) mintákban, míg a másik két mintában ettől kisebb értékeket mértünk (Beregdaróc 3,3368%; Kontroll 8,0823%). Az a-15:0

mennyisége a legnagyobb a Gelénesi (1,9818%) és a Beregsurányi (1,1202%) területen, míg a többi területen ettől szignifikánsan kisebb az értéke (Kontroll 0,6096%, Beregdaróc 0,4540%). Az i-16:0 FAME mennyisége szignifikánsan nagyobb a Beregsurányi (2,7824%) és a Gelénesi (1,6748%) mintavételi helyeken, a másik két mintavételi helyhez (Beregdaróc 0,7057%, Kontroll 0,3921%) képest. Az C17:1 mennyisége szignifikánsan a legnagyobb a Kontroll talajokban (2,1987%), a többi mintához viszonyítva (Beregsurány 0,6304%, Beregdaróc 0,4162%, Gelénes 0,4102%). A C18:2n6t FAME szignifikánsan nagy Beregsurányon (9,9439%) Beregdarócon (10,0672%), és Gelénesen (7,1142%) a Kontrollhoz (3,5750%) viszonyítva. A C20:3n6 mennyisége szignifikánsan nagyobb a hulladéklerakók talajában (Beregsurány 17,6002%, Beregdaróc 8,2429%, Gelénes 7,2388%), mint a Kontrollnál (3,9505%).

A *Bacillus licheniformis* (21. ábra) esetében az azonos mintavételi helyhez tartozó törzsek azonos csoportokba fűződtek, és közeli rokonságot mutatnak egymással.



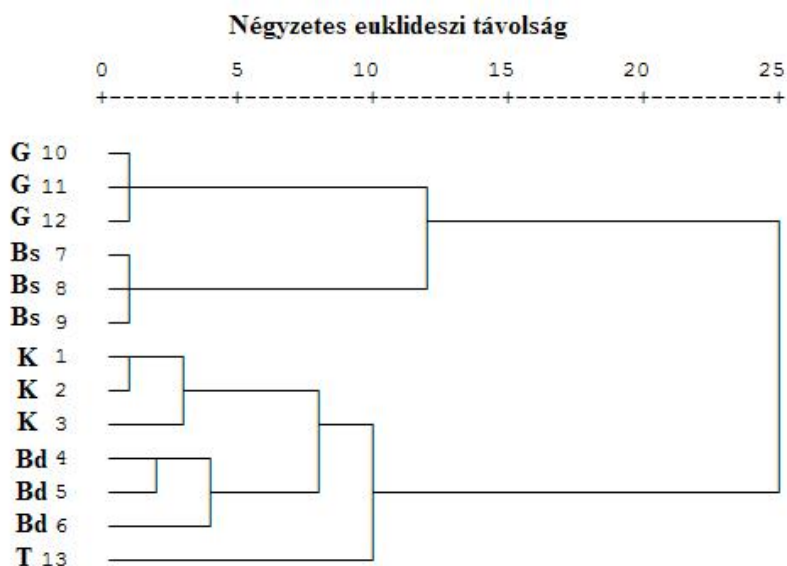
21. ábra. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus licheniformis* törzsek zsírsav összetétele

A Mintavételi helyek közötti rokonsági kapcsolat nem mutatható ki a klaszterfa 10-es szintjén történő elemzés során. A törzstenyészet itt is a Kontroll területéhez fűződött.

A hulladéklerakók és Kontroll erdő talajaiból izolált *Bacillus licheniformis* törzseiben (9.sz. melléklet) nincsenek C6:0, C8:0 és C10:0 zsírsav metil-észterek. A 3-OH 12:0 zsírsav metil-észter szignifikánsan nagyobb a Kontroll területen (4,1345%), a többi helyhez viszonyítva (Beregsurány 1,1862%; Beregdaróc 0,9015%; Gelénes 2,6020%). Az i-15:0 FAME mennyisége szignifikánsan nagy a Beregsurányi (13,4866%) és a Gelénesi (10,4010%) mintákban, míg a másik két mintában ettől kisebb értékeket mértünk (Beregdaróc 6,5324%; Kontroll 1,6071%). Az a-15:0 mennyisége a legnagyobb a Gelénesi (1,7530%) és a Beregdaróci (1,4980%) területen, míg a többi területen ettől szignifikánsan kisebb értékeket mértünk (Kontroll 0,1679%, Beregsurány 0,9374%). Az i-16:0 FAME mennyisége szignifikánsan nagyobb a Beregdaróci (3,2602%) és a Gelénesi (3,2446%) mintavételi helyeken, a másik két mintavételi helyhez (Beregsurány 1,9183%, Kontroll 1,8755%) viszonyítva. Az C16:1 mennyisége szignifikánsan a legnagyobb a Beregsurányi mintában (10,2480%), a többi mintához viszonyítva (Kontroll 7,6180%, Beregdaróc 9,5226%, Gelénes 5,5023%). A C22:0 zsírsav metil-észter mennyisége szignifikánsan a legnagyobb a Kontroll területen (10,2298%), a többi mintavételi helyhez (Beregsurány 7,3260%, Beregdaróc 5,9356%, Gelénes 8,7093%) viszonyítva.

A *Bacillus megaterium* levélfelszínéről származó minták esetén (22. ábra) nem válnak szét az azonos csoportba tartozó minták, mint a többi a levélfelszíni klaszterfa esetén. A törzstenyészetből származó minta a Beregdaróci minták közé fűződött. A Kontroll terület és a Beregdaróci minták hasonlósága leolvasható a klaszterfáról. A Beregsurányi és Gelénesi minták nem mutatnak rokonságot a klaszterfa 10-es szintjén.

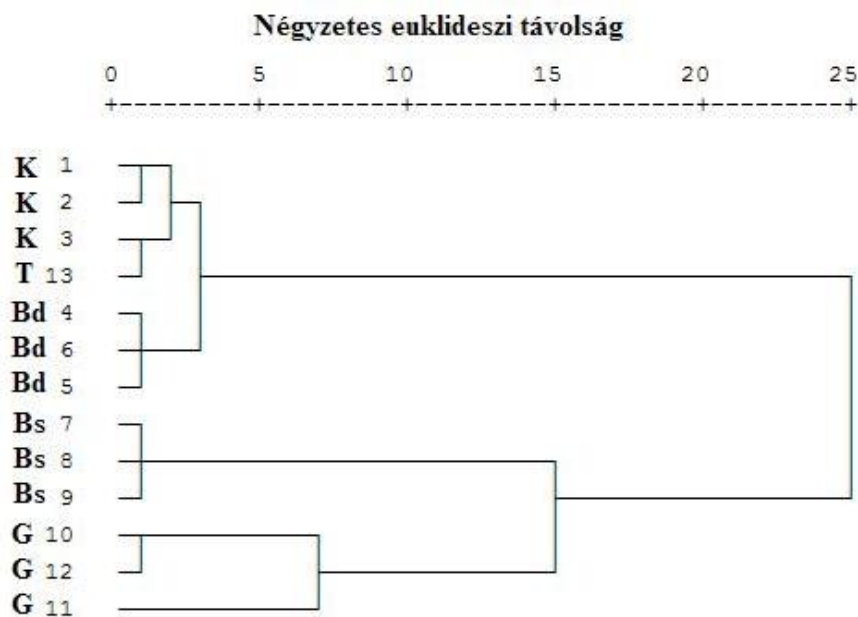
A különböző mintavételi helyek levélfelszíni *Bacillus megaterium* törzseiben (10.sz. melléklet) nincsenek a C6:0, C8:0 zsírsav metil-észterek. Az i-15:0 zsírsav metil-észter mennyisége a Kontroll (5,7980%) a Beregdaróci (6,3127%) és a Beregsurányi (6,2054%) mintavételi helyek talajában nem különbözik egymástól szignifikánsan, tőlük viszont szignifikánsan különbözik a Gelénesi (8,0305%) minta. Az a-15:0-nál nem szignifikáns a különbség az egyes mintavételi helyek között. Ugyanez a C16:1 zsírsav metil-észter esetében is, sőt ez a tendencia látható a nagyobb szénatom számú zsírsavak esetében is.



**22. ábra.** A különböző mintavételi helyek levélfelszínéről származó *Bacillus megaterium* törzsek zsírsav összetétele

A *Bacillus megaterium* talajból származó mintáinál (23.ábra), az azonos minták törzsei azonos csoportokba kerültek, a csoportok jól elválnak egymástól. A Beregdaróci és a Kontroll terület közeli rokonságot mutat egymással. A törzstenyészetből származó törzs a Kontroll területhez fűződött. A Beregsurányi és Gelénesi minták nem mutatnak hasonlóságot.

A különböző talajokból izolált *Bacillus megaterium* törzsekben (11. sz. melléklet) nem található meg C6:0, C8:0 zsírsav metil-észterek. Az i-15:0 FAME mennyisége szignifikánsan nagy a Beregsurányi (21,2434%) és a Beregdaróci (17,9052%) mintákban, míg a másik két mintában ettől kisebb értékeket mértünk (Gelénes 12,0260%; Kontroll 13,5912%). Az a-15:0 mennyisége szinte azonos a Beregsurányi (10,7148%) és a Beregdaróci (10,1213%) mintákban, míg a többi területen ettől szignifikánsan kisebb értékeket mértünk (Kontroll 6,8347%, Gelénes 5,1670%). A C18:2n6t FAME mennyisége nagy szórást mutat az egyes mintavételi helyeken Beregsurány (6,3374%), Beregdaróc (10,5669%), Gelénes (2,1488%) és a Kontroll 7,5318%).



23. ábra. Mintavételi helyek talajából származó *Bacillus megaterium* törzsek zsírsav összetétele

Az azonos mintavételi helyhez tartozó levélfelszíni minták szétválása több faj esetében is mérhető. Ennek háttérében a levélfelszínnek, mint élőhelynek a nagyfokú heterogenitása áll. A szél és a csapadék felverésének hatására számos szennyező anyag, por jut a levélfelszínre a talajból. A talajban kevésbé érvényesül a hőmérsékleti és a fény stressz, viszont a levélfelszínre kerülve a baktériumoknak fennmaradásuk érdekében alkalmazkodnak a megváltozott körülményekhez. Az alkalmazkodásuk elsősorban a membrán lipidek összetételében, illetve konformáció változásában nyilvánul meg.

#### 4.9. Az izolált baktérium törzsek zsírsav profiljának értékelése

A művelésből kivont és parlagon hagyott területek az emberi tevékenység eredményeként gyakran szennyeződnek, és könnyen válnak illegális személerakóvá, kommunális szennyvíz befogadóvá. A különböző szennyezőanyagok a talajban felhalmozódva a mikroorganizmus közösségek összetételét megváltoztatják, hatnak az egyes

mikroorganizmus törzsekre. A körülmények változása módosulásokat indukál a membránlipidek összetételében. A környezeti stresszhatások következményeit tanulmányozta a talaj PLFA összetételre (Kaur et al., 2005). A baktériumok zsírsav profiljában bekövetkező mennyiségi és minőségi változások, jó indikátorai a környezeti hatásokra adott stressz válasznak, mint a nehézfém szennyezés, a trágyázás, a szerves szennyező anyagok, az éhezés, a talaj hőmérséklet növekedése.

A hulladék talajra kifejtett hatása nagymértékben függ a szemét mennyiségi és minőségi összetételétől. A különböző szennyező anyagok megváltoztatják a talaj mikroba közösségeinek összetételét, és hatnak az egyes mikrobák anyagcseréjére is. A baktériumok zsírsav profiljában bekövetkező változások módosulásokat idézhetnek elő az adott baktérium faj funkciójában, fertőzőképességében. Ezek a változások fontosak lehetnek a megváltozott környezeti feltételekhez való alkalmazkodásban. A megváltozott környezethez való alkalmazkodás során új tápanyag és energiaforrásokat használnak a szerves és szervetlen szennyező anyagok transzformációja révén (Fouchard et al., 2005).

A szennyezett területek megváltozott mikroflórája a területek újra művelésbe kerülésével befolyásolja a talaj állapotát. A mikroorganizmusok diverzitása, az egyes fajok az anyagkörforgalmi rendszerben betöltött szerepének, feladatának megfelelő módon való végrehajtása, fontos tényező a talaj egészsége szempontjából. Mivel a baktériumok működésén alapul olyan, alapvető talaj funkciók megléte, mint a szén és nitrogén körforgalom illetve a szervesanyag transzformáció (Parkinson and Coleman, 1991).

Célunk a különböző környezeti hatásokra bekövetkező a mikrobiális közösség összetételét érintő változások kimutatása a hulladéklerakók talajában és a baktériumok zsírsav összetételében. A vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a hulladéklerakók talajában, a Gram-pozitív baktériumok túlsúlya és ezen belül is a *Bacillus* nemzetség dominanciája jellemző. A mintavételi helyek talajaiból és levélfelszínéről izolált és meghatározott baktériumok közül kiválasztottuk a *Bacillus* törzseket, majd összehasonlítottuk a különböző mintavételi helyekről származó azonos fajba tartozó törzsek zsírsavösszetételét.

Az adott fajon belül a különböző mintavételi helyekről származó törzsek zsírsav összetétele szignifikánsan eltér egymástól ( $p < 0,05$ ). A változásban érintett zsírsavak skálája széles, mind minőségben mind mennyiségben, és mindig az adott faj illetve hulladéklerakó függvénye.

Az egy fajba tartozó törzseknél a zsírsav összetétel alapján, rokonsági kapcsolat mutatható ki, de zsírsav profiljukban fenotípusos

változás következik be a környezeti tényezők hatására. A baktériumok zsírsav összetételét a genetikai adottságon túl a környezetben található könnyen felvehető tápanyagok mennyiségi és minőségi összetétele illetve a hulladéklerakókra jellemző szennyező, toxikus anyagok is meghatározzák

Hasonló eredményről számol be Frostegård et al. (1993/b). A szennyezett területek PLFA mintázatának megváltozás nem csak a mikroba közösségek összetétel-változásának köszönhető, hanem a megváltozott környezeti feltételeknek is, amelyek megváltoztatják a baktériumok sejtmembránjának zsírsav összetételét. A megváltozott zsírsav összetétel eredményezheti, hogy a szennyezett területekről származó baktériumok jobban látható telepeket képeznek, agar lemezre való szélesztés során. A szennyeztelen területeken általában kevesebb összes baktérium (CFU) szám tapasztalható a szennyezethet képest agar lemezre történő szélesztés során

Megállapítottuk, hogy a talajt érő különböző szennyezések mennyiségi és minőségi változást okoznak a baktériumok zsírsavösszetételében. A baktériumok zsírsav összetételének megváltozása indikátora lehet a talajt érő környezeti terheléseknek: mint a nehézfém szennyezés, a hulladék lerakás, a szerves szennyezőanyag bejutás stb.

## 5. Összefoglalás

A talaj mikrobiológiai állapota fontos szerepet játszik a fenntartható mezőgazdasági földhasználatban, felhasználható egy korai változás indikátoraként a talaj ökológiai állapotának jelzésére. A talaj-mikrobióta mennyiségi viszonyait, struktúráját és funkcióit célzó vizsgálatok komoly bioindikációs értékűek, jelentős gyakorlati segítséggel bírnak, amennyiben egy talaj állapotát, egy kezelés vagy szennyezés hatását próbáljuk megismerni. Ilyen esetekben olyan könnyen kimutatható, jól követhető és lehetőleg kvantitatív mérhető markerekre, indikátorokra van szükség, melyekből a talaj belső történéseire, állapotára következtethetünk, és abból viselkedését megfelelő megbízhatósággal megadhatjuk. Megállapítottuk, hogy az általunk alkalmazott módszerek jól használhatóak a talajban lejátszódó folyamatok jellemzésére. A hagyományos tenyésztésen alapuló mikroorganizmus vizsgálatokat jól kiegészítik a talaj enzim és foszfolipid zsírsav metil-észterek alapján történő mikrobiális közösség vizsgálatok.

Az alkalmazott módszerek a hazai és nemzetközi tudományos gyakorlatban elfogadottak. Meghatároztuk a talajok összes tenyészhető mikrobaszámát, a fajok százalékos megoszlását a talaj két mélységében (Szegi, 1979). A foszfátáz (Krámer és Erdei, 1959), invertáz (Schinner and Mersi, 1990), dehidrogenáz (Mersi and Schinner, 1991) és a celluláz (Unger, 1979), enzimek aktivitását is mértük a hulladéklerakók és a kontroll terület talajaiból.

A talajminták mikrobiális közösségeinek összetételét a talajminták zsírsav metil-észter tartalmának feltárásával határoztuk meg. A lipidek extrakciója és a keletkezett zsírsav metil-észterek szétválasztása (Sasser, 1990/b; Ibekwe and Kennedy, 1998) módszere alapján történt. A mintavételi helyek talaj mikroorganizmus közösségeinek PLFA mintázatban bekövetkező változásokat főkomponens analízissel végeztük. A mintavételi helyek talajából és a növények felszínéről izolált *Bacillus* nemzetségbe tartozó fajok zsírsav profilját hasonlítottuk össze. A vizsgálat célja a zsírsav profilban a szennyezés hatására bekövetkező változások feltárása volt. Hét a *Bacillus* genusba tartozó fajt vizsgáltunk: *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus firmus*, *Bacillus licheniformis*. A különböző mintavételi helyekről származó azonos fajba tartozó baktériumok, és törzstenyészetből származó törzsek zsírsav profilját hasonlítottuk össze, klaszter analízissel. A talajok enzimaktivitási-értékei és nehézfém-tartalma közötti összefüggés matematikai értékelése érdekében korrelációs vizsgálatot végeztünk.

Az általunk vizsgált hulladéklerakókon változatos a szemét (hulladék) mennyiségi és minőségi összetétele. A hulladékból származó nagy szervesanyag tartalom és a nehézfémek jelentik a két fő szennyező forrást, azonban az arányokat illetően vannak különbségek a mintavételi helyek között. A hulladék szervesanyag tartalma a talajba jutva könnyen hasznosítható táplálékforrás a mikroorganizmusok számára, lassítja illetve kivédi a nehézfémek toxikus hatását. A mintavételi helyek talaj-mikroorganizmus közösségeinek összetételét a területek növény borítása illetve a szeméttel együtt kijutatott mikroorganizmusok együttesen, alakítják ki. A Kontroll összesmikroba-száma kisebb a hulladéklerakókhoz képest. Ennek egyik oka a terület hulladékmentessége illetve az érintetlen erdő talajokra jellemző mikroflóra összetétel. Beregdaróc felszámolt hulladéklerakó, felszínének nagy részét már visszahódította az erdő. A Beregsurányi és Gelénesi lerakók növényflórájában megtalálhatóak a korábbi erdős vegetáció elemei.

A tanulmányozott baktérium nemzetségek százalékos megoszlása a hulladéklerakók talajában Gram-pozitív baktérium túlsúlyt jeleznek. A vizsgálatokból megállapítottuk, hogy a szennyezések hatására az *Actinomyces* és *Pseudomonas* nemzetségek aránya csökkent, míg a hatékonyabb túlélőképességgel rendelkező *Bacillus* nemzetség százalékos aránya növekedett.

A celluláz enzim aktivitásában a különbségek háttérében a szennyezés mellett a területek növényzet borítása áll. A Kontroll nagy aktivitási értékét a szeméthyány és a nagy mennyiségű avar adja. A hulladéklerakókra is jellemző a fás növényzet, viszont ezeken, a helyeken a szemét borítás dominál. A Beregdaróci használaton kívüli hulladéklerakó nagy része talajtakaróval fedett, növényzettel borított.

A Kontroll területeken mért nagy foszfatáz aktivitást a dús, elsősorban erdős makrovegetáció adja. Ettől kisebb értéket mértünk a Beregdaróci területen, ahol a fás vegetáció újra kialakulóban van. Beregsurányban és Gelénesen a növényborítás mellett a szemét borítás dominál.

A mezőgazdasági gyakorlatban az invertáz enzimet a talaj termékenységének meghatározására használják. A nagy invertáz aktivitás a felszíni flóra intenzív fejlődésével is magyarázható. A Kontroll esetében ez az erdővel való borítottságnak is köszönhető. A Gelénesen mért kisebb invertáz aktivitás azzal magyarázható, hogy tömörre vált a talaj az állandó nehézgépjármű forgalom, és a szemét kezelésére használt buldózerek miatt. Hiányoznak a talaj összetételéből a könnyen felvehető,

mobilizálható szervesanyagok, illetve csökken a talaj levegő tartalma, amelyek gátolják az invertáz enzim működését.

A talajok mikrobiológiai aktivitása a talajok lebontható szervesanyag tartalmával hozható összefüggésbe, és mindkettőre utal a dehidrogenáz aktivitás. A Beregdaróci nagy aktivitás a hulladéklerakó felhagyottságának következménye. Területe földdel, növényekkel borított, a korábban itt elhelyezett hulladék mineralizációja megindult. A Beregsurány területén illegálisan működő szemétklerakón a szervesanyagok előrehaladott lebomlási állapotban vannak illetve eleve könnyen bonthatóak. A terület szervesanyag terhelését növeli az ide kihordott kommunális szennyvíz is. A Gelénesi hulladéklerakó területén elsősorban műanyag hulladékot és kevés könnyen bontható szervesanyagot találtunk. Ennek következtében a talajában mért dehidrogenáz aktivitás nem különbözik szignifikánsan a kontroll területtől. Az itt mért aktivitási értékek, a talaj eredeti aktivitását tükrözik.

A vizsgált hulladéklerakók talajában az ólom és a kadmium mennyisége különbözött szignifikánsan a Kontroll terület talajától. A celluláz, invertáz és foszfatáz enzimek aktivitásában érvényesült a nehézfémek toxikus hatása, minden hulladéklerakó talajában szignifikánsan kisebb ezen enzimek aktivitása a Kontrollhoz képest. Negatív korrelációs mutatókkal jellemezhető a talajok dehidrogenáz aktivitása és a többi vizsgált enzimek közötti kapcsolat.

