

HAZAI EPIKARSZT RENDSZEREK TALAJAIBAN ELŐFORDULÓ MIKROBAKÖZÖSSÉGEK SZERKEZETÉNEK ÉS AKTIVITÁSÁ- NAK ÖSSZEHASONLÍTÓ ELEMZÉSE

KNÁB MÓNKA¹ – KISS KLAUDIA² – LEHNER ÁDÁM¹ – SZILI-
KOVÁCS TIBOR³ – PALATINSZKY MÁRTON¹ – MÁRIALIGETI KÁ-
ROLY¹ – MÓGA JÁNOS² – BORSODI ANDREA¹

¹ELTE Mikrobiológiai Tanszék, ²ELTE Természetföldrajzi Tanszék,
1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/C
³MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet
1022 Budapest, Herman Ottó út 15.
moniknab@gmail.com

Abstract: From two characteristic karstic areas of Hungary - Aggtelek National Park and Tapolca-basin – 17 different soil samples were taken in autumn 2009. Microbial biomass C and N were determined by chloroform fumigation extraction method. The activity of microorganisms in soils were followed up by measuring basal- and substrate induced respiration (RESP and SIR) using gas chromatography. The phylogenetic diversity of bacterial communities was investigated by 16S rDNA based Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE). In each soil samples multiple microbial biomass C- than N- values were detected. The lowest MBC/MBN rates could be calculated from the samples of the shallowest soil layers. Higher biomass as well as RESP and SIR values were characteristic to the surface and near-surface soil samples. The highest RESP, SIR, biomass C and N values were measured in the black rendzina soils from Aggtelek. The soil type influence on bacterial community structure was confirmed by the DGGE results as phylogenetic diversity of black rendzina soils was the most different. On the basis of each investigation, other soil samples separated mainly according to the sample depths, irrespectively of the sampling sites.

Bevezetés

A karsztökológiai rendszer és alrendszereinek (pl. epikarszt) vizsgálata kiemelkedően fontos feladat valamennyi karsztvidéken, így hazánkban is a természeti értékek megőrzése, a fenntartható gazdálkodás, a felszín alatti vízbázis védelme érdekében (HAMILTON-SMITH 1999, GUNN 1999, BÁRÁNY 1999, BECK-BORGER 1999).

A karsztkutatásban az 1950-es évektől kezdve egyre nagyobb figyelem irányult a talajban élő baktériumok vizsgálatára. Mindezt indokolja az anyagforgalomban, energiaáramlásban, karsztos kőzetek képződési- és oldódási folyamataiban betöltött jelentős szerepük, valamint nagy számuk és fajgazdagságuk (TORSVIK *et al.* 1990, PACE 1997, 1999, LI *et al.* 2004, BIN *et al.* 2008).

A felszínnel közvetlen kapcsolatban álló, komplex fizikai, kémiai és biológiai folyamatokkal jellemezhető epikarszt-talajok kutatása különös jelentőséggel bír, rajta keresztül a természetes és antropogén hatások egyaránt vizsgálhatóak.

Vizsgálatainkhoz Magyarország két jelentős karsztos táján, a Gömör-Tornai-, valamint a Tapolcai-karszt területén jelöltük ki a mintavételi pontokat. A Gömör-Tornai-karszt talajait több alkalommal vizsgálták, elsősorban a talajmikrobák karsztkorróziós hatásának szempontjából (ZÁMBÓ 1998, KEVEI-ZÁMBÓ 1986, DARABOS 1997). A Tapolcai karszton hasonló kutatásokat eddig nem folytattak.

Célunk a két különböző karsztos területről származó talajtípusok összehasonlító mikrobiológiai vizsgálata, a talajban élő baktériumközösségek strukturális és funkcionális diverzitásának feltárása volt, amellyel az egyes talajok biogén CO₂-termelésének mértékére, ezáltal azok karsztkorróziós hatásának különbségeire vonatkozó információkat is nyerhetünk.