A celluláz enzim negatív korrelációban van a cinkkel és kadmiummal. Az invertáz enzimre az ólom és a kadmium fejt ki gátló hatást. A foszfatáz enzim a kadmiummal van negatív korrelációban. A dehidrogenáz enzim és a kadmium esetében negatív korreláció nem érvényesül. Moreno et al. (2003) szerint a kadmium gátlólag hat a dehidrogenáz enzim aktivitására a talaj magas szervesanyag tartalma mellett is. Eredményeink azt mutatják, hogy az enzim aktivitása minden hulladéklerakón nagyobb, mint a Kontroll területen annak ellenére, hogy a szervesanyagok eloszlása nem homogén a lerakókon. A dehidrogenáz enzim aktivitása, összefügg a talaj aerob kemoorganotróf mikroorganizmusainak össz mennyiségével. Ez magyarázza a nagy dehidrogenáz aktivitást a szemételepek talajában, a felvehető szervesanyag tartalom mellett, valamint a nagy kadmium tartalom ellenére is, a Kontroll terület dehidrogenáz aktivitásához képest.

A növények lebomlása a talajban függ a talaj rézvegyület-tartalmától, sőt, minél nagyobb a mennyisége, annál nagyobb a celluláz aktivitás. Ellenkező irányú összefüggés van a talaj celluláz aktivitása és cink tartalma között. Negatív korreláció mutatható ki a foszfatáz enzim és a

talaj kadmium tartalma között, hasonló az összefüggés a kadmium és a dehidrogenáz enzim között. A glycopolimerek lebomlásának sebessége fordított arányosságban áll a talaj mozgó ólomvegyület-tartalmával. A talaj foszfátáz aktivitása, akárcsak a celluláz aktivitás, egyenes arányosságban van a talaj oldott réz-tartalmával.

A PLFA vizsgálat eredményei összhangban állnak a hagyományos, tenyésztéses módszerrel kapott eredményekkel. A hulladéklerakók területén szignifikánsan nagyobb a Gram-pozitív baktériumokat jelölő biomarker zsírsavak százalékos aránya a Kontroll területhez viszonyítva. A szeméttelpek talajára a Gram-pozitív baktériumok jellemzőek, ezen belül is a hatékonyabb túlélő képességgel rendelkező *Bacillus* genus dominál. A Gram-negatív baktériumok mennyisége a Kontroll területen a legnagyobb, míg a hulladék lerakók talajában ettől kisebb értékeket mértünk.

A hulladéklerakók talajában szignifikánsan csökkent a gombák mennyisége a Kontrollhoz képest. A gomba és baktérium biomarkerekkel meghatározható a gomba/baktérium arány. Az arány értéke a legnagyobb a Kontroll területen, míg a szennyezett területek talajában ettől kisebb értékek jellemzőek. A gombák számának csökkenése a hulladéklerakók talajában a zavarás intenzitás növekedésének köszönhető. Azokon a területeken, ahol jelentős a gépjármű forgalom és a talaj bolygatása, ami kedvezőtlen hatással van a gomba micéliumok fejlődésére. A talajok nehéz fém tartalmára is érzékenyebben reagálnak a gombák.

Az *Actinomycetes* családra jellemző biomarker zsírsavak mennyisége a Kontroll területen volt a legnagyobb, a hulladéklerakók talajában ez a biomarker zsírsav csoport szignifikánsan kisebb mennyiségben található meg.

A 16:1 $\omega$ 7 és 18:1 $\omega$ 7 zsírsavak megnövekedett *transz/cisz* izomer aránya a baktériumok sejtmembránjában környezeti stresszt jelez. Az általunk vizsgált hulladéklerakók talajában a 16:1 $\omega$ 7 és 18:1 $\omega$ 7 zsírsavak esetében megnőtt a *transz/cisz* izomerizációs arány a Kontroll területhez viszonyítva.

A klaszter analízis eredménye alapján a hulladéklerakók talaj mikrobiális közösségei hasonlóságot mutatnak egymással és különböznek a Kontroll területtől. A leghasonlóbb egymáshoz a Gelénesi és a Beregsurányi hulladéklerakók, tőlük különbözik, és egyben átmenetet képez a Kontroll terület felé a Beregsurányi terület. A főkomponens analízis eredménye szerint a Gelénesi és Beregsurányi területen dominálnak a Gram-pozitív baktériumok. A Kontroll területre a Gram-negatív baktériumok és az *Actinomycetese*k jellemzőek. A Beregsurányi hulladék

lerakó területére jellemzőek a Gram-pozitív, Gram-negatív baktériumok és az *Actinomycetese*s is.

A hulladék lerakók talajának felszíni rétege sérül. A területekre jellemző járműforgalom következtében tömörödik a talaj felső rétege. A hulladék rétegződése a talaj közvetlen felszínén megváltoztatja a hőmérsékleti, nedvességi, oxigén ellátottsági viszonyokat. Ugyanakkor a hulladékból nagy mennyiségű könnyen felhasználható szervesanyag jut be a talajba, ami szén és más tápanyagforrást jelent a mikroorganizmusok számára. Ennek következtében visszaszorulnak a felszíni talajrétegre jellemző mikroorganizmusok, Gram-negatív baktériumok és gombák és teret nyernek a kedvezőtlenebb körülményekhez alkalmazkodni tudó, hatékonyabb túlélő képességgel rendelkező Gram-pozitív baktériumok, a hulladéklerakók esetében a *Bacillus* nemzetség tagjai.

A szennyezett területek PLFA mintázatának megváltozás nem csak a mikroba közösségek összetétel változásának köszönhető, hanem a megváltozott környezeti feltételeknek is, amelyek megváltoztatják a baktériumok sejtmembránjának zsírsav összetételét. Vizsgálatainkban a különböző mintavételi helyekről származó *Bacillus* törzsek zsírsav összetételét hasonlítottuk össze. Az adott fajon belül a különböző mintavételi helyekről származó törzsek zsírsav összetétele szignifikánsan eltér egymástól ( $p < 0,05$ ). A változásban érintett zsírsavak skálája széles, mind minőségben mind mennyiségben, mindig az adott faj illetve hulladéklerakó függvénye.

Az egy fajba tartozó törzseknél a zsírsav összetétel alapján, rokonsági kapcsolat mutatható ki, de zsírsav profiljukban fenotípusos változás következik be a környezeti tényezők hatására. A baktériumok zsírsav összetételét a genetikai adottságon túl a környezetben található könnyen felvehető tápanyagok mennyiségi és minőségi összetétele illetve a hulladéklerakókra jellemző szennyező, toxikus anyagok is meghatározzák.

A baktériumok zsírsav profiljában bekövetkező változások módosulásokat idézhetnek elő az adott baktérium faj funkciójában, fertőzőképességében. A megváltozott zsírsav összetétel eredményezi, hogy a szennyezett területekről származó baktériumok jobban látható telepeket képeznek, agar lemezre való kikenés során. Ennek következménye, hogy a szennyeztelen területeken általában kevesebb az összes baktérium (CFU) szám tapasztalható a szennyezethez képest a szélesztés során.

Ezek a változások fontosak abban, hogy alkalmazkodjanak a megváltozott környezeti feltételekhez. A szennyezett területek megváltozott mikroflórája a területek újra művelésbe kerülésével befolyásolhatja a talaj állapotát. A mikroorganizmusok diverzitása, az

egyres fajok az anyagk6rforgalmi rendszerben bet6lt6tt szerep6nek, feladat6nak megfelel6 m6don val6 v6grehajt6sa, fontos t6nyez6 a talaj homeoszt6zisa szempontj6b6l. Mivel a bakt6riumok m6k6d6s6n alapul olyan, alapvet6 talaj funkci6k megl6te, mint a sz6n 6s nitrog6n k6rforgalom illetve a szervesanyag transzform6ci6 (Parkinson and Coleman, 1991). Ez6rt a bakt6riumok zs6rsav 6sszet6tel6nek megv6ltoz6sa indik6tora lehet a talajt 6r6 k6rnyezeti terhel6seknek: mint a neh6zf6m szennyez6s, a hullad6k lerak6s, a szerves szennyez6anyag bejut6s stb.

A foszfolipid zs6rsavak a talaj mikroorganizmusok mennyis6gileg j6l meghat6rozhat6 biomolekul6i, gyors turn over-6k miatt j6l jellemzik mind mennyis6gileg, mind min6s6gileg az adott 6l6 mikroorganizmus k6z6ss6get, magas indik6ci6s 6rt6kkel rendelkeznek a mikrobi6lis k6z6ss6gek le6r6s6ban, monitoroz6s6ban, fiziologi6s 6s stressz k6r6lm6nyek k6z6tt egyar6nt. Ugyanakkor a PLFA biomarker anal6zis sz6mos korl6ttal rendelkezik, ami sz6k6ti a haszn6lat6t mind helyi, mind glob6lis szinten. A biomarkerek 6rtelmez6s6t seg6t6 adatb6zis tiszta teny6szet6kb6l sz6rmaz6 zs6rsavakra 6p6l.

Hossz6 t6von a PLFA m6dszer k6rnyezeti monitoroz6sban val6 alkalmaz6s6nak 6rdek6ben, sz6ks6g van a PLFA k6nyvt6r b6v6t6s6re term6szetes forr6sb6l sz6rmaz6 bakt6riumok zs6rsav profilj6val. A stressz biomarkerek v6ltoz6s6nak kalibr6l6sa a k6l6nb6z6 6kol6giai rendszerekben, k6l6nb6z6 talaj t6pusokban, k6l6nb6z6 6ghajlati viszonyok k6z6tt nagy kih6v6s6t jelent a j6v6 sz6m6ra, mind helyi mind nemzetk6zi szinten.

6j tudom6nyos eredm6nynek tekintj6k:

- A szennyez6sek hat6s6ra az *Actinomyces* 6s *Pseudomonas* nemzets6gek ar6nya cs6kkent, m6g a *Bacillus* nemzets6g ar6nya n6vekedett.
- A hullad6k megv6ltoztatja a talajenzimek aktivit6s6t, jelent6sen cs6kkenti a cellul6z, a foszfat6z, az invert6z aktivit6sokat a dehidrogen6z enzim aktivit6sa viszont n6tt a kontroll ter6lethez k6pest.
- A talajt 6r6 k6l6nb6z6 szennyez6sek mennyis6gi 6s min6s6gi v6ltoz6st okoznak, a talaj mikroorganizmus k6z6ss6geinek 6sszet6tel6ben:
  - A hullad6klerak6kon szignifik6nsan nagyobb a Gram-pozit6v bakt6riumokat jel6l6 biomarker zs6rsavak mennyis6ge, mint a szennyezetlen ter6leten.

- A Gram-negatív baktériumokat, az *Actinomyceteseket*, és a gombákat jelölő biomarker zsírsavak mennyisége csökken a hulladéklerakókon.
- A gomba/baktérium arány csökken a talajban a hulladék elhelyezés, kezelés hatására.
- A 16:1 $\omega$ 7 és 18:1 $\omega$ 7 zsírsavak *transz/cisz* izomereinek aránya nő a hulladéklerakók talajában.
- A szennyezett területek PLFA mintázatának változása nemcsak a mikroba közösségek összetétel-változásának, hanem a megváltozott környezeti feltételeknek is függvénye, amelyek a hulladék minőségétől és mennyiségétől függően változtatják meg a baktériumok sejtmembránjának zsírsav összetételét.

## 6. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőimnek, **Dr. Balázs Sándor**, főiskolai tanárnak, és **Dr. Lakatos Gyula** egyetemi docensnek, akiknek kutatómunkám irányítóiként mind szakmailag, mind emberileg sokat köszönhetek.

Köszönöm **Tóth Istvánénak** a vizsgálatok során nyújtott segítségét és támogatását.

Köszönettel tartozom a Nyíregyházi Főiskola TTIK Biológia Intézetének, az Agrár és Molekuláris Kutató Intézetnek és vezetőjének **Dr. Máthé Endrének** hogy munkámban az intézeti eszközök rendelkezésre bocsátásával segítséget nyújtottak, valamint **Dr. Dinya Zoltánnak** és **Szathmáry Mónikának**.

A doktori disszertációban található eredmények egy része *Szennyeződések monitoring rendszerének kidolgozása a beregi határrégióban*, Magyar-Ukrán Kísérleti Kisprojekt Alap, HU-UK 2003-004-347-05-02-02. 2006. projekt keretén belül született.

*Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni **Családomnak**, hogy végig mellettem álltak, mert támogatásuk nélkül nem juthattam volna el idáig!*

## **7. Summary**

### **7.1. Introduction**

For a long time, plants, animals and humans were protected against the direct or indirect damaging effects of deposited waste, which was degraded by the natural purification processes of soil, water and air. However, as production and consumption were increased by urbanisation and technical & scientific development of the past few decades, the harmony between people and environment has loosened.

Besides inordinate exploitation of natural resources and increasing transform of natural substances, humans produce synthetic matters, the compositions of which are different from the natural materials. As a consequence of the production and use of unnatural substances, increasing amounts of wastes are spatially concentrated in the ecosystem.

On the one hand, wastes contaminate the environmental elements (i.e. water, air and soil) and as a consequence, affect huge populations and mostly have long-term effects. On the other hand, certain constituents of wastes get into the food chain through plants and animals and finally, have damaging effects on humans as well.

Various infectious diseases can be caused by the pathogen microorganisms of communal wastes.

Consequently, certain forms of wastes cannot take a part in the natural cycles, while other forms can. In the latter case, waste can disturb the natural processes to such an extent that natural cycles are not able to compensate, therefore, they cause damages in both the natural environment elements and humans.

Microorganisms form a considerable part of the Earth's biomass. Besides playing an important role in carbon cycle, microbes are responsible for the major part of N-fixation and denitrification. Microorganisms also play an important role in the formation of lipids (Jandl et al., 2004) and humus materials, which determine the structure, water balance and nutrient fixation ability of soils. Additionally, microbes remove the materials (e.g. dead biomass, animal faeces, pesticides and other antropogeneous organic and inorganic pollutants), which can modify or damage the water quality, soil and vegetation through their accumulation or persistence. Moreover, some microorganisms are particularly sensitive to environmental effects. The microbial responses for these effects are reflected by the changes of different biomarkers,

activities, community structure and biomass (White et al., 1998). It is important to investigate the modifications of microorganisms under the influence of pollution, since these organisms provide the biogeochemical processes and the productivity of different ecosystems (Halbritter és Uzinger, 2005).

Generally, pollutions have continuous effects on microbiota. After a considerable time, pollutants induce changes, which are integrated to the community structure and activity (Smith et al., 1986). Besides, appearing, disappearing or becoming conspicuous in the environment, certain microorganisms show special metabolic activities under the influence of pollution (Ringelberg et al., 2001). Presently, we do not have a generally accepted protocol for the monitoring of microbial ecology. Cultivating and isolation methods provide valuable information about presence and potential activity of microorganisms, however, a single bacteria culture just slightly reflects the in-situ diversity and activity levels (American Academy of Microbiology, 2002).

Microbiological status of the soil plays an important role in sustainable land-use, and can be used as indicator for initial changes in ecological status of the soil. Examinations of quantitative proportion, structure and functions of soil microbiota have considerable bioindicational value. In addition, these examinations are also useful from practical aspects, if soil status or effects of treatments and pollutants need to be determined. In these cases, we need easily detectable and followable, quantitative markers and indicators, which refer to the internal processes and status of soil and help to conclude on the soil behaviour reliably.

Indicators, which are used for environmental monitoring, have to be appropriate for the indication of structural and functional changes in the processes and structure of the ecosystem; have to be sensitive to changes of climate and environmental management; have to be easily measurable and reproducible; and have to be applicable on both local and international levels (Neher, 2001). Recently, physical and biochemical parameters of soil (pH, CEC, available nutrients and organic carbon content) are used for monitoring of environmental stress effects in soil ecosystems. These parameters are not sensitive enough to predict the primary modifications in soil status. Conversely, microbial community of the soil gives prompt responses (Atlas, 1984) and description of these modifications is necessary for the preservation of ecosystem status. On microbial level, responses for stress are conventionally examined through the processes, thus number of microorganisms, respiration intensity and enzyme activities are measured

numerically (Parkinson and Coleman, 1991), which reflects the size of the whole population and the values of total activity.

These indicators are not sensitive enough (Hargreaves, 2003), as a consequence of the various functions and processes and the complex interactions within the community. Monitoring of environmental load needs the examination of the whole microbial community, since it comprises diverse organisms and determination of diversity provides information about processes of the ecosystem. As a consequence of environmental stress, disturbance and long-term effects, modifications occur in the diversity of microbial communities, which can help to understand succession processes of the soil within the microbial community. PLFA analysis is a reliable method for revealing the modifications in the diversity of microbial communities; however, various physical and chemical analyses are also necessary for the examination of soil status.

The dissertation deals with the following questions:

- Are the used microbiological methods adequate to detect and predict the modifications, which occur in soil microflora under the influence of contamination?
- What qualitative and quantitative changes occur in soil microflora under the influence of waste deposition?
- How do organic and inorganic pollutants of wastes influence the soil enzyme activities?
- What processes are responsible for the changes in microflora and enzyme activities?
- What are the polluting effects of wastes on the basis of PLFA (phospholipid fatty acid) pattern of soil microbial communities?
- With respect of the polluting effect of wastes, we examined the qualitative and proportional changes of phospholipid fatty acids, as stress biomarkers.
- Are there any relationships between polluting effects and the modifications in fatty acid composition of *Bacillus* species, which propagate in the soil of dump sites?

## 7.2. Materials and Methods

### 7.2.1. Sampling Sites

Our sampling sites were legal and abandoned but illegally used dump sites, on the periphery of Gelénes, Beregdaróc and Beregsurány, which are small settlements in Szabolcs-Szatmár-Bereg County. The dump site of Beregsurány is situated southeast of the settlement and was formed by filling of an abandoned riverbed. Formerly, the dump site of Beregdaróc had been a clay-pit, which has been filled with communal wastes. Presently, this site is in advanced stage of succession. Along the way of Gelénes-Barabás, the dump site of Gelénes functions as a properly built regional dump site. The site was afforested by poplars (*Populus spp.*) to block the winds and prevent the waste from dispersion. The control area was marked out southeast of Beregdaróc, along the Ukrainian-Hungarian frontier. It is the only part of the oak-hornbeam forest (*Querceto robori-Carpinetum*), which more or less remained in its original stage.

### 7.2.2. Experimental methods

The applied methods are accepted by both the national and the international scientific practice. Besides studying the percentage distribution of species in two soil depth, we determined the total number of culturable microbes as well (Szegi, 1979). Enzyme activities of phosphatase (Krámer and Erdei, 1959), invertase (Schinner and Mersi, 1990), dehydrogenase (Mersi and Schinner, 1991) and cellulase (Unger, 1979) were also measured in both the soil samples of dump sites and the control samples.

Composition of microbial communities in the soil samples was determined by the fatty acid methyl ester content of samples. Lipid extraction and separation of the fatty acid methyl esters were performed according to Sasser, 1990; and Ibekwe and Kennedy, 1998. Changes in the PLFA pattern of microbial communities of the sampling sites were determined by principal component analysis. We compared the fatty acid profile of *Bacillus* species of soil samples with fatty acid profile of those *Bacillus* species which were collected from the plant surfaces. The aim of the examination was to reveal the changes of fatty acid profiles, which occurred under the influence of contamination. Seven species of *Bacillus* genus were investigated: *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*,

*Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus firmus*, *Bacillus licheniformis*. With the help of Cluster Analysis, we compared the fatty acid profiles of certain bacteria species of the samples with fatty acid profiles of the reference cultures (Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms). Correlation analyses were used for mathematical evaluation of the relation between the enzyme activity and the heavy metal content of soils.

## 7.3. Results

### 7.3.1. Examinations of microorganisms

Microbe populations of dump soils can be characterized by high diversity and large number of individuals at the same time. In case of contaminated soils, total number of microbes in the upper layer of the soil is higher (20 cm) than at the same depth of control area ( $5.48 \times 10^4$ ). Total number of microbes is the highest on the area of Beregsurány ( $2.06 \times 10^5$ ), which is followed by Gelénes ( $1.85 \times 10^5$ ) and Beregdaróc ( $1.26 \times 10^5$ ). Differences also can be observed between the two soil depths: total number of bacteria is higher in the upper layer than in the lower layer (50 cm).

Qualitative and quantitative compositions of waste are various on the dump sites. Large organic matter content of wastes and heavy metals form the two main sources of pollution, however, proportions these are different in the sampling sites. Organic matter content of wastes is an easily utilizable nutrient source for soil microorganisms. Additionally, it delays and prevents the toxic effects of heavy metals. Composition of soil microorganism communities of sampling sites is determined by both the plant cover of the areas and the microorganisms of the waste. Control area is covered by a forest, but the total number of microbes is lower than that of dump sites, which can be also characterized by woody vegetation. This can be explained by the absence of wastes and the natural microflora, which characterizes the virgin forest soils. As Beregdaróc is an abandoned dump site, most of its area is recovered by the forest. Plant flora on the dump sites of Beregsurány and Gelénes also comprises elements of the former forest vegetation.

According to the percentage of the studied bacteria genera, Gram-positive bacteria are dominant in the dump soils. Our results show that proportions of *Actinomyces* and *Pseudomonas* genera decreased under the influence of contaminations, while percentage of *Bacillus* genus increased

as a consequence of its more effective survival ability. Proportions of genres in lower soil layers were similar to that of surface layers. On these areas, wastes have been dumped for years and their organic matters infiltrate into the lower soil layers as well. Modifications, which are caused by wastes, also have effects on the lower soil layers. Enterobacteriaceae genus can be detected in the soil of all three areas. It can be observed in the largest proportion on the area of Beregsurány, which is followed by Beregdaróc and Gelénes. Enterobacteria primarily propagate on the remains of domestic wastes.

### **7.3.2. Examinations of enzyme activities**

#### **7.3.2.1 Cellulase activity**

Cellulase activity is higher on the control area (42.9%) than on dump sites. There are not significant differences among the cellulase activities of dump soils, with the exception of Gelénes (20.9%), where cellulase activity is lower than on the other sites. Cellulase activity on the area of Beregdaróc (38.9%) approximates the cellulase activity of the control area. Besides contamination, differences in the cellulase activity can be also explained by the plant cover of the areas. High cellulase activity of control area is derived from the absence of wastes and the huge amount of leaf litter. Dump sites also have woody vegetation cover, but waste cover is dominant on these areas. Most of the unused dump site of Beregdaróc is covered by soil and vegetation.

#### **7.3.2.2 Phosphatase activity**

High phosphatase activity of the control area (2.12  $P_2O_5/g/2h$ ) was approximated by only the phosphatase activity of the dump soil of Beregdaróc (0.98  $P_2O_5/g/2h$ ). Phosphatase activity was significantly lower in the soil of Beregsurány (0.06  $P_2O_5/g/2h$ ) and Gelénes (0.78  $P_2O_5/g/2h$ ). High phosphatase activity of the control area can be explained by the dense and primarily woody vegetation cover. The phosphatase activity was lower on the area of Beregdaróc, where recovering of woody vegetation has been started. Besides vegetation cover, waste cover is dominant on the areas of Beregsurány and Gelénes.

### 7.3.2.3 Invertase activity

Invertase activity of the control area is significantly higher (10.24 mg glucose/10g/4h) than that of dump sites, with the exception of Beregdaróc (9.73 mg glucose/10g/4h). The lowest invertase activity was measured on the dump site of Gelénes (5.12 mg glucose/10g/4h), while invertase activity on the dump site of Beregsurány (7.25 mg glucose/10g/4h) is significantly higher. In agricultural practice, invertase activity is used for the determination of soil fertility. High invertase activity can be also explained by intensive growth of the surface flora. In case of the control area, high invertase activity is a consequence of forest cover as well. Lower invertase activity of the dump site of Gelénes can be explained by the compactness of soil, which resulted from the perpetual presence of heavy good vehicles and bulldozers. Besides the absence of easily mobilisable organic matters, the reduced air content of soil also inhibits the functioning of invertase enzyme.

### 7.3.2.4 Dehydrogenase activity

Dehydrogenase activity reveals the differences in the organic matter content of the soil. As a consequence, dehydrogenase activities show significant differences between the contaminated sites and the control area (117.5 µg INTF/g). Highest value was measured in Beregsurány (247.5 µg INTF/g), while the lowest activity was measured in Gelénes (131.5 µg INTF/g). Dehydrogenase activity of Beregdaróc was 185.5 µg INTF/g, as this site is in intermediate position between the two previous areas.

Microbial activity of soils is connected to the degradable organic material content of the soil and both of them can be characterized by the dehydrogenase activity. On the illegal dump site of Beregsurány, organic materials are in advanced stage of degradation or these materials originally are in an easily degradable stage. On this area, load of organic matters is also increased by the communal wastewater deposition. Dehydrogenase activity of Beregdaróc can be explained by the abandoned status of the dump site, where the area is covered by soil and plants and mineralisation of the formerly deposited wastes has already begun. On the dump site of Gelénes, we can primarily find synthetic wastes and a few easily degradable organic materials. Consequently, there are not significant differences in the dehydrogenase activity of this site and that of the control

area. On this dump site, dehydrogenase activities reflect the original activity of the soil.

### **7.3.3. Heavy metal content of soils**

Significant differences could be measured in the heavy metal contents of soils. On every dump site, iron can be found in the largest quantities. The iron content of dump sites (Bregdaróc 913.2 mg/kg, Beregsurány 890.5 mg/kg, Gelénes 787.1 mg/kg) exceeds the iron content of the control area (616.8 mg/kg). In contrast with the dump sites of Beregsurány (2.2 mg/kg) and Bregdaróc (1.8 mg/kg), cadmium content is significantly low on the control area (0.0 mg/kg) and in the dump soil of Gelénes (0.2 mg/kg). Tendencies of lead content are similar to that of iron and cadmium content. Dump soils (Beregsurány 22.1 mg/kg, Bregdaróc 13.7 mg/kg, gelénes 7.18 mg/kg) contain significantly more lead than the control area (5.39 mg/kg). Copper and zinc content of dump sites is similar to the copper and zinc content of the control area.

### **7.3.4. Correlation analyses**

For mathematical evaluation of the results we used correlation analyses. These analyses were done on the basis of the enzyme activities and metal concentrations, which were measured from the soil samples of the upper soil layer (20 cm). Analyses showed positive correlation between the cellulase and phosphatase activities ( $r = 0.74$ ), the cellulase and invertase activities ( $r = 0.26$ ) and the phosphatase and invertase activities ( $r = 0.24$ ), while the connection between dehydrogenase activity and other enzyme activities can be described with negative correlation. There was also positive correlation between dehydrogenase enzyme activity and the total number of microbes.

Lead and cadmium concentrations of the examined dump soils were significantly different from those of the control area. Toxic effect of heavy metals influenced the cellulase, invertase and phosphatase activities, therefore these enzyme activities are significantly lower in all dump soils than on the control area.

Cellulase enzyme showed negative correlation with zinc ( $r = -0.76$ ) and cadmium ( $r = -0.53$ ). Invertase enzyme is inhibited by lead ( $r = -0.49$ ) and cadmium ( $r = -0.55$ ). Phosphatase enzyme is in negative correlation with cadmium ( $r = -0.62$ ). In case of dehydrogenase enzyme and cadmium,

negative correlation ( $r = -0.73$ ) is not effective. According to Moreno et al. (2000), Cd inhibits the dehydrogenase enzyme activity, even when large amount of organic matters is available in the soil. According to our results, the enzyme activity of all the dump soils is higher than that of the control area; however, distribution of organic matters is not homogenous on the dump sites. Dehydrogenase enzyme activity is correlated with the total number of chemoorganotrophic microorganisms. This explains the high dehydrogenase activity of dump soils, which is higher than on the control area, in spite of the available organic matters and the high cadmium content.

### 7.3.5. PLFA analysis

Results of PLFA analysis are in conformity with the results of the conventional culturing methods. On the contaminated sites (Beregsurány 79.35%; Gelénes 76.13%; Beregdaróc 58.35%), percentage of biomarker fatty acids, which indicates the presence of Gram-positive bacteria, is significantly higher than on the control area (44.73%). Dump soils are characterized by Gram positive bacteria and dominated by *Bacillus* genus, which has more effective survival ability.

In case of Gram negative bacteria, inverse tendency can be shown. Highest values were measured on the control area (21.35%), which is significantly higher than the results of larger dump sites (Beregsurány 4.25%; Gelénes 6.36%). Results of Beregdaróc (14.21%) are significantly different from the two other sites and do not exceed the control value.

Relative amount of biomarker fatty acids, which indicates the presence of *Actinomycetes* family, does not show significant differences (Beregdaróc 4.25%; Beregsurány 2.05%; Gelénes 3.25%), while control value is significantly higher (9.12%).

The same tendency can be observed in case of fungi: the highest value was measured on the control site (4.61%), while results of the three dump sites (Gelénes 1.70%; Beregsurány 1.54%; Beregdaróc 1.99%) do not show significant differences.

Fungal/bacterial ratio can be given by the help of fungal biomarkers and bacterial fatty acid biomarkers. This ratio is outstandingly high on the control area (0.0699). Results of dump soils do not show significant differences (Beregdaróc 0.0270, Beregsurány 0.0184, Gelénes 0.0209), however these are remarkably lower than results of the control area. In dump soils, the decreasing number of fungi can be explained by the

increasing intensity of disturbance. On these sites, motor-vehicle traffic and disturbing of the soil have negative effect on the development of fungal mycelia. Fungi are also sensitive to the heavy metal content of the soil.

Environmental stress is indicated by the increased ratio of trans/cis isomers of 16:1 $\omega$ 7 and 18:1 $\omega$ 7 fatty acids in the bacterial cell membranes. Trans/cis isomer ratio of 16:1 $\omega$ 7 and 18:1 $\omega$ 7 fatty acids is higher in the dump soils than on the control area. In case of 16:1 $\omega$ 7, trans/cis isomer ratio is significantly higher in the samples of Gelénes (2.5601) and Beregsurány (2.4323) than in case of Beregdaróc (1.9235) and the control area (1.6449). In case of 18:1 $\omega$ 7 fatty acid, trans/cis isomer ratio is significantly higher in dump soils (Beregdaróc 1.1044; Beregsurány 1.1114; Gelénes 1.1254) than in control samples (0.5886).

### 7.3.6. Cluster analysis

To reveal the similarities, we clustered the results of the four different sampling sites with cluster analysis of the average values of the principal components. The basis of the comparison was the microbial community structure which was resulted from the PLFA analysis. According to the dendrogram, the largest similarity can be observed between the samples of Beregsurány and Gelénes, while Beregdaróc is different from the two previous sampling sites. All three sampling sites are considerably different from the control area.

Cluster analysis of principal component weights was also carried out to determine the fatty acids which characterize the sampling sites. Control area is characterized by the fatty acids of Gram-negative bacteria (cy17:0, cy19:0, C17:0, C18:1 $\omega$ 7c, C18:1 $\omega$ 7t), the two fatty acid biomarkers of *Actinomyces* (10Me17 and 10Me16) and the fungal biomarker (18:2 $\omega$ 6). Besides Gram-negative bacterial biomarkers (16:1 $\omega$ 7t and 16:1 $\omega$ 7c) and Gram-positive fatty acid biomarkers (i-15:0), samples of Beregdaróc are characterized by the third *Actinomyces* biomarker fatty acid (10Me18). Biomarker fatty acids of Gram-positive bacteria are distributed between the sampling sites of Gelénes and Beregsurány. The a-17:0, i-16:0 and C15:0 fatty acids can be found mostly in the samples of Gelénes, while a-15:0, i-16:1 and i-17:0 fatty acids are mainly found in the samples of Beregsurány.

Modifications in the PLFA patterns of contaminated areas can be explained by both the changes in the composition of microbial

communities and the changes of environmental conditions, which modify the fatty acid composition of bacterial cell membranes. During our examinations, we also compared the fatty acid composition of *Bacillus* stocks of the different sampling sites. Within a given species, there are significant differences among the stocks of different sampling sites ( $p < 0.05$ ). Considering the differences, a wide range of fatty acids could be observed both qualitatively and quantitatively. Presence of a given fatty acid depends on the given species as well as the dump site. Stocks of a given species show relationship on the basis of fatty acid composition; however fatty acid profiles change under the influence of environmental factors. Besides genetic conditions, fatty acid composition of bacteria is determined by the contaminants and toxic materials of dump sites as well as the easily available nutrients of the environment.

Frostegård et al. (1993/b) published analogous results. Changes in the fatty acid profile of bacteria can modify the function and pathogenicity of a given species. As a consequence of modified fatty acid composition, bacteria of contaminated areas form more visible colonies during the dispersion on agar-agar lamellae. Therefore, unpolluted areas can be described with lower total number of bacteria (CFU) than polluted areas, during the dispersion.

By the help of these modifications, bacteria can adapt to the changes of the environment. Modified microflora of the contaminated sites may influence the soil status in case of recultivation. Considering the homeostasis of the soil, diversity of microorganisms and the role and function of a given species in matter cycles are important factors. Such essential soil functions as the carbon and nitrogen cycle or the transformation of organic matters are based on the bacterial processes (Parkinson and Coleman, 1991). Therefore, changes in the fatty acid composition of bacteria can indicate such environmental load on soils as heavy metal contamination, waste deposition and organic pollutants, etc.

Phospholipid fatty acids as biomolecules of soil microorganisms can be properly determined quantitatively. As a consequence of the fast turnover, these fatty acids qualitatively and quantitatively characterize the given microbial community. PLFA have high indicational value in describing and monitoring of microbial communities, under both physiological and stress conditions. However, PLFA biomarker analysis has several restrictions, which limit its application on both local and global levels. Database for the evaluation of biomarkers is based on fatty acids which are derived from pure cultures. For the sake of the long-term application of PLFA method in environmental monitoring, it is necessary

to complete the PLFA database with fatty acid profiles of bacteria which are derived from natural sources. Calibration of stress biomarkers in different ecological systems and different soil types, under different climatic conditions is a huge challenge for the future on both national and international levels.

The following conclusions are considered to be new scientific results:

- Proportions of *Actinomices* and *Pseudomonas* genres decreased, while proportion of *Bacillus* genus increased under the influence of contaminations.
- Wastes modified the soil enzyme activities and considerably decreased the cellulase, phosphatase and invertase activities, while dehydrogenase activity increased as compared to the control area.
- Different soil pollutions lead to qualitative and quantitative changes in the composition of soil microbial communities.
- Quantity of biomarker fatty acids, which indicates Gram-positive bacteria, is significantly higher on dump sites than in unpolluted areas.
- Quantity of biomarker fatty acids, which indicates Gram-negative bacteria, *Actinomycetes* and fungi, decreases on dump sites.
- Fungal/bacterial ratio decreases in the soil as a consequence of waste deposition and treatment.
- Trans/cis isomer ratio of 16:1 $\omega$ 7 and 18:1 $\omega$ 7 fatty acids increases in the dump soils.
- Modifications in the PLFA patterns of contaminated areas can be explained by both the changes in the composition of microbial communities and the changes of environmental conditions, which modify the fatty acid composition of bacterial cell membranes.

## 8. Irodalom

- Abdel-Yussif, R.M., Zinchenko, V.A., Gruzdev, G.S. 1976. The effect of nematocides on the biological activity of soil. *Izv. Timirjazev. Selskohoz. Akad.* 1. 206-216.
- Allison, S.D., Vitousek, P.M. 2005. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient input. *Soil Biology and Biochemistry* 37. 937-944.
- Amann, R.I. 1995. In situ identification of micro-organism by whole cell hybridization with rDNA-target nucleic acid probes 3.3.6: 1-15. In: *Molecular Microbial Ecology Manual* (Eds. Akker-Mans, A.D.L., Elsas, J.D. de Bruijn, F.J.) Kluwer Acad. Publ. Dordrecht.
- American Academy of Microbiology, 2002. *Microbial ecology and genomics: a crossroads of opportunity. A Report from the American Academy of Microbiology.* ASM Press, Washington, D.C.
- Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. 1992. Soil bacterial biomass, activity phospholipid fatty acid pattern, and pH tolerance in an area polluted with alkaline dust deposition. *Appl. Environ. Microbiol.* 58. 4026-4031.
- Atlas, R.M. 1984. Use of microbial diversity measurements to assess the environmental stress. In: *Current Perspectives in Microbial Ecology* (Eds. Klug, M.J. and Reddy, C.A.), American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Bååth, E. 1989. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations: a review. *Water Air Soil Pollut.* 47. 335-379.
- Bååth, E., Frostegård, Å., Fritze, H. 1992. Soil bacterial biomass, activity, phospholipid fatty acid pattern, and pH tolerance in an area polluted with alkaline dust deposition. *Appl. Environ. Microbiol.* 58. 4026-4031.
- Bååth, E., Frostegård, A., Pennamen, T., Fritze, H. 1995. Microbial community structure and pH response in relation to soil organic matter quality in wood ash fertilized, clearcut or burned coniferous forest soil. *Soil Biol. Biochem.* 27. 229-240.
- Bååth, E., Anderson, T.H. 2003. Comparison of soil fungal/bacterial ratio in a pH gradient using physiological and PLFA based techniques. *Soil Biol. Biochem.* 35. 955-963.
- Balkwill, D.L., Leach, F.L., Wilson, T.J., McNabb, J.F., White, D.C. 1988. Equivalence of microbial biomass measures based on membrane lipid and cell wall components, adenosine triphosphate, and direct counts in the subsurface aquifer sediments. *Microbiol. Ecol.* 16. 73-84.
- Bardgett, R.D., Leemans, D.K., Cook, R., Hobbs, P.J. 1997. Seasonality of the soil biota of grazed and ungrazed hill grassland. *Soil. Biochem.* 29. 1285-1294.
- Bardgett, R.D., McAlister, E. 1999. The measurement of soil fungal: Bacterial-biomass ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grassland. *Biol. Fertil. Soils* 29. 282-290.
- Bardgett, R.D., Jones, A.C., Jones, D.L., Kemmitt, S.J., Cook, R., Hobbs, P.J. 2001. Soil microbial biomass community patterns related to the history and intensity of grazing in sub-montane ecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 33. 1653-1664.

- Barnhart, C. L., Vestal, R. 1983. Effect of environmental toxicant on metabolic activity of natural microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 46. 970-977.
- Bartholomev, J. W., Mittwer, T. 1950. A simplified bacterial spore stain. *Stain Tech.* 25. 153-154.
- Baruah, M., Mishra, R.R. 1984. Dehydrogenase and urease activities in rice field soils. *Soil Biol. Biochem.* 16. 423-424.
- Beare, M.H., Parmlee, R.W., Hendrix, P.F., Cheng, W., Coleman, D.C., Crossley, Jr. D.A. 1992. Microbial and faunal interactions and effects on litter nitrogen and decomposition in agroecosystems. *Ecol. Monogr.* 62. 569-591.
- Belyaeva, O.N., Haynes, R.J., Birokuva, O.A. 2005. Barley yield and soil microbial and enzyme activities as affected by contamination of two soils with lead, zinc or copper. *Biol. Fert. Soils.* 41. 85-94.
- Borie, F., Fuentealba, R. 1982. Biochemistry of volcanic ash soils. 2. Urease activity. *Agricultura-Tecnica.* 42. 135-142.
- Borjesson, G., Sundh, I., Tunlid, A., Svensson, B.H. 1998. Methane oxidation in lés fill cover soils as revealed by potential oxidation measurements and PLFA analysis. *Soil Biol. Biochem.* 30. 1423-1433.
- Borsy, Z. 2007. *Általános Természetföldrajz. Nemzeti Tankönyvkiadó.*
- Brookes, P.C. 1995. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biol. Fert. Soils.* 19. 269-279.
- Burns, R.G., 1978. *Soil Enzymes.* Academic Press, London.
- Calderson, F., Jackson, L.E., Scow, K.M., Rolston, D.E. 2000. Microbial responses to simulated tillage in cultivated and uncultivated soils. *Soil Biol. Biochem.* 32. 1547-1559.
- Calderson, F., Jackson, L.E., Scow, K.M., Rolston, D.E. 2001. Short term dynamics of nitrogen, microbial activity and phospholipid fatty acids after tillage. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65. 118-126.
- Capone, D.G., Reese, D., Kiene, R.P. 1983. Effects of metals on methanogenesis, sulfate reduction, carbon dioxide evolution, and microbial biomass in anoxic salt marsh sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 45. 1586-1591.
- Carbonell, G., Gómez, Pro, J., Babín, N., Fernandez, M.M., Alonso, C.E., Tarazona, J.V. 2009. Sewage sludge applied to agricultural soil: Ecotoxicological effects on representative soil organism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, (In press).
- Chander, K., Brookes, P. 1991. Microbial biomass dynamics during the decomposition of glucose and maize in metal-contaminated and not-contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry*(Oxford) 23. 917-925.
- Chaudhary, A., Kaur, A., Choudhary, R., Kaushik, R. and Kalra, N., 2005/a. Impact of pesticides on temporal dynamics of microbial community signatures in rice crop of India – a field study. *Agric. Ecol. Environ.* 108. 175-290.
- Chaudhary, A., Aggarwal, N., Gupta, R.K., Jaggi, S., Kaur, A., Choudhary, R., Kalra, N. 2005/b. Spatial and temporal variation of microbial community structure function in rice fields with different management practices. *FEMS Microbiol. Ecol.* 54. 167-178.