Vizsgálati anyag és módszerek

A nagyszámú minta feldolgozásához többféle módszert alkalmaztunk. Elvégeztük a talajminták alapvető fizikai és kémiai paramétereinek vizsgálatát. A mikrobiális biomassza C és N értékének becslését kloroform fumigációs extrakciós módszerrel végeztük, a talajmikrobák aktivitását az alaprespiráció, illetve szubsztrát indukált respiráció mérésével követtük nyomon. A talajminták valamint az esőszimulációs kísérletek során átszivárgott vízminták baktériumközösségeinek összetételét DGGE módszerrel hasonlítottuk össze.

Az egyes talajtípusok mikrobiális karbonátoldó hatásának összehasonlítására laboratóriumi kisminta modelleket állítottunk össze.

2009. őszén összehasonlító mikrobiológiai vizsgálatok céljából a karsztos területek jellegzetes talajtípusaiból az *I. táblázatban* felsorolt mintavételi pontokon – az adott talajtípus színtezettségétől, illetve üledékek esetén rétegzettségétől függően kiválasztott – különböző talajmélységekből fúrómag-mintavetővel gyűjtöttünk mintát, steril edényekbe. A talajmintákat a 24-48 órán belül végzett laboratóriumi feldolgozásig 6-8°C-on tároltuk.

Meghatároztuk a talajminták alapvető fizikai és kémiai tulajdonságait. A desztillált vizes és KCl oldatos kémhatást elektrometriásan, a talajnedvességet 105°C-on történő szárítással határoztuk meg. A humusztartalmat Tyurin-módszerrel, a kalcium-karbonát mennyiségét Scheibler-féle kalciméterrel mértük. A szemcseeloszlás vizsgálatot Fritsch Analysette Microtech 22 lézerdiffrakciós analizátorral végeztük (a műszer a 100nm – 700 um tarto-

mányban mér), a minták tökéletes diszpergálása érdekében Na-pirofoszfátos előkészítést, majd vízfürdőben 6 órás rázatást alkalmaztunk.

I. táblázat
Table I.

Mintavételi helyek és a talajminták jelölései
Sampling sites and signs of soil samples

Mintavétel helye	Mintavétel ideje	Minta jelzése	Talajsztint
Aggtelek	2009.10.25.	A1/0	0-5 cm
Vörös-tó, tőbör alja	2009.10.25.	V1/0 (31A, 31B)	0-20 cm
Vörös-tó, tőbör alja	2009.10.25.	V1/50	50-60 cm
Vörös-tó, tőbör alja	2009.10.25.	V1/70	70-80 cm
Vörös-tó, tőbör, D-i lejtő	2009.10.25.	V2/0 (32A, 32B)	0-20 cm
Vörös-tó, tőbör, D-i lejtő	2009.10.25.	V2/20	20-40 cm
Vörös-tó, tőbör, É-i lejtő	2009.10.25.	V3/0 (11A, 11B)	0-30 cm
Derenk, tőbör alja	2009.10.26.	D1/50 (33A, 33B)	50-65 cm
Derenk, tőbörperem, É-i lejtő	2009.10.26.	D2/0 (34A, 34B)	0-25 cm
Béke-tőbör, ÉNy-i lejtő	2009.10.26.	B1/70	70-90 cm
Béke tőbör, D-i lejtő	2009.10.26.	B2/20 (22A, 22B)	20-30 cm
Béke tőbör, tőbör alja	2009.10.26.	B3/0 (21A, 21B)	0-25 cm
Béke tőbör, tőbör alja	2009.10.26.	B3/100 (12A, 12B)	100-120 cm
Béke barlang feletti hegyoldal	2009.10.26.	B4/0 (2A, 2B)	0-15 cm
Szomor-hegy, DK-i lejtő	2009.10.26.	Sz1/0	0-25 cm
Tapolca, Alsó-Cser-tó mellett	2009.11.03.	T1/0 (3A, 3B)	0-15 cm
Tapolca, ill. hulladéklerakó	2009.11.03.	T2/0 (13A, 13B)	0-15 cm

Az utóbbi évtizedekben számos, a mikrobiológiai tenyésztés szelektív hatását kiküszöbölő biomassza becselő eljárást dolgoztak ki, amelyek közül egyszerűségüknél és rutinszerű alkalmazhatóságuknál fogva kiemelkednek a kloroform fumigációs eljárások. E mérések eredményeként közvetlenül a biomassza C-, N- vagy más elem tartalmát kapjuk meg (SZILLI-KOVÁCS-TÓTH 2006).

Minden talajminta esetében a mikrobiális biomassza C és N mennyiségét kloroform fumigációs extrakciós módszerrel, 3-3 párhuzamos rész-minta szerves C és N mennyiségének mérésével és az eredmények átlagolásával (Apollo 9000, TOC/TN automata analizátor, Teledyne Tekmar, Mason, Ohio, USA) határoztuk meg.

A mikrobiális biomassza C számításához használt képlet:

$$MBC = (C_{fum} - C_{nfum})/K_{EC}$$

ahol

MBC: a mikrobiális biomassza C,

C_{fum}: a fumigált talajban kioldható szerves-C,

C_{nfum}: a nem fumigált talajban kioldható szerves-C,

K_{EC}: átszámítási tényező (K_{EC}=0,45; *JOERGENSEN* 1996).

A képlet szerint a teljes biomasszának csak egy része oldható ki az extrakció során. Ugyanígy számítjuk ki a mikrobiális biomassza MBN értékét is (K_{EN}= 0,54; *JOERGENSEN & MUELLER* 1996).

A talajban élő mikroorganizmusok aktivitását a talajrespiráció és a szubsztrát indukált respiráció mérésével követtük nyomon mintánként 3-3 párhuzamos mérést alkalmazva. Az aerob talajlégzésnek (respiráció) az O₂-fogyasztás mérése felelne meg egyértelműen, azonban a CO₂ kisebb háttérkoncentrációja miatt a respirációs mérések többnyire ez utóbbi kvantitatív meghatározásán alapulnak. A szubsztrát indukált respiráció (SIR) a telítési koncentrációban jelenlévő, könnyen hasznosítható szubsztrát (pl. glükóz) hatására adott respirációs válasz, mely arányos a mikrobiális biomassza nagyságával (*SZILI-KOVÁCS* 2004).

A talajrespirációt és a SIR-t a CO₂-képződés alapján gázkromatográffal mértük (*SZILI-KOVÁCS-TÖRÖK* 2005). Az inkubációhoz 2-2 g talajt mértünk be 25 cm³ térfogatú edényekbe. Az edények lezárása után 4 és 24 órával mértük a képződött CO₂-ot, majd a kettő különbségéből kiszámítottuk a CO₂-képződés sebességét (alaprespiráció). A mintákat 22°C-os rázóvízfürdőben inkubáltuk. Az alaprespiráció mérése után ugyanabból a mintából határoztuk meg a SIR-t is. Az edényekben lévő talajokhoz 200 µl glükózoldatot (8 mg glükóz·g⁻¹ talaj) adtunk, és 180 perc elteltével mértük a képződött CO₂ mennyiségét. A CO₂ mérést FISON'S GC 8000 gázkromatográffal végeztük, 250 µl gázmintából (*SZILI-KOVÁCS et al.* 2009).

A talajminták baktériumközösségeinek filogenetikai diverzitását DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) módszerrel hasonlítottuk össze. A DGGE olyan molekuláris ujjenyomat módszer, amely alkalmas közel azonos hosszúságú, de eltérő bázissorrendű DNS szakaszok szétválasztására, ezáltal különböző mikrobaközösségek genetikai diverzitásának összehasonlítására (*MUYZER et al.* 1993). A módszert széles körben alkalmazzák különböző talaj-mikrobaközösségek tanulmányozásra (*HEUER et al.* 1997, *KOWALCHUK et al.* 1998, *ØVREAS et al.* 1998, *NAKATSU et al.* 2000, *MULLER et al.* 2001, 2002, *IBEKWE et al.* 2002, *ELLIS et al.* 2003). A módszer azon alapul, hogy 50-65°C közötti hőmérsékleten, a formamid és