- Chen, C.R.-Condron, L.M.-Davis, M.R.-Sherlock, R.R. 2000. Effect of afforestation on phosphorus dynamics and biological properties in a New Zealand grassland soil. *Plant and Soil*. 220. 151-163.
- Dahlin, S., Witter, E., Martensson, A., Turner, A., Bååth, E. 1997. Where is the limit? Changes in the microbiological properties of agricultural soils at low levels of metal contamination. *Soil Biol. Biochem.* 29. 1405-1415.
- Dar, G.H. 1995. Impact of nickel and sewage sludge on soil microbial biomass and enzyme activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. India.* 65. 385-391.
- Dar, G.H. 1996. Effect of cadmium and sewage-sludge on soil microbial biomass and enzyme activities. *Bioresource Technology.* 56. 141-145.
- Dazzo, F.B., Wright, S.F. 1995. Production of anti-microbial antibodies and their use in immunofluorescence microscopy. In: *Molecular Microbial Ecology Manual* (Eds.: Akker-Mans, A.D.L., Elsas, J.D. & de Bruijn, F.J.) 4. 1.2: 1-27. Kluwer Acad. Publ. Dordrecht.
- Degens, B.P., Schipper, L.A, Sparling, G.P., Duncan, L.C. 2001. Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance? *Soil. Biol. Biochem.* 33. 1143-1153.
- Deng, S., Tabatabai, M.A. 1995. Cellulase activity of soils: effects of trace elements. *Soil Biology and Biochemistry.* 27. 977-979.
- Dick, W. A. and Tabatabai, M. A., 1992. Significance and potential uses of soil enzymes. In: Blain, F.J. (Ed.: Marcel Dekker) 95-127. *Soil Microbial Ecology Application in Agricultural and Environmental Management*. New York.
- Diefenbach, R., Keweloh, H. 1994. Synthesis of trans unsaturated fatty acids in *Pseudomonas putida* P8 by direct isomerization of the double bond of lipids. *Arch. Microbiol.* 162. 120-125.
- Dkhar, M.S., Mishra, R.R. 1983. Dehydrogenase and urease activities of maize (*Zea mays* L.) field crops. *Plant and Soil* 70. 327-333.
- Eash, N. S., Stahl, P. D., Parkin, T. B. and Karlen, D. L., 1996. A simplified method for extraction of ergosterol from soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60. 468-471.
- Ekenler, M., Tabatabai, M.A. 2002. Effects of trace elements on  $\beta$ -glucosaminidase activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry.* 34. 1829-1832.
- Federle, T.W., 1986. Microbial distribution in soil – new techniques. In: *Perspectives in Microbial Ecology*. (Eds.: Megusar, F. & Ganthar, M.) 493-498. Slovenian Society for Microbiology. Ljubljana.
- Fierer, N., Schimel, J.P. & Holden, P. A., 2003. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biol. Biochem.* 35. 167-176.
- Findlay, R.H. 1996. The use of phospholipid fatty acids to determine microbial community structure. In: *Molecular Microbial Ecology Manual* (Eds. Akkermans, A.D.L., Van Elsas, J.D. and de Bruijn, F.), pp. 4.1.4/1-4.1.4/17. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Frankenberger, W.T., Johanson, J.B. 1983. Factors affecting invertase activity in soils. *Plant and soil.* 74. 313-323.
- Fouchard, S., Adbellaoui-Maane, Z., Boulanger, A., Lopiz, P., Neunlist, S. 2005. Influence of growth conditions on *Pseudomonas fluorescens* strains: A link

- between metabolite production and the PLFA profile. FEMS Microbiology Letters. 251. 211-218.
- Fritze, H., Pennanen, T. & Vanhala, P., 1997. Impact of fertilizer on the humus layer microbial community of Scots Pine stands growing along a gradient of heavy metal pollution. In: Microbial Communities – Functional versus Structural Approaches. (Eds.: Insam, H. & Rangger, A.) 68-83. Springer. New York.
- Frostegård, Å., Turnlid, A., Bååth, E. 1993/a. Phospholipid fatty acid composition, biomass and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metal. Appl. Environ. Microbiol. 59. 3605–3617.
- Frostegård, A., Tunlid, A., Baath, E., 1993/b. Phospholipids fatty acid composition, biomass and activity of microbial communities from two soil types exposed to different heavy metals. Soil Biol. Biochem. 25. 723–730.
- Frostegård, Å., Turnlid, A., Bååth, E. 1996. Changes in microbial community structure during long-term incubation in two soils experimentally contaminated with metals. Soil Biol. Biochem. 28. 55–63.
- Frostegård, Å., Bååth, E. 1996. The use of phospholipids analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. Biol. Fertil. Soils. 22. 59-65.
- Fu, J.H., Li, F.L., Liu, C.Q., Fan, G.N. 1998. Preliminary approach of the effect of soil management on soil enzyme activities in red soil of young orchard. Jour. Of Fujian Academy of Agricultural Science. 13. 23-28.
- Fu, M.H., Tabatabai, M.A. 1989. Nitrate reductase activity in soils: effects of trace elements. Soil Biology and Biochemistry. 21. 943-946.
- Galsztjan, A.S. 1978. Predelnie aktivnoszti fermentov pocsv. Armjanszkoj SZSZR, Naucsno iszszledovatelszkij inszstitut pocsvovedenija i agrohimiji, Jerevan. 19-28
- Garcia, C., Hernandez T., Costa F. 1997. Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. Communications in soil science and plant analysis. 28. 123-134.
- Garcia-Gil, J.C., Plaza, C., Soler-Rovira, P., Polo, A. 2000. Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. Soil Biology and Biochemistry. 32. 1907-1913.
- Gillan F.T., Hogg, R.W. 1984. A method for the estimation of bacterial biomass and community structure in mangrove-associated sediments. J. Microbiol. Methods. 2. 275–293.
- Gong, P., Sun, T.H., Beudert, G., Hahn, H.H. 1997. Ecological effects of combined organic or inorganic pollution on soil microbial activity. Wat. Air Soil Poll. 96. 133-143.
- Graham, J.H., Hodge, N.C., Morton, J.B. 1995. Fatty acid methyl ester profiles for characterization of *Glomalean* fungi and their endomycorrhizae. Appl. Environ. Microbiol. 61. 58–64.
- Griffiths, B.S., Ritz, K., Ebbelwhite, N., Dobson, G. 1999. Soil microbial community structure: effects of substrate loading rates Soil Biol. Biochem. 31. 145–153.
- Guckert, J., Antworth, C. Nichols, P., White, D. 1985. Phospholipid ester-linked fatty acid profiles as reproducible assays for changes in prokaryote community structure of estuarine sediments. FEMS Microbiol. Ecol. 31. 147–158.

- Guckert, J.B., Hood, M.A., White, D.C. 1986. Phospholipid ester-linked fatty acid profile changes during nutrient deprivation of *Vibrio cholerae*: increases in the trans/cis ratio and proportions of cyclopropyl fatty acids. *Appl. Environ. Microbiol.* 52. 794-801.
- Guckert, J. B., Ringelberg, D.B. White, D.C., Hanson, R.S., Bratina, B.J. 1991. Membrane fatty acids as phenotypic markers in the polyphasic taxonomy of methylotrophs within the Proteobacteria. *J. Gen. Microbiol.* 137. 2631-2641.
- Haack, S.K., Garchow, H., Odelson, D.A., Forney, L.J., Klug, M.L. 1994. Accuracy, reproducibility, and interpretation of fatty acid methyl ester profiles of model bacterial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 60. 2483-2493.
- Haanastra, L., Doelman, P. 1991. An ecological dose-response model approach to short- and long-term effects of heavy metals on arylsulphatase activity in soil. *Biol. Fertil. Soils.* 11. 18-23.
- Halbritter, A., Uzinger, N. 2005. A talaj-mikrobióta vizsgálata foszfolipidek alapján. I. Szükségesség és alkalmazási lehetőségek. *Agrokémia és talajtan.* 54. 257-576.
- Hargreaves, P., Brookes, R., Ross, P.C., Poulton, P.R. 2003. Evaluating soil microbial biomass carbon as an indicator of longterm environmental change. *Soil Biol. Biochem.* 35. 401-407.
- Harris, J.A., Bentham, H., Birch, P. 1991. Soil microbial community provides index to progress, direction of restoration. *Restoration Manage. Notes* 9. 133-135.
- Hattori, H. 1991. Influence of cadmium on decomposition of glucose and cellulose in soil. *Soil Science and Plant Nutrition (Tokyo)* 37. 39-45.
- Heipieper, H.J., Löffeld, B., Keweloh, H., de Bont, J. A. M. 1995. The trans/cis isomerization of unsaturated fatty acids in *Pseudomonas putida* S12 an indicator for environmental stress due to organic compounds. *Chemosphere.* 30. 1041-1051.
- Heipieper, H.J., Meulenbeld, G., Oirschot, Q.V., de Bont, J.A.M. 1996. Effect of environment factors on trans/cis ratio of unsaturated fatty acids in *Pseudomonas putida* S12. *Appl. Environ. Microbiol.* 62. 2773-2777.
- Helmecezi, B. 1965. Az *Azotobacter chroococcum* felhasználási lehetőségei a mezőgazdaságban. *Kandidátusi értekezés.* 415. p.
- Hinojosa, M.B., Carreira, J.A., García-Ruíz, R., Dick, R.P. 2004a. Soil moisture pre-treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal-contaminated and reclaimed soils. *Soil Biol. Biochem.* 36. 1559-1568.
- Hinojosa, M.B., García-Ruíz, R., Viñegla, B., Carreira, J.A. 2004b. Microbiological rates and enzyme activities as indicators of functionality in soils affected by the Aznalcóllar toxic spill. *Soil Biol. Biochem.* 36. 1637-1644.
- Hinojosa, M.B., Carreira, J.A., García-Ruiza, R., Dick, R.P. 2005. Microbial Response to Heavy Metal-Polluted Soils *J Environ Qual.* 34. 1789-1800
- Hiroki, M. 1992. Effects of heavy metal contamination on soil microbial population. *Soil Sci. Plant Nutr. (Tokyo)* 38. 141-147.
- Hitchcock, C., 1984. Structure and distribution of plant acyl lipids. pp. 1-19. In: *Recent Advances in the Chemistry and Biochemistry of Plant Lipids* (Eds. Gilliard, T. and Mercer, E. I.), Academic Press, London.

- Hoitink, H.A.J., Kutar, G.A., 1986. Effects of compost in growth media on soil borne pathogens. In: Chen, Y., Avnimelech, Y. (Eds.), *The Role of Organic Matter in Modern Agriculture*. martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 289-306.
- Hortobágyi, T., Simon, T. 2000. *Növényföldrajz, társulástan és ökológia*. Nemzeti Tankönyvkiadó. Budapest.
- Huang, Q, Shindo, H. 2000. Effects of copper on the activity and kinetics of free and immobilized acid phosphatase. *Soil Biology and Biochemistry*. 32. 1885-1892.
- Hucker, G. J., 1922. Comparison of various methods of Gram staining. *Abstr. Bact.* 6. 2-8.
- Hugh, R. & Leifson, F. I., 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrate, by various Gram negative bacteria. *Journal of Bacteriologie*. 66. 21-28.
- Hutchinson, T. C., Symington, M.S. 1997. Persistence of metal stress in a forested ecosystem near Sudbury, 66 years after closure of the O'Donnell roast bed. *J. Geochem. Explor.* 58. 323-330.
- Ibekve, A.M., Kennedy, A.C. 1998. Fatty acid methyl ester (FAME) profiles as a tool to investigate community structure of two agricultural soils. *Plant Soil*. 206. 151-161.
- Insam, H., Domsch, K.H. 1988. Relationship between soil organic carbon and microbial biomass on chronosequences of reclamation sites. *Microb. Ecol.* 15. 177-188.
- Jandl, G.P., Leinweber, H., R. Schulten, Eusterhues, K. 2004. The concentration of fatty acids in organo-mineral particle-size fractions of a Chernozem. *European J. Soil Sci.* 55. 459-469.
- Jenkinson, D.S., Powlson, D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* 8. 209-213.
- Jonas, R.B., Gilmour, C.G., Stoner, D.L., Weir, M.M., Tuttle, J.H. 1984. Comparison of methods to measure acute metal and organometal toxicity to natural aquatic microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 47. 1005-1011.
- Kabir, Z., O'Halloran, I., Hamel, C., 1999. Combined effects of soil disturbance and following on plant and fungal component of mycorrhizal (*Zea mays* L.). *Soil Biol. Biochem.* 31. 307-314.
- Kandeler, E., Kampichler, C., Horak, O. 1996. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biol. Fertil. Soils* 23. 299-306.
- Kátai, J.-Veres, E. 2001. Some physical, chemical and microbial features grasslands and the rhizosphere effects of grasses. *Analele Universitatii din Oradea*. Tom VII. Partea I. 45-54.
- Kátai, J.-Veres, E.-Lazanyi, J. 2002. Data to the microbiological characterization of Westsik's crop rotation experiment. Long-term experiments, regional production, rural development. Part I. 213-219.p.
- Kátai, J.-Veres, E. 2003. Comparing of physical, chemical and microbial Properties of grasslands. *Grassland Management Days, Debrecen* 18. 163-167.
- Kaur, Amrit., Chaudhary, A., Kaur Amarjeet, Choudhary, R., Kaushik, R. 2005. Phospholipid fatty acid- A bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. *Current Science*. 89. 1103-1112.

- Kelly, J.J., Häggblom, M., Tate, R.L. 1999. Changes in soil microbial communities over time resulting from one time application of zinc: A laboratory microcosm study. *Soil Biol. Biochem.* 31. 1455–1465.
- Kelly, J.J., Häggblom, M.M., Tate, R.L. 2003. Effects of heavy metal contamination and remediation on soil microbial communities in the vicinity of a zinc smelter as indicated by analysis of microbial community phospholipid fatty acid profiles. *Biol. Fertil. Soils* 38. 65–67.
- Kelly, J.J., Tate, R.L. 1998. Effects of heavy metal contamination and remediation on soil microbial communities in the vicinity of a zinc smelter. *J. Environ. Qual.* 27. 609–617.
- Khan, S.U. 1970. Enzymatic activity in a grey mooded soil as influenced by cropping systems and fertilizers. *Soil. Biol. Biochem.* 2. 137-139.
- Khan, M., Scullion, J. 2000. Effects of soil on microbial responses to metal contamination. *Environmental Pollution.* 110. 115-125.
- Kieft, T.L., Ringelberg, D.B., White, D.C. 1994. Changes in esterlinked phospholipid fatty acid profiles of subsurface bacteria during starvation and desiccation in a porous medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 60. 3292–3299.
- Kieft, T.L., Wilch, E., O'Connor, K., Ringelberg, D.B., White, D.C. 1997. Survival and phospholipid fatty acid profiles of surface and subsurface bacteria in natural sediment microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 63. 1531–1542.
- Klamer, M., Baath, E. 1998. Microbial community dynamics during composting of straw material studied using phospholipid fatty acid analysis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 27. 9–20.
- King, J.D., White, D.C., Taylor, C.W. 1977. Use of lipid composition and metabolism to examine structure and activity of estuarine detrital microflora. *Appl. Environ. Microbiol.* 33. 1177-1183.
- Konopka, A., Zakharova, T., Bischoff, M., Oliver, L., Nakatsu, C., Turco, R. F. 1999. Microbial biomass and activity in lead-contaminated Soil . *Applied and Environmental Microbiology.* 65. 2256-2259.
- Kovács, N. 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature London.* 178. 700-706.
- Kovács, G. 1990. Catalase activity- an indicator of biological activity in forest soil. *Agrokémia és Talajtan.* 39. 439-443.
- Kovalick, W. 1992. Perspectives on risks of soil pollution and experience with innovative remediation technologies, p. 281-295. In *Strategies 2000. Proceedings of the 4th World Congress of Chemical Engineering.* Dechema, Frankfurt, Germany.
- Kramer, M., Erdei, G., 1959. Application of the method of phosphatase activity determination in agricultural chemistry. *Soviet Soil Sci.* 9. 1100-1103.
- Kroppenstedt, R. M. 1992. The genus *Nocardopsis*. In: *The Prokaryotes 2* (Eds. Balows, A. et al., ) 1139-1156. Springer. New York.
- Kuperman, R. G., Carreiro, M.M. 1997. Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grasslandecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 29. 179-190.

- Lechevalier, M.P. 1977. Lipids in bacterial taxonomy—A taxonomist's view. *Crit. Rev. Microbiol.* 5.109–210.
- Lee, I.S., Kim O.K., Chang, Y.Y., Bae, B., Kim, H.H., Baek, H.K. 2002. Heavy metal concentrations and enzyme activities in soil from a contaminated Korean shooting range. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 94: 406-411.
- Lee, I.S., Kyung, K.O., Chang, Y.Y., Bae, B., Kim, H.H., Baek, K.H. 2006. Heavy metal concentrations and enzyme activities in soil from a contaminated Korean shooting range. *J Biosci Bioeng.* 22. 406-11
- Lei, F., Van der Gheynst, J.S., 2000. The effect of microbial inoculation and pH on microbial community structure changes during composting. *Process Biochemistry.* 35. 923-929.
- Liu, S.Q. 1996. The relation between soil Pb, Cd and soil enzyme activities in sewage irrigation area of baoding. *Journal of Soil Science.* 33. 175-182.
- Maarit Niemi, R., Ahtiainen, J., Sarjakoski, T., Schultz, E., Vanhala, P. 1998. Impact of airborne metal pollution on microbial community structure in coniferous soil. Biodiversity and decision making: biological and socio-economic perspectives. Aug. 24-26. Poster abstract.
- Macalady, J.L., Fuller, M.E., Scow, K.M. 1988. Effects of metham sodium fumigation on soil microbial activity and community structure. *J. Environ. Qual.* 27. 54–63.
- Mamatha, G.-Jayanthi, S.-Bagyaraj, D.J.-Suresh, C.K. 2001. Microbial and enzymatic analysis from sandal root zone soil growing in red sandy loam. *Indian Journal of Microbiology.* 41. 219-221.
- Marzadori, C., Ciavatta, C., Montecchio, D. 1996. Effects of lead pollution on different soil enzyme activities. *Biology and Fertility of Soils.* 22. 53-58.
- Merila, P., Stromner, R. Fritze, H. 2002. Soil microbial activity and community structure along a primary succession transect on the lés uplift coast in western Finland. *Soil Biol. Biochem.* 34. 1647–1654.
- Mersi Von W., Scinner, F. 1991. An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with iodonitrotetrazolium chloridr. *Biology and Fertility of Soils.* 11. 216-220.
- Mikanova, O., Kubat, J., Mikhailovskaya, N., Vörös, I., Bíró, B. 2001. Influence of heavy metal pollution on some soil-biological parameters in the alluvium of the Litavka river. *Rostlinna Vyroba* 47. 117-122.
- Mikanova, O., Kubat, J., Novakova, J. 2002. Some microbiological characteristics and enzymatic activities in soils polluted with heavy metals. 17 th WCSS 14-21 August, 2002 Thailand 792: 1-7.
- Moller, H. (1979): Saccharase and urease content of peat and muick soils in north-west German alder-communities. *Thema* 9175-192.
- Moreno, J.L., Garcia, C., Landi, L., Falchini, L., Pietramellara, G., Nannipieri, P. 2001. The ecological dose values (ED50) for assessing Cd toxicity on ATP content and dehydrogenase and urease activities of soil. *Soil. Biology and Biochemistry.* 33. 483-489.
- Moreno, J.L., Garcia, C., Hernandez, T. 2003. Toxic effect of cadmium and nikkel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge. *Eur. L. Soil. Sci.* 54. 377-386.

- Moreno, J.L., Bastida, F., Ros, M., Hernandez, T., Garcia, C. 2009. Soil organic carbon buffers heavy metal contamination on semiarid soils: Effects of different metal threshold levels on soil microbial activity. *European Journal of Soil Biology*, (In press)
- Mu, J.M. 1997. Effect of different crop stubbles remaining in field on soil enzyme activity. *Journal of Jilin Agricultural University*. 19. 65-69.
- Mummey, D.L., Stahl, P.D., Buyer, J.S. 2002. Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine reclamation. *Appl. Soil Ecol.* 21. 251–259.
- Nannipieri, P. 1994. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution, In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R., Grace, P.R. (eds.), *Soil Biota, Management in Sustainable Farming Systems*, CSIRO Publications, Australia. pp. 238-244.
- Nannipieri, P., Sequi, P., Fusi, P. 1996. Humus and enzyme activity, In: Piccolo, A. (eds.), *Humic Substance in Terrestrial Ecosystems*, Elsevier Science, Oxford. pp. 293-328.
- Neher, D.A., 2001. Role of nematodes in soil health and their use as indicator. *J. Nematol.* 33. 161–168.
- Nichols, P.D., Smith, G.A., Antworth, C.P., Hanson, R.S. White, D.C. 1985. Phospholipid and lipopolysaccharide normal and hydroxyl fatty acids as potential signatures for the methaneoxidizing bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 31. 327–335.
- Nichols, P., Stulp, B.K., Jones, J.G., White, D.C. 1986. Comparison of fatty acid content and DNA homology of the filamentous gliding bacteria *Vitreoscilla*, *Flexibacter*, and *Filibacter*. *Arch. Microbiol.* 146. 1–6.
- O'Leary, W.M., Wilkinson, S.G. 1988. Gram-positive bacteria, p. 117-185. In: Ratledge, C., Wilkinson, S.G. (eds.), *Microbial lipids*, vol. 1. Academic Press, London.
- Oliveira, A., Pampulha, M.A. 2006. Effects of long-term heavy metal contamination on soil microbial characteristics. *J Biosci Bioeng.* 102. 157-61.
- Olsson, P.A., Baath, E., Jakobsen, I. 1997. Phosphorus effects on the mycelium and storage structures of an arbuscular mycorrhizal fungus as studied in the soil and roots by analysis of fatty acid signatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 63. 3531–3538.
- Olsson, P.A. 1999. Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 12. 303–310.
- Parham, J.A., Deng, S.P., Raun, W.R., Johnson, G.V. 2002. Long-term cattle manure application in soil. Effect on soil phosphorus levels, microbial biomass C, and dehydrogenase and phosphatase activities. *Biology and Fertility of Soils.* 35. 328-337.
- Parker, J.H., Smith, G.A., Fredrickson, H.L., Vestal, J.R., White, D.C. 1982. Sensitive assay based on hydroxy fatty acids from lipopolysaccharide lipid A, for Gram-negative bacteria in sediments. *Environ. Microbiol.* 44. 1170–1177.
- Parkes, R.J., 1987. Analysis of microbial communities within sediments using biomarkers. In: *Ecology of Microbial Communities*. (Eds. Flatscher, M., Gray, T.M.G., Johns, G.) 147-177. Cambridge university Press. London.

- Parkinson, D., Coleman, D.C., 1991. Microbial communities, activity és biomass. *Agric. Ecosyst. Environ.* 34. 3–33.
- Pascual, J.A., Moreno, J.L., Hernández, T., Garcia, C. 2002. Persistence of immobilised and total urease and phosphatase activities in a soil amended with organic wastes. *Bioresource Technology*. 82. 73-78.
- Pascual, I., Antolín, M.C., Garcia, C., Polo A., Díaz, M.S. 2007. Effect of water deficit on microbial characteristics in soil amended with sewage sludge or inorganic fertilizer under laboratory conditions. *Bioresource Technology* 98. 29-37.
- Pennanen, T., Frostegård, Å., Fritze, H., Bååth, E., 1996. Phospholipid fatty acid composition and heavy metal tolerance of soil microbial communities along two heavy metal-polluted gradients in coniferous forest. *Appl. Environ. Microbiol.* 62. 420–428.
- Pennanen, T., Fritze, H., Vanhala, P., Kiikkila, O., Neuvonen, S., Baath, E. 1998. Structure of a microbial community in soil after prolonged addition of low levels of simulated acid rain. *Appl. Environ. Microbiol.* 64. 2173–2180.
- Perez-de-Mora, A., Burgos, P., Madejon, E., Cabrera, F., Jaeckel, P., Schloter, M. 2006. Microbial community structure and function in a soil contaminated by heavy metals: effects of plant growth and different amendments. *Soil. Biol. Biochem.* 38. 327-341.
- Petersen, S.O., Klug, M.J., 1994. Effects of sieving, storage, and incubation temperature on the phospholipid fatty acid profile of soil microbial community. *Appl. Environ. Microbiol.* 60. 2421-2430.
- Peterson, M., Baath, E. 2003. Temperature-dependent changes in the soil bacterial community in limed unlimed soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 45. 13–21.
- Persson, T., Lundkvist, H., Wiren, A., Hyvonen, R., Wessen, B. 1989. Effects of acidification liming on carbon nitrogen mineralization and soil microorganisms in mor humus. *Water Air Soil Pollut.* 45. 77–96.
- Pietikainen, J., Hiukka, R., Fritze, H. 2000. Does short term heating of forest humus change its properties as a substrate for microbes? *Soil Biol. Biochem.* 32. 277–288.
- Pinkart, H.C., Ringelberg, D.B., Piceno, Y.M., Macnaughton, S.J., White, D.C. 2002. Biochemical approaches to biomass measurements és community structure analysis. p. 101–113. In: Hurst, C.J., Crawford, R.L., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stentzenbach, L.D. (eds.) *Manual of environmental microbiology*. ASM Press, Washington, DC.
- Poll, C., Thiede A., Wermbter N., Sessitsch A., Kandeler E. 2003. Micro-scale distribution of microorganisms and microbial enzyme activities in a soil with long-term organic amendment. *European Journal of Soil Science* 54. 715-724.
- Pramanik, P., Ghosh, G.K., Ghosal P.K., Banik, P. 2007. Changes in organic C, N, P and K and enzyme activities in vermicompost of biodegradable organic wastes under liming and microbial inoculants. *Bioresource Technology*. 98. 2485-2494.
- Quilchano, C.-Maranon, T. 2002. Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. *Biology and Fertility of Soils.* 35. 102-107..
- Rajakaksha, R.M.C.P., Tobor-Kaplon, M.A., Bååth, E. 2004. Metal toxicity affects fungal and bacterial activities in soil differently. *Appl. Environ. Microbiol.* 70. 2966–2973.

- Rajendran, N., Matsuda, O., Imamura, N. Urushigawa, Y. 1992. Variation in microbial biomass and community in the sediments of eutrophic bays as described by phospholipid ester-linked fatty acids. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 562-571.
- Ratledge, C., Wilkinson, S.G., 1988. *Microbial Lipids*. Academic Press. London.
- Rao, D.L.N.-Ghai, S.K. 1985. Urease and dehydrogenase activity of alkali and reclaimed soils. *Australian Journal of Soil Research* 23. 661-665.
- Reber, H.H. 1992. Simultaneous estimates of the diversity and degradative capability of heavy metal affected soil bacterial communities. *Biol. Fertil. Soil.* 13.181-186.
- Reddy, R.U., Reddy, M. S., Jayakumar, G.W.L. 1996. Urease activity in soils of northern Telangana of Andhra pradesh, and its relationship with various soil properties. *Annals of Agricultural Research* 17. 261-264.
- Reddy, G.B., Fazza, A. 1989. Dehydrogenase activity in sewage-sludge amended soil. *Soil. Biol. Biochem.* 21. 327.
- Reichardt, W., Mascarina, G., Padre, B., Doll, J. 1997. Microbial communities of continuously cropped, irrigated rice fields. *Appl. Environ. Microbiol.* 63. 233-238.
- Reinecke, A.J., Viljione, S.A., Saayman, R.J., 1992. The suitability of *Eudrilus eugenie*, *Perionyx excavatus* and *Eisenia fetida* (Oligochaete) for vermicomposting in southern Africa in terms of their temperature requirements. *Soil Biol. Biochem.* 24. 1295-1307.
- Renella, G., Chaudri, A.M., Falloon, C.M., Landi, L., Nannipieri, P., Brookes, P.C. 2007. Effects of Cd, Zn, or boot hon soil microbial biomass and activity in a clay loam soil. *Biol. Fertil. Soils.* 43. 751-758.
- Ringelberg, D.B., Sutton, S., White, D.C. 1997. Biomass, bioactivity and biodiversity: microbial ecology of the deep subsurface: analysis of ester-linked phospholipid fatty acids. *FEMS Microbiology Reviews.* 20. 371-377.
- Ringelberg, D.B., Davis, J.D., Smith, G.A., Pfiffner, S.M., Nichols, P.D., Nickels, J.S., Henson, J.M., Wilson, J.T., Yates, M., Kampbell, D.H., Reed, H.W., Stocksdales, T.T., White, D.C. (1988) Validation of signature phospholipid fatty acids biomarkers for alkaline-utilizing bacteria in soil and subsurface aquifer materials. *FEMS Microbiol. Ecol.* 62. 39-50.
- Ringelberg, D.B., Talley, J.W., Perkins, E.J., Tucker, S.G., Luthy, R.G., Bower, E.J., Fredrickson, H.L., 2001. Succession of phenotypic, genotypic, and metabolic community characteristic during the in-vitro bioslurry treatment of PAH-contaminated sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 67. 1542-1550.
- Roane, T.M., Kellogg, S.T. 1996. Characterization of bacterial communities in heavy metal contaminated soils. *Can. J. Microbiol.* 42. 593-603.
- Said, W.A., Lewis, D.L. 1991. Quantitative assessment of the effects of metals on microbial degradation of organic chemicals. *Appl. Environ. Microbiol.* 57. 1498-1503.
- Samuel, A., Kiss, S.-Sandor, M. 2000. Phosphatase activities in a brown luvic soil. *Studia Universitatis Babes-Bolyai-Biologia.* 45. 91-99.
- Sasser, M. 1990/a. Identification of bacteria through fatty acid analysis. In: *Methods in Phytobacteriology*. (Eds.: Klement Z., Rudolph, K., Sands, D. C.) 199-204.

- Sasser, M. 1990/b. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids. Newark, DE: Microbial ID, 1990 Tech. Note #101...
- Schmidt, I.K., Ruess, L., Baath, E., Michelsen, A., Ekelund, F., Jonasson, S. 2000. Long term manipulation of the microbes és micro fauna of two subarctic heaths by addition of fungicide, bactericide, C and fertilizer. *Soil Biol. Biochem.* 32. 707–720.
- Schinner F., Mersi von W. 1990. Xylanase-, CM-cellulase- and invertase activity in soil, an improved method. *Soil Biol Biochem* 22. 511-515.
- Schlotter, M., Dilly, O., Munch, J.C. 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agric. Ecosyst. Environ.* 98. 255-262.
- Schutter, M., Sandeno, J., Dick, R.P. 2001. Seasonal, soil type, és alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems. *Biol. Fertil. Soils* 34. 397–410.
- Schutter, M.E., Fuhrmann, J.J., 2001. Soil microbial community responses to fly ash amendment as revealed by analysis of whole soils and bacterial isolates. *Soil Biol. Biochem.* 26. 1515–1524.
- Shi, W., Becker, J., Bischoff, M., Turco, R.F., Konopka, A.E. 2002. Association of microbial community composition and activity with lead, chromium and hydrocarbon contamination. *Appl. Environ. Microbiol.* 68. 3859–3866.
- Shillam, L., Hopkins, D.W., Badalucco, L., Laudicina, V.A. 2008. Structural diversity and enzyme activity of volcanic soils at different stages of development and response to experimental disturbance. *Soil Biology and Biochemistry.* 1-4.
- Smith, G.A., Nickels, J.S., Kerberg, B.D., Davis, J.D., Collins, S.P., 1986. Quantitative characterization of microbial biomass és community structure in subsurface material: a prokaryotic consortium responsive to organic contamination. *Can. J. Microbiol.* 32. 104-111.
- Smolders, E., Buekers, J., Olivier, I., McLaughlin, M.J. 2004. Soil properties affecting toxicity of zinc to soil microbial properties in laboratory-spiked and field-contaminated soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 23. 2633-2640.
- Spedding, T.A., Hamel, C., Mehuys, G.R., Madramootoo, C.R., 1994. Soil microbial dynamics and use in maize growing soils under different tillage and residue management systems. *Soil Biol. Biochem.* 26. 499–512.
- Speir, T.W., Ross, D.J., Feltham, C.W., Orchard, V.A., Yeates, G.W. 1992. Assessment of the feasibility of using CCA (copper, chromium and arsenic-) treated and boric acid-treated sawdust as soil amendments. II. Soil biochemical and biological properties. *Plant Soil* 142. 249-258.
- Speir, T.W., Kettles, H.A., Parshotam, A., Searle, P.L., Vlaar, L.N.C. 1995. A simple kinetic approach to derive the ecological dose value, ED50, for the assessment of Cr(VI) toxicity to soil biological properties. *Soil. Biol. Biochem.* 27. 801-810.
- Speir, T.W., Kettles, H.A., Parshotam, A., Searle, P.L., Vlaar, L.N.C. 1999. Simple kinetic approach to determine the toxicity of As(V) to soil biological properties. *Soil. Biol. Biochem.* 31. 705-713.
- Srinivas, D.-Saroja, R.S.-Rao, P.C.-Raman, S. 2000. Influence of plant cover on acid and alkaline phosphatase activity in two soils of andhra Pradesh. *Journal of Research Angraui.* 29. 40-47.

- Stahl, P.D., Williams, S.E., Christensen, M. 1988. Efficacy of native vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi after severe soil disturbance. *New Phytol.* 110. 347–354.
- Stefanovics P., Filep Gy., Füleky Gy. 2005. Talajtan. Mezőgazda Kiadó. Budapest.
- Steffan, R.J., Goksoyr, J., Bej, A.K., Atlas, R.M. 1988. Recovery of DNA from soils and sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 54. 2908-2915.
- Steger, K., Jarvis, Å., Smårs, S., Sundh, I. 2003. Comparison of signature lipid methods to determine microbial community structure in compost. *J. Microbiol. Methods* 55. 371–382.
- Steinberger, Y., Zelles, L., Bai, Q.Y., von Lutzow, M., Munch, J.C. 1999. Phospholipid fatty acid profiles as indicators for the microbial community structure in soils along a climatic transect in the Judean Desert. *Biol. Fertil. Soils* 28. 292–300.
- Stott, D.E., Dick, W.A. Tabatabai, M.A. 1985. Inhibition of pyrophosphatase activity in soils by trace elements. *Soil Science*. 139. 112-117.
- Sundh, I., Borga, P., Nilsson, M., Svensson, B.H., 1995. Estimation of cell numbers of methanotrophic bacteria in boreal peatlands based on analysis of specific phospholipid fatty acids. *FEMS Microbiol. Ecol.* 18. 103–112
- Sundh, I., Nilsson, M., Borga, P., 1997. Variation in microbial community structure in two boreal peatlands as determined by analysis of phospholipid fatty acid profiles. *Appl. Environ. Microbiol.* 63. 1476–1482.
- Supradip, S., Ved, P., Samaresh, K., Narendra, K., Banshi, L.M., 2008. Soil enzymatic activity as affected by long term application of farm yard manure and mineral fertilizer under a rainfed soybean-wheat system. *European Journal of Soil Biology.* 44. 309-315.
- Szabó, I.M. 1986. Az általános talajtan biológiai alapjai. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest. 373.p.
- Szegi, J., 1979. Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest.
- Tollefson, T. S., McKercher, R.B. 1983. The degradation of <sup>14</sup>C-labelled phosphatidyl choline in soil. *Soil Biol. Biochem.* 15. 145-148.
- Torsvik, V. 1995. Cell extraction method. In: *Molecular Microbial Ecology Manual* (Eds. Akker-Mans, A.D.L., Elsas, J.D. de Bruijn, F.J.) 1.3.1: 1-15. Kluwer Acad. Publ. Dordrecht.
- Tunlid, A., White, D.C. 1992. Biochemical analysis of biomass, community structure, nutritional status, and metabolic activity of microbial communities in soil. In: *Soil Biochemistry*. Vol. 7. (Eds.: Stotzky, G., Bollag, J.M.) 229-262. Marcel Dekker. New York.
- Tunlid, A., Baird, B.H., Trexler, M.B., Olsson, S., Findlay, R.H., Odham, G., White, D.C. 1985. Determination of phospholipid ester-linked fatty acids and poly-β-hydroxybutyrate for the estimation of bacterial biomass and activity in the rhizosphere of the rape plant *Brassica napus* (L.). *Can. J. Microbiol.* 31. 1113-1119.
- Turco, R.F., Kennedy, A.C., Jawson, M.D. 1994. Microbial indicators of soil quality. p. 73–99. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Stewart, B.A. (eds.) *Defining soil quality for a sustainable environment*. SSSA Spec. Publ. 35. SSSA, Madison.

- Tyler, G. 1974. Heavy metal pollution and soil enzyme activity. *Plant and Soil*. 41. 303-311.
- Unger-féle cellulózteszt módszer a talajbiológiai aktivitás meghatározására. In: Szegi. 1979. *Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek*. 245-247. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest.
- Vance, E.D., Brookes, P. C., Jenkinson, D.S. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19. 703-707.
- Vestal, J.R., White, D.C. 1989. Lipid analysis in microbial ecology. *Bioscience* 39. 535-541.
- Vives-Rego, J., Vaque, D., Martinez, J. 1986. Effect of heavy metals and surfactants on glucose metabolism, thymidine incorporation and exoproteolytic activity in sea water. *Water Res.* 20. 1411-1415.
- Volkman, J. K., Johns, R.B., 1977. The geochemical significance of position isomers of unsaturated acids from an intertidal zone sediment. *Nature*. 267. 693-694.
- Wander, M.M., Hedrick, D.S., Kaufman, D., Traina, S.J., Stinner, B.R., Kheirmeyer, S.R., White, D.C. 1995. The functional significance of the microbial biomass in organic and conventionally managed soils. *Plant Soil* 170. 87-97.
- Wang, Y., Shi, J., Lin, Q., Chen, X., Chen, Y. 2007. Heavy metal availability and impact on activity of soil microorganism along Cu/Zn contamination gradient. *J. Environ. Sci.* 19. 848-853.
- White, D.C., Davis, W.M., Nickels, J.S., King, J.D., Bobbie, R.J. 1979. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate. *Oecologia*. 40. 51-62.
- White, D.C., Findlay, R.H. 1988. Biochemical markers for measurement of predation effects on the biomass, community structure, nutritional status, and metabolic activity of microbial biofilms. *Hydrobiologia* 159. 119-132.
- White, D.C. 1994. Is there anything else you need to understand about the microbiota that cannot be derived from analysis of nucleic acids? *Microb. Ecol.* 28. 163-166.
- White, D.C. 1995. Chemical ecology: possible linkage between macro- and microbial ecology. *Oikos*. 74. 177-184.
- White, D.C., Cecily, A.F., Leung, K.T., Macnaughton, S.J. 1998. In situ microbial ecology for quantitative appraisal, monitoring, és risk assessment of pollution remediation in soils, subsurface, the rhizosphere and in biofilms. *J. Microbiol. Methods*. 32.93-105.
- Williams, S.T., McNeilly, T., Wellington, E.M. 1977. The decomposition of vegetation growing on metal mine waste. *Soil Biol. Biochem.* 9. 271-275.
- Wilke, B. M. Gattinger, A., Fröhlich, E., Zelles, L., Gong, P. 2004. phospholipid fatty acid composition of 2,4,6,-trinitrotoluene contaminated soil és an uncontaminated soil as affected by a humification remediation process. *Soil Biol. Biochem.* 36. 725-729.
- Wilkinson, S.G. 1988. Gram-negative bacteria. p. 299-457. In: Ratledge, C., Wilkinson, S.G (eds.), *Microbial lipids*, vol. 1. Academic Press, London.
- Xia, Z.L. 1988. *The capacity of soil environment and its application*. Beijing: Meteorology Publishing Press. 1-88.

- Yang, Z.X.; Liu, S.Q.; Zheng, D.W., Feng, S.D. 2006. Effect of cadmium, zinc and lead on soil enzyme activities. *J. Environmental Sciences*. 18. 1135-1141.
- Yeats, G.W., Orchard, V.A., Speir, T.W., Hunt, J.L., Hermans, M.C.C. 1994. Reduction in the soil biological activity following pasture contamination by copper, chromium organic timber preservative. *Biol. Fert. 18*. 200-208.
- Zeller, V., Bardgett, R.D., Tappeiner, U. 2001. Site management effects on soil microbial properties of subalpine meadows: A study along a north–south gradient in the European Alps. *Soil Biol. Biochem.* 33. 639–649.
- Zelles, L., Rackwitz, R., Bai, Q.Y., Beck, T. Beese, F. 1995. Discrimination of microbial diversity by fatty acid profiles of phospholipids és lipopolysaccharides in differently cultivated soils. *Plant Soil*. 170. 115-122.
- Zelles, L. 1997. Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere*. 35. 275-294.
- Zelles, L. 1999. Fatty acid patterns of phospholipids és lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biol. Fertil. Soils*. 29. 111–129.
- Zhang, C.B., Zhang, Z.H. 2000. A study of dynamic relationship between soil organic matter and enzymatic activity. *Soils and Fertilizers*. 5. 28-30.
- Zhang, Y., Zhang, H.W., Su, Z.C., Zhang, C.G. 2008. Soil microbial characteristics under long-term heavy metal stress: A case study in Zhangshi wastewater irrigation area, Shenyang. *Pedosphere*. 18. 1-10.



## 9. Mellékletek

### 1. melléklet. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus brevis* törzsek zsírsav összetétele

Zsírsavak	% zsírsavak									
	Kontroll		Beregdaróc		Beregsurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
C6:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C8:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C10:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C11:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
2-OH 10:0	0,0000a	0,0000	0,8757b	0,0756	0,1230a	0,0072	0,8278b	0,0555	1,4027c	0,1500
C12:0	3,6770c	0,1915	0,4509a	0,0422	5,1596d	0,2684	0,3071a	0,0206	2,5216b	0,1925
C13:0	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
2-OH 12:0	0,0000a	0,0000	0,4115b	0,0305	0,0000a	0,0000	0,1019a	0,0048	0,0000a	0,0000
3-OH 12:0	1,6361a	0,1300	4,8028c	0,2612	1,0143a	0,0861	1,2322a	0,0987	3,3513b	0,0925
C14:1	0,6460c	0,0481	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,1111b	0,0080	0,0000a	0,0000
C14:0	1,0294ab	0,0795	3,2478c	0,2137	0,9092a	0,0814	0,5001a	0,0276	1,3829b	0,0365
i-15:0	0,8874a	0,0723	0,6423a	0,0139	5,5771c	0,1800	3,4496b	0,3354	3,7105b	0,1100
a-15:0	2,5882c	0,1814	0,4906a	0,0396	0,2869a	0,0179	1,1574b	0,0849	0,2419a	0,0750
C15:1	0,5680b	0,0281	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
C15:0	0,4852a	0,0382	3,9055b	0,2880	0,6313a	0,0280	0,8206a	0,0656	1,3532a	0,1055
2-OH 14:0	0,3553a	0,0179	1,1291b	0,0729	0,5437a	0,0479	0,5518a	0,0452	1,2968b	0,0407
3-OH 10:0	11,8478c	0,5243	14,6168d	0,6016	4,6698a	0,1681	6,4802b	0,4510	6,5686b	0,2010
i-16:0	0,8780a	0,0444	3,1504b	0,2866	1,0203a	0,0307	1,0481a	0,0458	3,6676b	0,1025
C16:1	5,7406c	0,3138	13,0220e	0,3115	0,4614a	0,0269	3,2292b	0,2878	7,7457d	0,1568
C16:0	0,2898a	0,0238	0,6719a	0,0470	15,2546c	0,4504	12,7152b	0,8461	18,4850d	0,1534
i-17:0	0,7231a	0,0478	2,4425b	0,0858	1,1855a	0,0160	0,9647a	0,0402	4,3601c	0,0062
C17:1	1,0162b	0,0751	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
C17:2	4,1543d	0,1702	1,4145b	0,0847	0,5800a	0,0186	0,6659a	0,0493	2,7546c	0,0166
C17:0	0,4766a	0,0331	1,4689b	0,1220	0,4813a	0,0194	0,6845a	0,0508	3,3692c	0,1539
2-OH 16:0	2,4316b	0,2131	3,0196c	0,1756	0,8447a	0,0467	1,2024a	0,1017	2,3870b	0,0596
C18:2n6t	20,0545b	1,7784	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
C18:1(9)c	1,2987c	0,1083	2,7424d	0,1692	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,7023b	0,0668
C18:2(9.12)	3,7506a	0,1941	14,8211b	0,8735	20,2551c	0,2176	20,3264c	1,5831	21,4581c	0,0909
C18:1(9)t	0,0000a	0,0000	16,5086c	0,9903	30,4012d	0,7115	31,0603d	1,1573	12,6440b	0,0057
C18:0	1,4926a	0,1019	3,0126b	0,1195	7,7928c	0,0850	11,3300d	0,7316	1,2843a	0,0681
C19:2	2,9786c	0,1753	1,3529b	0,1189	0,4759a	0,0353	0,3946a	0,0244	5,3429d	0,0205
C19:0	0,5041a	0,0537	0,9346b	0,0578	0,7085ab	0,0524	0,8391b	0,0738	1,2720c	0,0469
C20:3n3	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
C20:4n6	11,7687b	0,9301	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
C20:3n6	9,6579b	0,4232	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
C20:2	6,9891b	0,5547	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
C20:1	2,0744b	0,1269	4,8649c	0,2745	1,6237b	0,0580	0,0000a	0,0000	6,5450d	0,1745

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.

2. melléklet. A különböző mintavételi helyek levélfelszínéről származó *Bacillus pumilus* törzsek zsírsav összetétele.

% zsírsavak										
Zsírsavak	Kontroll		Beregdaróc		Beregsurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
C6:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C8:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C10:0	0,2551ab	0,2358	0,6863c	0,2246	0,5066bc	0,1543	0,0000a	0,0000	0,0535a	0,0006
C11:0	0,1066a	0,1847	0,1551a	0,1717	0,1120a	0,1940	0,0000a	0,0000	0,0255a	0,0009
2-OH 10:0	2,1789ab	0,5892	3,6389ab	1,7568	4,7325b	2,7464	1,0491ab	1,8171	0,0232a	0,0007
C12:0	4,4830a	6,7246	5,2922a	4,4627	9,8023a	6,5022	2,3368a	0,5806	2,9991a	0,0097
C13:0	0,3297a	0,4992	0,0000a	0,0000	0,6326ab	0,1952	1,1148b	0,1409	0,0793a	0,0078
2-OH 12:0	0,3678a	0,3197	0,3583a	0,6205	0,1252a	0,2168	0,0000a	0,0000	0,3193a	0,0092
3-OH 12:0	2,2249a	1,2439	5,5786a	4,2080	1,7776a	0,8339	1,7992a	0,8216	0,1689a	0,0051
C14:1	2,4684a	3,1912	0,0000a	0,0000	0,9520a	0,5619	1,4750a	0,4943	0,0745a	0,0066
C14:0	0,9701a	0,9748	0,9712a	0,6401	3,8361a	2,8178	2,3604a	1,0548	0,3251a	0,0066
i-15:0	4,8385a	3,2764	6,3557a	5,0741	6,0649a	4,3893	2,9466a	0,3579	14,7448b	0,0031
a-15:0	0,9132a	0,3239	0,4126a	0,3502	4,2678ab	3,9881	5,4286b	0,7001	24,6039c	0,0053
C15:1	4,5767a	4,7496	4,0664a	3,6420	3,5187a	6,0945	0,8766a	1,5183	0,2213a	0,0095
C15:0	1,8190a	2,6176	0,2047a	0,2802	4,3579a	4,3369	0,0000a	0,0000	3,8878a	0,0063
2-OH 14:0	0,6705a	0,2577	0,6714a	0,1113	0,4868a	0,4485	1,4172a	1,3085	0,1458a	0,0025
3-OH 10:0	16,3604a	5,8041	16,6480a	14,1210	6,4943a	1,9308	5,8936a	0,5805	4,0606a	0,0049
i-16:0	2,5385a	2,2870	1,3295a	0,6062	2,3923a	2,1659	1,4604a	0,6414	3,7446a	0,0049
C16:1	6,4968a	0,8039	4,7248a	4,2886	8,3776ab	3,6198	15,3097b	4,1577	0,3181a	0,0041
C16:0	2,4794a	2,6369	0,9494a	0,7892	3,7487a	1,5048	3,7277a	0,2408	3,8138a	0,0065
i-17:0	2,6617a	1,7501	3,1242a	3,4698	2,0556a	1,2018	2,3049a	0,1738	13,7224b	0,0126
C17:1	1,5987ab	1,7124	0,4175a	0,2944	1,6405ab	1,1074	3,4547b	0,2911	0,2461a	0,0034
C17:2	0,6459a	0,9446	0,4861a	0,7369	0,5230a	0,9059	1,1547a	0,0925	0,0520a	0,0042
C17:0	1,0673ab	0,0655	0,8456a	0,6626	1,1434ab	0,3159	2,3341c	0,3713	1,8118bc	0,0051
2-OH 16:0	6,6375b	2,0709	3,3628ab	2,1384	4,7101b	2,4677	7,2103b	0,6494	0,0298a	0,0047
C18:2n6t	0,0000a	0,0000	0,0308a	0,0534	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	1,5074b	0,0062
C18:1(9)c	2,1700a	2,4078	0,8345a	0,5448	0,1369a	0,2372	1,0378a	0,6743	0,7415a	0,0072
C18:2(9.12)	2,7165a	0,3739	4,7384a	4,1110	1,4310a	0,4761	3,2796a	0,4017	0,0987a	0,0101
C18:1(9)t	3,4091ab	2,7598	4,6649ab	2,0504	5,4590b	2,2936	2,0714ab	0,4347	0,1220a	0,0052
C18:0	6,7948ab	2,6583	4,2637ab	2,3311	4,6834ab	2,2559	8,5428b	2,4892	1,8327a	0,0062
C19:0	0,6614a	0,2334	0,8897a	0,4074	0,8945a	0,7849	0,6758a	1,1705	0,6792a	0,0031
C19:2	0,6640ab	0,8748	0,5887ab	0,2414	0,5741ab	0,9943	1,9350b	0,7119	0,0000a	0,0000
C20:3n3	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,1153b	0,0083
C20:4n6	0,2149a	0,3721	3,0195b	1,1258	0,0000a	0,0000	5,2318c	0,5552	0,0000a	0,0000
C20:3n6	4,3971a	1,8248	7,7932a	7,8030	3,8148a	1,5636	0,0000a	0,0000	0,0735a	0,0076
C20:2	1,1200a	0,6929	0,9823a	0,3709	0,9468a	0,5715	0,4934a	0,8546	2,6473a	0,0065
C20:1	1,6572a	1,5226	0,7282a	0,3617	0,8275a	0,4845	1,4566a	0,1758	1,2935a	0,0065
C20:0	0,5900a	0,0826	0,6833a	0,7572	2,1987a	1,2361	0,5932a	1,0274	0,0727a	0,0054
C21:0	0,1894a	0,3280	0,2192a	0,3120	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,1560a	0,0037
C22:6n3	0,1432a	0,2479	0,3414a	0,3375	0,0000a	0,0000	3,9477b	1,9395	0,1948ab	0,0043
C22:2	2,5929ab	1,2246	1,8830b	1,7869	3,6718c	2,4772	0,6598a	1,1427	2,1261b	0,0075
C22:1n9	0,2185a	0,3785	2,5149b	3,8999	0,0000a	0,0000	3,2709b	0,5590	4,2419c	0,0067
C22:0	3,6606cd	0,7408	3,9460d	1,6984	2,1468b	0,4257	0,0000a	0,0000	3,1839c	0,0096
C23:0	0,3782b	0,3591	0,2832ab	0,3217	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,1540a	0,0047
C24:1	1,1278a	0,6306	0,8842a	0,2755	0,5666a	0,9814	3,1499b	0,5513	5,1571bc	0,0092
C24:0	0,6059b	0,2886	0,4318b	0,2625	0,3898ab	0,3402	0,0000a	0,0000	0,1307a	0,0029

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.

3. melléklet. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus pumilus* törzsek zsírsav összetétele.

% zsírsavak										
Zsírsavak	Kontroll		Beregdaróc		Beregsurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
C6:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C8:0	0,0000	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C10:0	0,1100a	0,1054	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0535a	0,0006
C11:0	0,1634b	0,1044	0,0402b	0,0697	0,3488a	0,0999	0,1743a	0,0343	0,0255a	0,0009
2-OH 10:0	2,1840ab	1,6039	2,2546b	0,0367	1,6599b	0,6554	2,5720b	0,4225	0,0232b	0,0007
C12:0	2,7421a	0,9197	0,8375a	0,0680	0,3657a	0,1161	0,1027b	0,0059	2,9991a	0,0097
C13:0	2,1692ab	1,2518	0,1182a	0,0415	1,0620a	0,2904	0,1631b	0,0438	0,0793ab	0,0078
2-OH 12:0	0,4744a	0,2516	0,2583ab	0,0526	0,0957ab	0,0201	0,3111b	0,0280	0,3193ab	0,0092
3-OH 12:0	0,1769a	0,0799	0,2104b	0,0559	6,3577b	2,7305	0,2777b	0,0567	0,1689b	0,0051
C14:1	0,5545d	0,1680	1,4581c	0,0693	1,8959c	0,0398	1,4023b	0,1534	0,0745a	0,0066
C14:0	1,8182a	0,4047	1,1028a	0,3019	0,3050b	0,0993	0,1437c	0,0146	0,3251a	0,0066
i-15:0	4,6564a	1,9070	7,8432a	0,3023	1,3057c	0,8068	1,0100b	0,1583	14,7448d	0,0031
a-15:0	1,8156a	0,3478	4,7309a	0,8541	0,7420b	0,2977	1,0491a	0,2442	24,6039c	0,0053
C15:1	0,1773b	0,0843	0,9676a	0,2465	0,5850c	0,2356	0,1152a	0,0418	0,2213a	0,0095
C15:0	2,9975a	0,4764	1,7828a	0,3653	0,3398b	0,1601	0,2044c	0,0595	3,8878d	0,0063
2-OH 14:0	1,9433a	0,4798	1,7615a	0,3179	0,3025b	0,0821	0,2238ba	0,0652	0,1458a	0,0025
3-OH 10:0	1,5534b	0,4420	0,9707b	0,1398	4,8527a	1,3541	3,4747c	0,7893	4,0606b	0,0049
i-16:0	1,3975a	0,4793	1,1041a	0,1741	1,0808a	0,5662	0,8238a	0,2538	3,7446b	0,0049
C16:1	1,6509b	0,7836	1,3573ab	0,2913	4,1709ab	2,8966	1,8584ab	0,1719	0,3181a	0,0041
C16:0	0,2047ab	0,1234	1,3876a	0,2192	1,0461b	0,9888	0,1651b	0,0412	3,8138c	0,0065
i-17:0	0,4225a	0,0855	1,2819a	0,3487	0,8323a	0,7085	2,5712a	0,2917	13,7224b	0,0126
C17:1	1,8464ab	0,4979	0,8976bc	0,0454	0,6485b	0,1408	1,2741c	0,2587	0,2461a	0,0034
C17:2	0,5357b	0,1423	1,1736c	0,0349	0,6822c	0,4188	1,3950b	0,1490	0,0520a	0,0042
C17:0	0,1795b	0,0849	0,0977c	0,0165	0,2488a	0,0605	0,4090ab	0,0645	1,8118d	0,0051
2-OH 16:0	0,3154c	0,1055	0,1527c	0,0098	0,3874ab	0,1282	0,4579bc	0,0788	0,0298a	0,0047
C18:2n6t	1,5500b	0,4899	1,2161b	0,1360	10,8893a	1,1345	9,5429a	1,1898	1,5074a	0,0062
C18:1(9)c	7,7312a	1,4666	9,6607a	1,4373	3,5407b	2,9960	1,3118b	0,5086	0,7415a	0,0072
C18:2(9.12)	2,1053a	0,3315	1,0647b	0,2551	1,0511a	0,6534	31,8207c	5,4568	0,0987a	0,0101
C18:1(9)t	0,1835c	0,0713	2,2864b	0,0783	5,2027bc	1,0371	1,9760a	0,2587	0,1220a	0,0052
C18:0	0,3388ab	0,1506	2,2334ab	0,4260	1,2619c	0,6987	1,2414a	0,1883	1,8327bc	0,0062
C19:2	0,2624b	0,0727	0,1381a	0,0255	0,6631a	0,1423	0,2960a	0,0526	0,6792b	0,0031
C19:0	3,5556a	0,5947	0,2238a	0,0354	0,5181b	0,2560	0,1012b	0,0180	0,0000a	0,0000
C20:3n3	3,7430a	0,0000	4,0212b	0,0000	0,6079c	0,0000	2,1794c	0,0000	0,1153a	0,0083
C20:4n6	3,8156c	1,1339	1,6880b	0,1778	1,1332c	0,3054	0,9022d	0,7696	0,0000a	0,0000
C20:3n6	1,1529b	0,2409	1,0031a	0,0917	18,7483a	0,2923	0,8692a	0,1902	0,0735a	0,0076
C20:2	1,4197ab	0,2020	1,7087ab	0,1497	1,7565ab	2,4595	1,8209a	0,3478	2,6473b	0,0065
C20:1	1,7476a	0,2423	0,9264a	0,1270	0,4986ab	0,8996	0,4584b	0,0950	1,2935ab	0,0065
C20:0	0,3114a	0,8512	0,3572b	0,1596	0,3491a	0,0580	0,8608a	0,0863	0,0727a	0,0054
C21:0	0,3646b	0,1719	0,3504a	0,1311	0,7249a	0,0775	0,2860a	0,2157	0,1560a	0,0037
C22:6n3	2,5759a	0,2400	1,8036ab	0,0824	0,1904bc	0,0798	0,9291c	0,0387	0,1948a	0,0043
C22:2	5,3387b	0,4480	4,4277b	0,8618	3,5271bc	0,0032	3,9645c	0,1205	2,1261a	0,0075
C22:1n9	17,2569a	0,7728	10,2855c	0,4657	0,6554c	0,6215	7,7468d	0,2488	4,2419b	0,0067
C22:0	9,9734b	2,5885	18,2332b	1,4190	10,9476c	0,2992	8,7993b	1,2780	3,1839a	0,0096
C23:0	0,3913a	0,7802	0,4015a	2,7959	0,6086a	2,6592	0,3626a	1,1568	0,1540a	0,0047
C24:1	4,5462a	0,1139	5,3784a	0,0092	5,5310a	0,5616	3,8348c	0,0802	5,1571a	0,0092
C24:0	1,5475b	2,1331	0,8026b	0,3529	2,2790c	2,8350	0,5177b	1,1183	0,1307a	0,0029

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.

4. melléklet. A különböző mintavételi helyek levélfelszínéről származó *Bacillus subtilis* törzsek zsírsav összetétele

% zsírsavak										
Zsírsavak	Kontroll		Beregdaróc		Beregurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
C6:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C8:0	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0482a	0,0000	0,0468a	0,0036
C10:0	0,0000a	0,0000	0,1470a	0,1298	0,0000a	0,0000	0,0441a	0,0835	0,0595a	0,0028
C11:0	0,3312a	0,0503	0,2369a	0,0272	0,1692a	0,2930	0,2597a	0,0389	0,0631b	0,0038
2-OH 10:0	2,1195a	1,7814	0,0928a	0,0262	0,4844a	0,1913	2,8412a	0,1643	0,4044a	0,0011
C12:0	0,3097a	0,1880	1,1547a	0,1856	5,2473b	3,4670	0,4085a	3,9330	6,1346b	0,0055
C13:0	0,9767b	0,4926	0,0817a	0,0231	0,0000a	0,0000	0,5051b	0,4719	0,1710a	0,0068
2-OH 12:0	0,5204b	0,1246	0,2735ab	0,0246	0,0894a	0,1549	0,4378b	0,2306	0,0508a	0,0021
3-OH 12:0	5,5744a	4,8714	2,2071a	0,3142	1,2171a	0,4674	2,1371b	0,1651	1,4903a	0,0007
C14:1	4,6554a	3,5046	1,6440a	0,1802	0,6480a	0,1601	1,5095a	2,2732	1,5579a	0,0049
C14:0	1,8765a	1,7079	1,6674a	0,1742	1,8823a	0,7754	0,8321a	1,5988	1,0543a	0,0013
i-15:0	7,0606ab	10,9340	11,5026a	2,7208	11,4971a	5,6131	1,6857b	0,5008	6,8218ab	0,0046
a-15:0	1,0370a	0,4897	1,3710a	0,4136	3,9893b	2,1726	0,4595a	1,9146	9,3325c	0,0045
C15:1	1,1975a	1,1227	0,5638a	0,1498	0,7910a	0,6507	0,5715a	0,4684	0,5649a	0,0039
C15:0	2,4922a	0,7372	8,5149b	0,5041	2,4755a	0,7243	1,0043a	0,4338	0,7856a	0,0045
2-OH 14:0	1,4468a	0,1737	0,1313a	0,0146	0,9783a	1,2740	1,4853a	0,9599	7,8694b	0,0024
3-OH 10:0	12,4141b	3,8910	0,9709a	0,8411	11,5759b	1,6344	6,3671ab	0,9631	7,3631b	0,0029
i-16:0	1,7134a	1,0142	0,6687a	0,0806	1,4941a	0,3006	0,4897a	3,2806	1,0177a	0,0060
C16:1	5,3632a	3,4234	9,2928a	1,0469	8,8108a	5,1374	4,8235a	0,3798	1,5487a	0,0056
C16:0	1,4318a	1,1679	0,8761a	0,1512	2,6787a	1,0501	1,1171a	3,2641	5,9935b	0,0054
i-17:0	7,5742a	6,0425	5,7910a	0,7936	3,1034a	1,5264	2,2274a	0,5928	2,2142a	0,0045
C17:1	1,7872b	0,6588	0,2786a	0,0309	0,5901ab	0,1006	0,8448ab	1,8619	0,3719a	0,0059
C17:2	1,5850ab	0,2680	1,8814b	0,2556	1,2977ab	1,1893	1,1475ab	0,8786	0,2984a	0,0060
C17:0	2,0767a	1,2739	0,4542a	0,0616	1,4515a	0,3141	1,4648a	0,1844	2,0711a	0,0049
2-OH 16:0	6,1099ab	5,0755	0,5603a	0,1021	12,3455b	3,9953	5,9612ab	1,5077	0,1522a	0,0030
C18:2n6t	0,0000a	0,0000	4,7639c	0,5466	0,0000a	0,0000	0,0000a	4,0525	2,7577b	0,0032
C18:1(9)c	1,0826a	0,6410	0,8295a	0,0992	1,9884a	2,6415	1,2163a	0,0000	10,6004b	0,0094
C18:2(9.12)	4,1847a	0,9693	0,5309a	0,1510	2,3007a	1,2507	28,7446b	0,5606	17,4828ab	0,0030
C18:1(9)t	3,7222a	3,2701	5,8353a	1,8175	1,0568a	0,4519	14,9988a	20,5681	0,6804a	0,0048
C18:0	4,1882ab	2,4352	0,7883a	0,1265	6,3724b	2,6380	2,4789a	12,5769	1,9267a	0,0044
C19:2	1,8565b	0,1767	0,2059a	0,0251	0,7088a	0,2168	0,9485a	1,5034	0,2224a	0,0017
C19:0	0,1834a	0,3177	0,9794b	0,0982	0,4318a	0,1400	0,3744ab	0,8604	0,3030a	0,0038
C20:3n3	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,3143	0,1144b	0,0022
C20:4n6	0,8083a	0,8950	0,4515a	0,0267	0,1030a	0,1783	0,4174a	0,0000	0,1517a	0,0019
C20:3n6	2,0151a	1,6049	0,9440a	0,1494	6,0542b	0,8419	2,4024a	0,0000	0,4227a	0,0053
C20:2	1,6523a	0,9215	10,2992c	1,5962	0,4669a	0,1974	1,7213a	0,4474	3,6788a	0,0006
C20:1	1,5020a	0,9815	1,2405a	0,1783	0,8818a	0,6092	0,6828a	0,2156	0,5689a	0,0058
C20:0	1,0045a	1,3263	0,6120a	0,0612	0,6389a	0,1722	0,2236a	1,0796	0,3915a	0,0029
C21:0	0,7990a	0,5499	1,3183a	0,1031	0,6915a	0,2858	0,3854a	0,4552	0,3675a	0,0012
C22:6n3	0,5231bc	0,3773	0,9020c	0,0476	0,0000a	0,0000	0,3261ab	0,1910	0,3376ab	0,0025
C22:2	1,3459a	0,3422	0,8459a	0,0830	1,7098a	1,5222	3,0177a	0,2937	0,5914a	0,0010
C22:1n9	1,7188a	0,9457	1,7920a	0,1328	0,1681a	0,2911	0,8699a	0,1844	0,6592a	0,0050
C22:0	1,5622a	1,3813	4,3996b	1,3768	1,6378a	0,9774	0,2313a	3,2991	0,0845a	0,0024
C23:0	0,4724a	0,5183	9,2296b	1,3348	0,0000a	0,0000	0,3977a	0,6622	0,3539a	0,0018
C24:1	0,8422a	0,2644	0,0860b	0,0211	1,3114a	0,5727	1,6598a	0,1270	0,5530ab	0,0030
C24:0	0,8829a	0,7636	1,8465b	0,0539	0,6610a	0,1002	0,2303a	0,2290	0,3140a	0,0061

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.

5. melléklet. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus subtilis* törzsek zsírsav összetétele.

% zsírsavak										
Zsírsavak	Kontroll		Beregdaróc		Beregsurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
C6:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C8:0	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0468b	0,0036
C10:0	0,1173a	0,1034	0,0488a	0,0845	0,1225	0,1627	0,0000a	0,0000	0,0595a	0,0028
C11:0	0,3803ab	0,1093	0,5206b	0,2587	0,0999	0,0890	0,1605a	0,0607	0,0631a	0,0038
2-OH 10:0	0,5097a	0,1307	0,3455a	0,1258	0,1846	0,0773	0,7893a	1,0780	0,4044a	0,0011
C12:0	0,8846a	0,1083	2,1373b	0,2162	0,2803	0,2434	0,7108a	0,9387	6,1346c	0,0055
C13:0	2,1782bc	0,5587	1,5431b	0,3133	0,4442	0,1302	0,6092a	0,2760	0,1710a	0,0068
2-OH 12:0	2,5065a	0,1216	1,4415b	0,1676	0,1737	0,0592	0,9154b	0,5621	0,0508a	0,0021
3-OH 12:0	2,2665a	0,5444	1,6032a	1,2080	0,4795	0,2360	1,2283a	1,2675	1,4903a	0,0007
C14:1	0,5661a	0,1392	2,1022c	0,4352	0,7174	0,1994	0,4117a	0,1349	1,5579b	0,0049
C14:0	0,4923a	0,1527	1,6505a	0,4396	1,7785	0,7193	1,5485a	1,7790	1,0543a	0,0013
i-15:0	2,1094a	0,1890	1,9624a	0,7696	7,9398	8,5306	3,4195a	5,6142	6,8218b	0,0046
a-15:0	2,1676a	0,3825	1,9006a	0,7405	0,8412	0,3211	1,7952a	2,8572	9,3325b	0,0045
C15:1	0,4068a	0,0969	3,0395b	0,6148	1,1630	1,2488	0,4565a	0,3170	0,5649a	0,0039
C15:0	0,5387a	0,2185	1,8077b	0,3656	1,7451	2,0935	0,7231a	0,3307	0,7856a	0,0045
2-OH 14:0	4,3672c	1,0653	0,9435a	0,1255	0,8269	0,7999	2,6959b	0,1745	7,8694d	0,0024
3-OH 10:0	3,8295bc	0,3536	4,7560c	1,0887	2,2852	0,1157	3,0620ab	0,2972	7,3631d	0,0029
i-16:0	4,7456a	0,4425	2,1173a	0,6235	12,6755	14,2117	8,8851b	3,7036	1,0177a	0,0060
C16:1	7,3358ba	1,5120	7,2986b	1,2806	7,4005	5,4555	2,4856a	0,3151	1,5487a	0,0056
C16:0	3,1356ba	0,8277	0,5519a	0,2337	0,6839	0,5738	0,9041a	0,7821	5,9935c	0,0054
i-17:0	3,7018a	0,3222	2,0806a	0,2333	3,1474	4,3827	10,6226b	1,4192	2,2142a	0,0045
C17:1	0,5512a	0,1351	2,3700a	0,6922	4,2932	6,2630	1,0956a	0,0580	0,3719a	0,0059
C17:2	0,9263a	0,0519	3,8929c	0,6802	0,9832	0,2474	2,7763b	0,3781	0,2984a	0,0060
C17:0	1,0258a	0,2416	0,7450a	0,0975	0,9420	0,3903	4,9337c	0,5008	2,0711b	0,0049
2-OH 16:0	3,2741b	0,8843	2,0293bc	0,9312	0,8932	0,3895	2,4841c	0,0706	0,1522a	0,0030
C18:2n6t	1,0114a	0,0350	4,4760ab	0,3985	4,6475	2,9473	2,6200ab	0,2882	2,7577ab	0,0032
C18:1(9)c	3,5787c	0,1284	1,0527ab	0,0924	0,7097	0,7871	1,8640b	0,2277	10,6004d	0,0094
C18:2(9.12)	4,0602ab	0,3137	4,0720ab	1,5738	8,0016	12,2176	1,1573a	0,0628	17,4828b	0,0030
C18:1(9)t	2,4675ab	0,0859	4,2299b	0,3620	3,0755	2,8718	10,5652c	0,8835	0,6804a	0,0048
C18:0	0,3724a	0,0430	4,5607b	1,2727	1,2992	1,0780	1,1732a	0,1947	1,9267a	0,0044
C19:0	0,5758b	0,1429	0,2023a	0,0867	0,4150	0,1122	1,8223c	0,2235	0,2224a	0,0017
C19:0	0,5871a	0,1950	1,1437a	0,5929	0,5905	0,2530	1,1362a	0,3285	0,3030a	0,0038
C20:3n3	3,8666c	0,2981	0,5814b	0,1801	0,3245	0,1749	0,1457a	0,0365	0,1144a	0,0022
C20:4n6	0,4612a	0,0829	1,5677b	0,5666	0,3921	0,1101	2,3455b	0,6170	0,1517a	0,0019
C20:3n6	0,7563a	0,1128	1,7940a	0,4725	7,8570	8,6003	7,6550a	3,1181	0,4227a	0,0053
C20:2	4,9785b	0,2690	1,1129a	0,0421	0,7140	0,3550	2,1563b	0,5851	3,6788c	0,0006
C20:1	2,0607c	0,1731	0,5296a	0,1239	0,4751	0,3418	1,2136b	0,2168	0,5689a	0,0058
C20:0	2,2155b	0,2525	3,0289c	0,3702	0,7555	0,6105	0,1386a	0,0503	0,3915a	0,0029
C21:0	2,9780d	0,0971	0,7506c	0,0530	0,6354	0,2400	0,2760a	0,1452	0,3675ab	0,0012
C22:6n3	4,2276b	0,3013	0,9933a	0,2586	0,4009	0,1310	4,8651c	0,4565	0,3376a	0,0025
C22:2	0,4205a	0,0536	3,9719b	2,1483	0,5901	0,7639	2,6588a	0,7364	0,5914a	0,0010
C22:1n9	4,2756a	0,2644	0,5791a	0,0484	4,5143	4,4596	1,2362a	0,1516	0,6592a	0,0050
C22:0	4,2602a	0,9437	12,8279b	1,2419	9,2661	4,2483	2,2605a	0,5083	0,0845a	0,0024
C23:0	3,3482d	0,1267	0,7312bc	0,1596	0,5361	0,1715	0,9897c	0,0938	0,3539a	0,0018
C24:1	0,3638a	0,0377	3,5709b	0,3965	3,5744	3,7934	0,8312a	1,0096	0,5530a	0,0030
C24:0	5,1173c	1,8933	1,3353b	0,1811	1,1247	1,1739	0,1764a	0,0817	0,3140a	0,0061

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.

6. melléklet. A különböző mintavételi helyek levélfelszínéről származó *Bacillus cereus* törzsek zsírsav összetétele.

Zsírsavak	% zsírsavak									
	Kontroll		Beregdaróc		Beregsurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
C6:0	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0376b	0,0027
C8:0	0,0580a	0,1005	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,1689a	0,1663	0,0437a	0,0062
C10:0	0,0855a	0,1481	0,2576a	0,1883	0,0000a	0,0000	0,4628a	0,3290	0,1071a	0,0095
C11:0	0,1933a	0,3348	0,4097a	0,1420	0,1149a	0,1990	4,2046a	3,3830	0,1090a	0,0093
2-OH 10:0	0,8281ab	0,5979	1,3639ab	0,5706	0,1274a	0,1248	2,3266b	1,0990	0,2636a	0,0043
C12:0	0,5180a	0,2710	5,9400a	3,2201	5,4676a	6,9808	0,4874a	0,5281	0,1346a	0,0109
C13:0	0,2413ab	0,4179	0,0000a	0,0000	0,6530b	0,2145	0,7210b	0,1020	4,0725c	0,0113
2-OH 12:0	0,2144a	0,2598	3,4504a	2,9562	0,1670a	0,1456	0,5317a	0,2449	0,1697a	0,0078
3-OH 12:0	1,3016a	1,2515	3,3523a	2,8980	1,0797a	0,7869	7,6685b	0,7202	0,2017a	0,0123
C14:1	1,3003a	0,0543	2,1181ab	0,0667	2,1967ab	1,2626	3,7005c	1,3074	0,8593a	0,0090
C14:0	1,3857a	1,0568	2,0990a	1,8146	1,7372a	1,2347	0,6363a	0,3236	1,9778a	0,0110
i-15:0	0,8868a	0,4281	3,4841a	1,1555	3,6325a	3,6148	4,7276a	4,4415	23,9863b	0,0085
a-15:0	11,1040a	18,4205	7,3008a	1,2461	1,4398a	0,7100	4,8535a	3,2538	0,8857a	0,0068
C15:1	0,3479a	0,4338	0,2132a	0,2903	0,5844a	0,0133	0,5519a	0,0512	0,5770a	0,0134
C15:0	0,5364a	0,0310	6,6959b	2,5549	5,9020ab	4,2095	0,6662a	0,0403	0,6353a	0,0070
2-OH 14:0	0,2595a	0,2257	0,2067a	0,1133	0,5155a	0,1381	2,0179b	0,9945	0,2715a	0,0080
3-OH 10:0	15,3156a	8,6806	8,6980a	8,0327	18,6122a	10,8649	5,5563a	4,1034	6,7888a	0,0038
i-16:0	2,4268a	1,8532	0,7937a	0,5207	3,2346a	1,9546	1,4939a	0,5672	0,6631a	0,0063
C16:1	13,0981b	5,4464	3,6236a	1,8351	7,3224ab	0,9876	3,0626a	1,1367	6,0654a	0,0069
C16:0	1,5417a	1,9223	2,7750a	2,5147	1,0718a	0,2734	4,6266a	2,2907	4,4812a	0,0066
i-17:0	1,6709ab	0,8966	0,5789a	0,0609	3,9897c	1,2671	2,8960bc	0,6124	6,6297d	0,0051
C17:1	0,6348a	0,1603	5,7814ab	3,3040	0,6370a	0,1301	2,8144ab	3,1633	7,6612b	0,0066
C17:2	0,5282a	0,3544	2,3368a	1,1967	0,6360a	0,0724	4,2408a	3,7030	1,1744a	0,0074
C17:0	0,9890a	0,3112	5,6483c	1,0953	1,3969b	0,6850	3,1652c	0,3776	4,4137bc	0,0047
2-OH 16:0	7,8449b	2,5554	3,0783ab	1,8746	9,6058b	1,8862	10,2251b	5,4452	0,0679a	0,0044
C18:2n6t	0,0000a	0,0000	0,0088a	0,0153	0,3264a	0,5476	0,0532a	0,0921	0,0703a	0,0041
C18:1(9)c	4,6359b	0,5024	0,4939a	0,0812	1,6962a	1,4883	1,6979a	1,0561	5,8574b	0,0112
C18:2(9.12)	4,1436a	4,7493	4,2795a	1,9377	2,5340a	0,5974	2,6668a	2,7207	9,0982a	0,0041
C18:1(9)t	1,2967a	0,3689	3,6914a	2,8979	1,2187a	1,0975	3,8028a	2,3985	0,2330a	0,0063
C18:0	5,6816ab	0,7049	6,7432b	2,2308	3,6333ab	2,7107	3,8865ab	2,2150	1,2991a	0,0072
C19:2	1,1097b	0,7179	0,1670a	0,0748	0,9695ab	0,1787	1,2832b	0,0156	0,4874ab	0,0085
C19:0	0,1016a	0,1761	0,3969a	0,6063	0,1570a	0,2719	0,0401a	0,0695	0,2905a	0,0035
C20:3n3	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,1013b	0,0043
C20:4n6	0,4525ab	0,1550	0,9069b	0,4821	0,1638a	0,2837	0,5342ab	0,2665	0,1073a	0,0071
C20:3n6	3,0763a	5,1387	0,2899a	0,1632	2,3408a	3,8663	0,4106a	0,1133	0,1393a	0,0088
C20:2	2,0254a	2,2380	2,6820a	1,4878	4,3530a	5,7500	1,5395a	0,3554	2,7878a	0,0057
C20:1	0,3004ab	0,2688	0,0523a	0,0745	0,4980b	0,1711	0,8949c	0,2094	0,3916ab	0,0085
C20:0	0,5386a	0,3405	0,4905a	0,1363	0,4946a	0,1975	0,8225a	0,9578	0,4575a	0,0054
C21:0	1,0668a	0,1807	2,9550a	2,6877	0,6004a	0,1447	0,6662a	0,2545	0,0763a	0,0047
C22:6n3	0,3323ab	0,0395	0,4684ab	0,3145	0,1391a	0,2409	1,3527b	0,9090	0,1119a	0,0107
C22:2	3,0747a	2,3242	2,5699a	0,9893	5,4768a	5,9293	0,5965a	0,4109	0,6310a	0,0058
C22:1n9	1,8903a	3,1429	0,0348a	0,0602	0,4972a	0,4868	4,8778a	3,9304	0,3909a	0,0078
C22:0	3,6355a	1,8531	2,4086a	1,9208	3,0045a	3,0431	0,6787a	0,0407	3,8872a	0,0075
C23:0	0,4410a	0,4255	0,4961a	0,1379	0,3806a	0,5082	0,7724a	0,0676	0,3166a	0,0045
C24:1	2,3262b	0,5643	0,5362a	0,0485	0,9594ab	0,8568	1,3412ab	1,0017	0,7617ab	0,0066
C24:0	0,5603a	0,2614	0,1229a	0,0939	0,4327a	0,2896	0,2763a	0,0372	0,2259a	0,0016

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.

7. melléklet. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus cereus* törzsek zsírsav összetétele.

% zsírsavak										
Zsírsavak	Kontroll		Beregdaróc		Beregsurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
C6:0	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0376b	0,0027
C8:0	0,0093a	0,0161	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0437b	0,0062
C10:0	0,1519a	0,0953	0,0730a	0,0147	0,2339a	0,2346	0,0000a	0,0000	0,1071a	0,0095
C11:0	0,1391a	0,0178	0,4535a	0,2783	0,2174a	0,1450	1,2461a	0,8967	0,1090a	0,0093
2-OH 10:0	0,1442a	0,0264	0,1926a	0,0764	0,1067a	0,0621	0,5312a	0,4773	0,2636a	0,0043
C12:0	1,2766a	0,0659	0,1929a	0,1047	0,7074a	1,0002	0,4457a	0,2785	0,1346a	0,0109
C13:0	0,3204a	0,0183	0,9718b	0,1588	0,1699a	0,0381	0,2923a	0,0990	4,0725c	0,0113
2-OH 12:0	0,0815a	0,0187	0,5632a	0,0511	0,0948a	0,0381	0,5997a	0,4346	0,1697a	0,0078
3-OH 12:0	3,7746b	0,5415	0,7405a	0,0721	0,3173a	0,0162	2,3293ab	2,0748	0,2017a	0,0123
C14:1	2,8826a	0,4394	0,1488a	0,0445	2,3696a	3,8453	1,4569a	0,6504	0,8593a	0,0090
C14:0	0,3425a	0,0402	0,2683a	0,1251	0,7456a	0,5943	0,2202a	0,1136	1,9778b	0,0110
i-15:0	1,8138ab	0,1505	5,1403c	0,9656	0,5382a	0,2079	3,5037bc	2,4010	23,9863d	0,0085
a-15:0	1,9465a	0,9244	2,2733a	0,0650	2,1719a	2,4702	1,2027a	0,4261	0,8857a	0,0068
C15:1	0,3843a	0,0335	0,1848a	0,0095	0,4775a	0,3430	0,5541a	0,3270	0,5770a	0,0134
C15:0	1,9308c	0,2079	0,2153a	0,1717	0,1932a	0,0759	0,5312ab	0,1892	0,6353b	0,0070
2-OH 14:0	0,3806a	0,0631	1,3999b	0,0589	0,3341a	0,3226	0,1903a	0,0652	0,2715a	0,0080
3-OH 10:0	2,7302ab	0,4500	1,4321a	0,0418	4,3510c	1,0891	3,1596bc	0,6029	6,7888d	0,0038
i-16:0	2,3606b	0,0521	2,4713b	0,1132	0,4909a	0,0270	3,3869a	2,5488	0,6631a	0,0063
C16:1	7,2273b	0,6651	1,8943a	1,5351	1,2643a	0,5586	11,0659c	1,0646	6,0654b	0,0069
C16:0	0,6553ab	0,0711	0,1821a	0,0420	0,1106a	0,0564	1,2934b	0,8321	4,4812c	0,0066
i-17:0	2,0161a	0,1649	2,3251a	2,1212	0,3128a	0,0126	2,5914a	2,7538	6,6297b	0,0051
C17:1	1,5688c	0,2631	0,6709ab	0,5181	1,2410bc	0,2064	0,2807a	0,1463	7,6612d	0,0066
C17:2	3,9039c	0,2239	0,9168ab	0,3348	0,4257a	0,0430	1,1824b	0,4347	1,1744b	0,0074
C17:0	2,0576c	0,1765	0,1855a	0,0439	1,3506a	1,6130	0,3567a	0,0850	4,4137b	0,0047
2-OH 16:0	1,4371c	0,4075	0,8695b	0,3003	0,6480b	0,0147	0,3213ab	0,0356	0,0679a	0,0044
C18:2n6t	6,5213b	0,2806	5,1047b	0,4389	9,6034c	2,1829	9,9932c	1,9855	0,0703a	0,0041
C18:1(9)c	1,3345a	0,2852	1,9030b	0,3647	1,0215a	0,0712	1,3091a	1,2616	5,8574b	0,0112
C18:2(9.12)	2,9211a	0,1448	9,9808b	0,5615	18,4150c	4,5251	1,0839a	0,6849	9,0982b	0,0041
C18:1(9)t	4,0293b	0,5510	3,8728b	0,5091	5,7847c	1,3873	3,6211b	0,3506	0,2330a	0,0063
C18:0	3,7831b	0,2959	1,1012a	0,0772	0,8796a	0,1642	1,3658a	0,2514	1,2991a	0,0072
C19:2	0,2143a	0,0142	1,4579d	0,1239	0,6374c	0,0104	0,3733b	0,0186	0,4874b	0,0085
C19:0	2,0023b	0,2103	1,5023ab	0,2705	1,3010ab	1,2427	0,9454ab	0,1205	0,2905a	0,0035
C20:3n3	0,8376b	0,1201	2,2568d	0,0808	1,3743c	0,4041	0,3419a	0,0964	0,1013a	0,0043
C20:4n6	1,6400a	0,2341	12,3067b	2,6546	3,1948a	0,1408	0,9757a	0,1342	0,1073a	0,0071
C20:3n6	11,0442c	1,1623	6,6200b	0,6442	14,2669cd	1,2240	17,2588d	3,4727	0,1393a	0,0088
C20:2	1,0011a	0,0853	2,2969b	0,3801	2,2470b	0,2889	0,8705a	0,7956	2,7878b	0,0057
C20:1	0,4888b	0,1080	0,7913c	0,0673	0,1699a	0,0108	0,2213a	0,1071	0,3916b	0,0085
C20:0	0,2993a	0,0168	1,4149c	0,1002	0,7349b	0,1928	1,7623d	0,1760	0,4575ab	0,0054
C21:0	1,1323bc	0,1039	0,7335b	0,2129	0,6136b	0,1307	1,3573d	0,3919	0,0763a	0,0047
C22:6n3	0,1428a	0,0068	0,2625a	0,0428	0,1974a	0,0566	0,2064a	0,1302	0,1119a	0,0107
C22:2	4,5490b	1,0023	0,2185a	0,0325	0,1351a	0,0080	1,2735a	1,0405	0,6310a	0,0058
C22:1n9	0,3425a	0,0846	7,3371b	0,7967	7,2807b	0,9007	2,8958a	2,3386	0,3909a	0,0078
C22:0	11,4884bc	1,1026	10,9508bc	1,7041	8,3356b	0,3308	13,3663c	2,4898	3,8872a	0,0075
C23:0	0,7566a	0,1073	0,5570a	0,3013	0,2682a	0,0164	1,9345a	1,8500	0,3166a	0,0045
C24:1	3,1928ab	0,2054	4,7638b	1,0641	4,4938b	1,1495	1,0385a	1,1632	0,7617a	0,0066
C24:0	2,7432c	0,3171	0,8015b	0,1070	0,1728a	0,0783	1,0637b	0,2144	0,2259a	0,0016

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.

8. melléklet. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus firmus* törzsek zsírsav összetétele.

% zsírsavak										
Zsírsavak	Kontrol		Beregdaróc		Beregsurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
C6:0	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0467b	0,0045
C8:0	0,0000a	0,0000	0,0000c	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
C10:0	0,0000a	0,0000	0,4161a	0,0379	0,7977a	0,6951	0,0000a	0,0000	0,0873a	0,0049
C11:0	0,0000a	0,0000	0,1164a	0,2016	0,0924a	0,0816	0,0778a	0,0764	0,0439a	0,0051
2-OH 10:0	0,0000a	0,0000	3,4802b	0,2264	0,0322c	0,0558	0,2520a	0,4110	0,2561a	0,0040
C12:0	1,9620a	0,1533	0,0889b	0,0878	0,2638a	0,0463	0,2112a	0,2928	0,0491a	0,0093
C13:0	0,2854c	0,0421	0,6172b	0,0696	0,9440c	0,1072	0,2218a	0,0996	0,2226a	0,0117
2-OH 12:0	0,0000ab	0,0000	0,0980ab	0,0210	0,3105ab	0,1351	0,1658a	0,2871	0,4393bb	0,0037
3-OH 12:0	1,2168c	0,0518	0,1886a	0,0122	2,5644a	0,1705	0,5033b	0,3907	0,2335a	0,0025
C14:1	0,6937c	0,1112	0,7982a	0,0985	2,3187a	0,2265	0,7847a	0,2394	1,6085b	0,0080
C14:0	0,8690a	0,2059	1,5767b	0,1799	0,3770b	0,0803	2,0187a	0,4070	1,4749b	0,0057
i-15:0	8,0823d	0,3461	3,3368a	0,2550	19,5704c	2,0611	12,8986b	0,7675	17,778d	0,0119
a-15:0	0,6096ab	0,1697	0,4540a	0,0342	1,1202bc	0,1761	1,9818a	1,1161	3,0198c	0,0129
C15:1	0,9561a	0,4986	0,6247a	0,0828	0,4681a	0,0040	0,9789a	0,2232	0,4680a	0,0111
C15:0	1,6519ab	0,2389	12,0485c	0,4365	3,3253bc	0,8594	9,7110a	6,5563	6,0308abc	0,0090
2-OH 14:0	2,0394b	0,1832	0,2834a	0,0163	0,1229a	0,0307	0,6701b	0,4067	0,2927c	0,0068
3-OH 10:0	2,8108c	0,1972	1,3583a	0,0351	3,1303b	0,5138	1,1866a	0,4114	12,5940c	0,0154
i-16:0	0,3921a	0,1006	0,7057c	0,0705	2,7824bc	0,3098	1,6748a	0,8423	2,8072b	0,0027
C16:1	1,7829b	0,1668	7,9172a	1,0952	0,7879a	0,1266	7,0436b	1,6887	5,3691c	0,0106
C16:0	2,2422a	0,1334	0,3882a	0,0602	2,0391a	0,0468	0,6418a	0,2745	4,3432b	0,0072
i-17:0	0,7998a	0,1621	0,7587a	0,0896	1,1578a	0,1392	0,6995c	0,3361	8,1058b	0,0024
C17:1	2,1987b	0,4208	0,4162a	0,1760	0,6304a	0,0769	0,4102b	0,2950	1,2291b	0,0066
C17:2	1,0580b	0,2257	0,1306ab	0,0404	1,1453a	0,0881	0,2151c	0,0488	0,9530d	0,0086
C17:0	1,4670a	0,1177	0,4473a	0,0452	0,5738b	0,0844	0,3120a	0,0951	2,0223a	0,0112
2-OH 16:0	0,3246c	0,0310	0,5088c	0,2935	0,2327b	0,0085	1,6607a	0,2245	0,2938b	0,0003
C18:2n6t	3,5750a	0,5202	10,0672b	0,5203	9,9439b	1,0227	7,1142a	1,3991	5,5474b	0,0104
C18:1(9)c	0,2921b	0,0877	0,8477b	0,0271	0,0905b	0,0053	1,1341c	0,2483	1,0815a	0,0089
C18:2(9.12)	2,0684a	0,0302	0,4092ab	0,0729	0,5211b	0,0351	0,6081c	0,2547	0,1270a	0,0047
C18:1(9)t	2,9562ab	0,0174	1,0175c	0,1318	0,1690b	0,0514	1,6936a	0,8175	0,1935b	0,0103
C18:0	0,9967b	0,2119	11,1763a	0,8512	2,3021b	0,2199	2,4424b	0,7913	1,6729c	0,0075
C19:2	0,4026a	0,0773	0,1897ab	0,0099	0,3450ab	0,0359	0,2143b	0,0497	1,5043c	0,0117
C19:0	1,6801b	0,1779	0,3952b	0,2048	0,1352b	0,0269	0,2816a	0,1220	0,5709b	0,0056
C20:3n3	0,0000c	0,0000	0,3644b	0,0836	0,4927b	0,0648	0,5281a	0,2213	0,2870a	0,0055
C20:4n6	0,2669d	0,0082	0,6420c	0,0985	1,0498c	0,1327	0,5946b	0,1886	0,2298a	0,0047
C20:3n6	3,9505a	0,4964	8,2429a	0,2696	17,6002b	0,7461	7,2388c	1,4297	0,2981d	0,0104
C20:2	2,5869a	0,0042	0,4566a	0,0999	0,6463b	0,0572	1,3120c	0,4476	9,7573d	0,0022
C20:1	2,7769a	0,1661	0,5155b	0,0944	0,1711b	0,0491	0,5992c	0,2511	1,0210d	0,0021
C20:0	2,6742b	0,3330	0,7252a	0,1205	2,5744a	0,1423	0,9820b	0,2455	0,8836a	0,0139
C21:0	1,1467a	0,1763	10,6203b	0,1606	0,6688b	0,0440	11,1858a	1,2730	0,5346a	0,0103
C22:6n3	0,7587a	0,1308	0,5555b	0,1371	0,1407b	0,0232	0,6581b	0,0849	0,1912a	0,0112
C22:2	3,4620a	0,2351	8,2830c	0,4226	0,5337c	0,2080	9,1957b	1,3647	1,6322a	0,0086
C22:1n9	2,0025c	0,1611	1,3851a	0,1900	2,1374ab	0,1344	1,5541bc	0,3553	1,2524a	0,0059
C22:0	28,2043b	3,9260	4,7453a	0,1031	13,6749a	1,6644	5,0463c	1,3045	0,1578a	0,0052
C23:0	0,7918a	0,3118	1,1143ab	0,1430	0,4123b	0,0290	1,4746ab	0,5634	0,7720ab	0,0116
C24:1	2,4611a	0,2439	1,0595b	0,2132	0,1330c	0,0178	1,3217b	0,4817	2,1525a	0,0027
C24:0	5,5038b	0,5034	0,4284a	0,2089	1,4708ab	0,1022	0,5008ab	0,1223	0,3642ab	0,0091

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.

9. melléklet. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus licheniformis* törzsek zsírsav összetétele.

% zsírsavak										
Zsírsavak	Kontroll		Beregdaróc		Beregsurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
C6:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C8:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C10:0	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C11:0	0,0530	0,0391	0,0582	0,0412	0,1146	0,0130	0,0217	0,0376	1,2475	0,0155
2-OH 10:0	0,3138	0,0316	0,0654	0,0602	0,0533	0,0144	0,0378	0,0654	1,2472	0,0120
C12:0	0,4474	0,0732	0,3269	0,3181	0,4564	0,0691	0,1474	0,0862	0,8313	0,0069
C13:0	0,5650	0,0526	0,8226	0,1352	0,2978	0,0485	0,7219	0,1631	0,3692	0,0151
2-OH 12:0	0,9090	0,1621	0,5859	0,1576	0,4079	0,0791	0,7404	0,1501	0,9407	0,0112
3-OH 12:0	4,1345	0,3151	0,9015	0,3719	1,1862	0,1711	2,6020	0,2643	2,1549	0,0153
C14:1	2,2633	0,3366	1,7445	0,1737	1,2894	0,1123	1,4063	0,2895	2,3474	0,0192
C14:0	1,0461	0,2346	1,1267	0,1108	0,1981	0,0300	0,8744	0,2125	1,4478	0,0100
i-15:0	1,6071	0,1630	6,5324	0,1993	13,4866	2,5043	10,4010	2,0904	17,3542	0,0007
a-15:0	0,1679	0,0791	1,4980	0,1012	0,9374	0,0508	1,7530	0,3273	0,3577	0,0290
C15:1	0,5625	0,1074	0,9436	0,1704	0,6306	0,0575	1,2788	0,3480	1,4493	0,0212
C15:0	0,3707	0,0676	1,7773	0,1633	0,9312	0,0146	1,2284	0,3685	2,3610	0,0120
2-OH 14:0	0,1766	0,0946	0,7141	0,1023	0,2308	0,0361	0,2850	0,0199	3,2649	0,0021
3-OH 10:0	1,3012	0,2714	1,1353	0,1143	1,2319	0,1157	1,4811	0,2901	3,5544	0,0170
i-16:0	1,8755	0,7482	3,2602	0,9316	1,9183	0,1028	3,2446	1,0914	3,4574	0,0279
C16:1	7,6180	0,7286	9,5226	0,4946	10,2480	0,5641	5,5023	0,2133	21,4138	0,0537
C16:0	0,7569	0,1372	1,3907	0,0785	0,6167	0,0895	1,1944	0,3384	2,4580	0,0191
i-17:0	5,6921	0,9089	4,2854	0,2908	8,5076	0,2950	4,7887	0,3898	12,3970	0,0577
C17:1	1,7431	0,1624	1,6056	0,1312	1,0162	0,2420	2,0311	0,0718	2,4500	0,0158
C17:2	3,9687	0,3243	4,2823	0,2956	1,5109	0,1234	3,2783	0,3931	3,4381	0,0142
C17:0	0,2881	0,1246	1,2255	0,2180	0,2282	0,0373	0,6432	0,1861	5,4671	0,0058
2-OH 16:0	0,1279	0,0487	3,9810	0,1045	0,1825	0,0318	0,7800	0,7560	2,4532	0,0207
C18:2n6t	5,7139	0,2468	10,6593	1,2239	5,8688	1,1205	5,6129	0,3362	8,3452	0,0163
C18:1(9)c	0,8925	0,1593	1,0882	0,2248	0,6055	0,1192	0,9164	0,1124	2,4487	0,0109
C18:2(9.12)	0,5672	0,0514	1,4481	0,1141	0,4823	0,0495	1,2877	0,0928	1,3405	0,0151
C18:1(9)t	7,4743	0,1219	4,1327	0,6618	9,1881	0,3140	6,2681	0,2565	12,4240	0,0603
C18:0	0,3311	0,0612	3,2732	0,8557	0,3530	0,0494	2,3338	0,0489	2,4549	0,0183
C19:2	0,1448	0,0798	1,0292	0,1776	0,1392	0,0429	0,3815	0,0821	2,4422	0,0098
C19:0	0,3474	0,0557	1,3315	0,0118	0,1759	0,0428	0,7080	0,1223	3,4516	0,0133
C20:3n3	0,4067	0,0499	0,9554	0,1060	0,3226	0,0447	0,4561	0,2046	7,4656	0,0018
C20:4n6	1,5901	0,1440	1,2955	0,1308	0,6390	0,1510	1,4798	0,2722	1,3559	0,0116
C20:3n6	11,1203	0,5278	0,2059	0,1417	9,2622	1,0864	6,3386	0,5675	12,3514	0,0056
C20:2	1,6538	0,1292	2,4782	0,6231	1,5124	0,1976	2,1244	0,2431	1,3604	0,0133
C20:1	2,9429	0,0868	2,5600	0,2395	0,8779	0,1386	2,7027	0,0484	0,2543	0,0091
C20:0	1,1244	0,0869	1,4156	0,1274	0,8563	0,0820	1,2435	0,0725	1,3700	0,0064
C21:0	4,8384	0,9657	2,9016	0,1400	3,7868	0,3175	3,3569	0,1256	4,3694	0,0080
C22:6n3	1,3056	0,2103	1,8216	0,2707	0,8928	0,0446	1,7851	0,2265	1,4512	0,0139
C22:2	3,2578	0,2764	3,3973	0,3864	0,6962	0,0683	3,2450	0,2298	7,3566	0,0070
C22:1n9	5,5361	0,3625	1,7179	0,2711	7,1847	0,4101	1,8487	0,0222	2,4541	0,0192
C22:0	10,2298	0,2364	5,9356	0,0811	7,3260	0,9199	8,7093	1,0711	1,4669	0,0151
C23:0	1,0513	0,2388	2,6025	0,1316	0,6747	0,0962	2,0547	0,1745	2,3673	0,0162
C24:1	3,2546	0,3947	1,1924	0,0389	3,2675	0,4167	2,2735	0,9511	1,3468	0,0191
C24:0	0,2287	0,0810	0,7725	0,0905	0,2077	0,0528	0,4315	0,2297	0,2492	0,0164

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.

10. melléklet. A különböző mintavételi helyek levélfelszínéről származó *Bacillus megaterium* törzsek zsírsav összetétele.

% zsírsavak										
Zsírsavak	Kontroll		Beregdaróc		Beregurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
<b>C6:0</b>	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0828b	0,0052
<b>C8:0</b>	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
<b>C10:0</b>	0,1040ab	0,0287	0,0743a	0,0333	0,1341b	0,0216	0,0580a	0,0071	0,4653c	0,0075
<b>C11:0</b>	0,5603b	0,0762	0,1996a	0,0087	0,8712c	0,1132	0,5087b	0,0689	0,0853a	0,0058
<b>2-OH 10:0</b>	0,1721a	0,1026	0,8268b	0,0608	0,6307b	0,1648	0,3079a	0,0679	0,3305a	0,0122
<b>C12:0</b>	1,0289c	0,0212	1,1200c	0,0556	1,6921d	0,1574	0,7483b	0,0463	0,1216a	0,0137
<b>C13:0</b>	1,0985b	0,1882	1,9119c	0,0504	1,3082b	0,0835	1,3067b	0,1795	0,1087a	0,0186
<b>2-OH 12:0</b>	0,6114a	0,0473	0,9502b	0,0672	0,8269b	0,0849	0,8336b	0,0648	0,4816a	0,0171
<b>3-OH 12:0</b>	0,1316a	0,0343	0,3669b	0,0758	0,1889a	0,0234	0,4581b	0,0615	0,1702a	0,0193
<b>C14:1</b>	1,7261a	0,3783	1,4275a	0,1773	1,4647a	0,2557	1,6022a	0,1085	1,4397a	0,0150
<b>C14:0</b>	1,0123b	0,2196	0,8381ab	0,2090	0,9691b	0,1579	0,7045b	0,0848	0,5492a	0,0176
<b>i-15:0</b>	5,7980a	0,6925	6,3127ab	0,5231	6,2054ab	1,4647	8,0305b	0,4809	5,9477a	0,0090
<b>a-15:0</b>	1,2257a	0,2659	1,1482a	0,0661	1,3265a	0,0944	1,3119a	0,0964	2,6152b	0,0209
<b>C15:1</b>	0,5125b	0,0378	1,5914e	0,0376	1,0459c	0,1105	1,2028d	0,0705	0,2462a	0,0238
<b>C15:0</b>	0,5031a	0,0868	2,0916c	0,0934	0,7464b	0,1530	0,6195ab	0,0687	8,4468d	0,0179
<b>2-OH 14:0</b>	0,1730a	0,0269	0,0925a	0,0399	0,1981a	0,0341	1,1824b	0,1266	0,1117a	0,0161
<b>3-OH 10:0</b>	7,2265b	0,4912	5,6867a	0,1209	6,1354a	0,4539	6,0293a	0,3635	11,1196c	0,0243
<b>i-16:0</b>	1,4365b	0,2880	1,0437a	0,0775	1,7102b	0,1529	1,7749b	0,1525	0,7644a	0,0133
<b>C16:1</b>	2,9630b	0,3929	3,1817b	0,4394	2,7857b	0,2791	2,5065b	0,1629	0,7054a	0,0260
<b>C16:0</b>	0,5172a	0,0372	0,8762b	0,0163	1,1821c	0,1915	1,1837c	0,1852	4,5945d	0,0111
<b>i-17:0</b>	5,0617c	0,4036	4,8482b	0,0803	4,5434b	0,5349	5,6443c	0,2040	3,1448a	0,0149
<b>C17:1</b>	0,3249a	0,0545	1,6994d	0,0851	0,6749b	0,2547	1,2816c	0,0374	0,4062ab	0,0146
<b>C17:2</b>	0,3624a	0,0676	1,7000c	0,1245	0,8347b	0,2561	1,4453c	0,0698	0,2566a	0,0240
<b>C17:0</b>	0,2311a	0,1301	0,1724a	0,0051	0,1806a	0,0253	0,2705a	0,0547	2,1796b	0,0127
<b>2-OH 16:0</b>	0,2433b	0,0151	0,9308c	0,0557	0,2758b	0,0274	1,1469d	0,0946	0,1112a	0,0189
<b>C18:2n6t</b>	11,0210b	1,9493	9,3641b	0,8835	10,0590b	1,1412	6,4410a	0,4176	5,4994a	0,0311
<b>C18:1(9)c</b>	0,5202a	0,0332	1,5922b	0,0375	0,7644a	0,2670	1,2411b	0,1371	1,9339c	0,0086
<b>C18:2(9.12)</b>	1,3754bc	0,3031	1,0984b	0,0692	1,9429c	0,4110	1,4093bc	0,0674	0,1205a	0,0113
<b>C18:1(9)t</b>	10,0880b	0,5298	8,2849b	0,4309	9,4518b	2,0780	12,5330c	0,7082	5,4870a	0,0138
<b>C18:0</b>	1,4618a	0,5036	1,9187a	0,1000	2,0343a	0,3379	1,5970a	0,1920	3,6568b	0,0048
<b>C19:2</b>	1,0338a	0,3897	1,6571b	0,1281	1,0299a	0,1767	1,7490b	0,0975	0,1177a	0,0148
<b>C19:0</b>	0,8364a	0,1529	1,6071c	0,1295	1,2033b	0,1677	1,8684c	0,2398	0,5540a	0,0131
<b>C20:3n3</b>	0,2656a	0,0295	0,3679a	0,0747	0,2398a	0,0186	0,6953b	0,1159	0,3418a	0,0222
<b>C20:4n6</b>	2,1287b	0,0667	2,5560c	0,0987	2,2490b	0,1135	2,9660d	0,1729	0,3188a	0,0149
<b>C20:3n6</b>	15,2760c	0,6147	13,5978c	1,9582	12,4493bc	2,0639	9,6298b	0,7030	0,5403a	0,0151
<b>C20:2</b>	0,9608a	0,0509	1,4924	0,0664	1,2493b	0,0494	1,7245d	0,1487	11,2372e	0,0136
<b>C20:1</b>	0,4459a	0,0244	0,9248b	0,0502	0,7536b	0,1681	1,2412c	0,1101	2,7020d	0,0213
<b>C20:0</b>	1,0070b	0,0461	1,3366c	0,0589	1,0792b	0,0991	1,5766b	0,0848	0,1126a	0,0146
<b>C21:0</b>	0,4227b	0,0132	1,5839d	0,0968	0,7657c	0,1834	1,8840e	0,1881	0,1166a	0,0099
<b>C22:6n3</b>	0,1906a	0,0706	0,3515a	0,0106	0,2848a	0,0277	0,6852b	0,1384	0,2430a	0,0204
<b>C22:2</b>	0,2279a	0,0933	0,1817a	0,0262	0,4569ab	0,1566	0,6009b	0,1741	8,6795c	0,0211
<b>C22:1n9</b>	4,2497c	0,6363	0,8499a	0,1498	3,4017b	0,1049	1,0707a	0,0907	8,3066d	0,0089
<b>C22:0</b>	13,2956e	0,9332	8,4251c	0,5814	11,4137d	0,5663	7,1624b	0,0665	0,1916a	0,0147
<b>C23:0</b>	0,4857a	0,0750	1,4815b	0,3168	0,7686a	0,1531	1,6015b	0,3629	0,3241a	0,0182
<b>C24:1</b>	0,9490a	0,1459	1,3350b	0,0714	1,6355b	0,3829	1,1502b	0,0908	4,5523c	0,0173
<b>C24:0</b>	0,7339b	0,1385	0,9027b	0,0495	0,8366b	0,1957	1,0149c	0,0671	0,4796a	0,0315

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.

11. A különböző mintavételi helyek talajából származó *Bacillus megaterium* törzsek zsírsav összetétele.

Zsírsavak	% zsírsavak									
	Kontroll		Beregdaróc		Beregurány		Gelénes		Törzstenyészet	
	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD	Átlag	SD
C6:0	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0828b	0,0052
C8:0	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000	0,0000a	0,0000
C10:0	0,0012a	0,0021	0,0063b	0,0109	0,0363a	0,0165	0,0012a	0,0021	0,4653b	0,0075
C11:0	0,4201b	0,1010	0,0373b	0,0327	0,2915a	0,0999	0,0291a	0,0503	0,0853c	0,0058
2-OH 10:0	0,1695c	0,0237	0,0000b	0,0000	0,1394a	0,0338	0,0370a	0,0325	0,3305a	0,0122
C12:0	0,9293c	0,0604	0,0796b	0,0209	0,6908a	0,0859	0,0638a	0,0466	0,1216a	0,0137
C13:0	0,4520b	0,1122	0,0603b	0,0217	0,5253a	0,0707	0,0436a	0,0755	0,1087a	0,0186
2-OH 12:0	0,5541bc	0,1171	0,2051c	0,0899	0,6914a	0,0948	0,2492a	0,0203	0,4816b	0,0171
3-OH 12:0	0,1298a	0,0396	0,2850ab	0,0342	0,1687c	0,0466	0,2516bc	0,0670	0,1702ab	0,0193
C14:1	0,7446b	0,1232	0,2087b	0,1053	0,5762a	0,0757	0,0616a	0,0243	1,4397c	0,0150
C14:0	0,4650a	0,0319	0,3821a	0,2001	0,3633a	0,0498	0,3661a	0,0282	0,5492a	0,0176
i-15:0	13,5912b	1,2188	17,9052c	1,3088	21,2434c	2,3231	12,0260b	1,5651	5,9477a	0,0090
a-15:0	6,8347b	1,2248	10,1213c	0,5085	10,7148c	2,5316	5,1670ab	0,2572	2,6152a	0,0209
C15:1	1,6348c	0,2808	0,7123c	0,1303	1,3571b	0,1101	0,7301b	0,0897	0,2462a	0,0238
C15:0	0,6767b	0,0125	1,1689b	0,1025	0,6271c	0,0991	0,3836a	0,0479	8,4468d	0,0179
2-OH 14:0	0,1526a	0,0276	0,9147a	0,1439	0,2531c	0,0537	0,7530b	0,0302	0,1117a	0,0161
3-OH 10:0	8,6343bc	2,3855	1,1764a	0,0630	7,5954b	0,7360	0,9204a	0,0561	11,1196c	0,0243
i-16:0	0,6841a	0,0713	0,9454c	0,1449	0,6250a	0,0731	0,8068ab	0,0593	0,7644ab	0,0133
C16:1	2,1010b	0,1205	2,3686b	0,0972	1,6631b	0,1758	3,8208c	0,6022	0,7054a	0,0260
C16:0	0,4356a	0,0938	1,0464b	0,0434	0,5434a	0,0751	1,0619b	0,0526	4,5945c	0,0111
i-17:0	5,4369d	0,3029	0,0975a	0,0102	4,9241c	0,2487	0,2602a	0,0201	3,1448b	0,0149
C17:1	0,3128a	0,0714	0,6582b	0,0564	0,4012a	0,1129	1,0597c	0,0623	0,4062a	0,0146
C17:2	0,3968b	0,0363	0,3701b	0,0409	0,3421ab	0,0543	0,6542c	0,0469	0,2566a	0,0240
C17:0	0,6354a	0,0358	0,9048c	0,0738	0,5578a	0,0762	0,7589b	0,0222	2,1796d	0,0127
2-OH 16:0	0,2326ab	0,0405	0,5504c	0,0916	0,3099b	0,0369	0,9284d	0,0866	0,1112a	0,0189
C18:2n6t	7,5318c	0,4057	10,5669d	0,9477	6,3374bc	0,5561	2,1488a	0,3467	5,4994b	0,0311
C18:1(9)c	0,4641a	0,0393	0,7099c	0,1552	0,3862a	0,0270	4,0660a	4,9852	1,9339a	0,0086
C18:2(9.12)	3,1624b	0,1741	5,3767c	0,5934	3,4190b	0,2466	7,7806d	0,8554	0,1205a	0,0113
C18:1(9)t	9,7417c	0,5643	6,8874b	0,7029	7,1758b	0,6632	9,8134c	0,4034	5,4870a	0,0138
C18:0	1,1126a	0,1685	1,1724a	0,1798	1,0707a	0,0899	0,8746a	0,0078	3,6568b	0,0048
C19:2	1,0414d	0,0442	0,1091a	0,0221	0,8363c	0,1108	0,4170b	0,1179	0,1177a	0,0148
C19:0	1,5192b	0,0984	1,3481b	0,0307	1,2159b	0,1616	1,8639c	0,2662	0,5540a	0,0131
C20:3n3	0,9731b	0,0613	1,2191b	0,2759	0,9465b	0,1483	2,5434c	0,1969	0,3418a	0,0222
C20:4n6	0,3144a	0,0900	0,5503a	0,0438	0,4013a	0,0879	1,1882b	0,1977	0,3188a	0,0149
C20:3n6	9,8362d	0,6504	8,4463c	0,2597	6,4601b	0,5111	7,2797b	0,3158	0,5403a	0,0151
C20:2	1,0481b	0,0933	1,4565c	0,1263	1,0746b	0,1460	0,7914a	0,0907	11,2372d	0,0136
C20:1	0,5474a	0,0669	0,6445a	0,1195	0,4577a	0,0393	1,1665b	0,1716	2,7020c	0,0213
C20:0	1,3914bc	0,1974	1,6386c	0,0807	1,2062b	0,0574	2,6889d	0,1989	0,1126a	0,0146
C21:0	0,4481ab	0,0631	0,9277c	0,0795	0,5703ab	0,0417	1,6234d	0,6175	0,1166a	0,0099
C22:6n3	0,5006ab	0,0467	0,7417b	0,0469	0,4428ab	0,0385	3,0423c	0,3389	0,2430a	0,0204
C22:2	0,2446a	0,0263	0,5539b	0,0308	0,2593a	0,0200	1,1598c	0,2111	8,6795d	0,0211
C22:1n9	5,5977ab	0,7145	6,4634b	0,7525	4,8673a	0,2135	10,9281d	0,6223	8,3066c	0,0089
C22:0	6,7889b	0,3875	8,3850c	0,4918	6,4440b	0,2927	7,2677b	0,2963	0,1916a	0,0147
C23:0	0,5505ab	0,1005	0,8693bc	0,1205	0,6097ab	0,0553	0,9934d	0,2671	0,3241a	0,0182
C24:1	0,9571b	0,0352	1,0240b	0,0545	0,6976b	0,1078	0,7311b	0,1996	4,5523c	0,0173
C24:0	0,6033b	0,0869	0,7047b	0,0994	0,4808a	0,0140	1,1975c	0,2778	0,4796a	0,0315

Megjegyzés: ANOVA: Tukey's B-test (n=3). A sorokban azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan egymástól. (P< 0.05). A "c" és "t" utótagok cisz és transz geometriai izomereket jelölnek. Az "i" és "a" előtagok iso- és anetiso helyzetű elágazást (metilcsoportot) jelölnek.