urea denaturálószeres lineáris grádiensét tartalmazó poliakrilamid gélben futtatva, a duplaszálú DNS részlegesen denaturálódik, ezáltal csökken a mobilitása. A vizsgált DNS szakaszok százalékos G+C tartalmuknak és bázissorrendjüknek megfelelően egymástól különböző „olvadásponttal” rendelkeznek, így a gélben az egymástól elkülönülő csíkok mintázatot hoznak létre, ami a DNS specifikus festésével megjeleníthető.

A DGGE vizsgálatok céljára a talajmintákból Ultra Clean™ Soil DNA Isolation Kit (MoBio) alkalmazásával izoláltunk közösségi DNS^o-t, majd a 16S rRNS gént két lépésben először 27f és 1392r, majd GC-341f és 534r primerpár segítségével polimeráz láncreakcióval (PCR) felszaporítottuk. A DGGE elemzést 8%-os poliakrilamid (PAA) gélben, 40-60% denaturáló grádiens mellett, Ingeny PhorU készülékben végeztük, 60°C-on 120V feszültség értéken 14 órán át. A mintázatot etídium-bromidos festéssel, UV gerjesztéssel detektáltuk, a kapott sávmintázatot TotalLab (TL 120) v2006 szoftverrel értékeltük ki.

Az egyes talajtípusok mikrobiális karbonátoldó hatásának azonos körülmények között történő összehasonlítására laboratóriumi kisminta modellrendszereket állítottunk össze. ZÁMBÓ (1998) módszerét kissé módosítva: 6 cm magasságú talajoszlopokat helyeztünk 4 cm átmérőjű üvegcsövekbe, melyeket felül steril baktériumszűrő dugóval zártunk le. A dugókon keresztül a csapadékhoz hasonló összetételű lágyvizet jutattunk be. A talajok alá műanyagszűrő, illetve szűrőpapír közé egyenként 20 g tömegű, analitikai pontossággal lemért mészkőport helyeztünk, kémiaileg inert filterbe csomagolva. A rendszereket végül átfűrt gumidugóval zártuk le. Az átszivárgó vizet steril műanyag edényekbe gyűjtöttük, majd az így nyert mintákat kémiai, illetve mikrobiológiai vizsgálatoknak vetettük alá. A frissen laborba szállított talajokat 20°C hőmérsékletű steril lágyvízzel esőztettük, hevesebb csapadéknak megfelelő 20 mm/óra (kísérletünkben az ennek megfelelő 5 ml / 10 perc) intenzitással, 6 órán keresztül. A további elemzésekhez elegendő mennyiségű átszivárgott vizet az első 12 órában fogtuk fel.

Három egymástól független kísérletsorozatot végeztünk, amelyek az alábbiak:

- Nem sterilizált talajminták esőztetését, alattuk a karsztos alapkőzetet szimuláló a.l.t. mészkőpor, a mikrobiológiailag aktív talajok karsztkorróziós hatásának vizsgálatára.
- Nem sterilizált talajminták esőztetését, karsztos alapkőzet nélkül, így a talajból esetlegesen kioldódott kalcium-karbonát miatt az 1. kísérletsorozat során keletkezett hiba kiküszöbölhetővé vált. A vízminták hidrogénkarbonát-tartalmának meghatározását az érvényes MSZ (448-11:1986) szerint végeztük.

- Kontrollként sterilizált talajminták esőztetését is elvégeztük a karsztos alapkőzetet szimuláló a.lt. mészkőpor jelenlétében, ily módon a mikrobiológiailag inaktív talajok karsztkorróziós hatása vizsgálható.

Eredmények és értékelésük

A minták alapvető fizikai-kémiai paramétereit a *II. táblázat* tartalmazza. A pH_{dV} a fekete és barna rendzina talajok esetében magasabb. A vörösayagok között lokális különbségek mutatkoztak: a Béke-töbörnél mért értékek minden esetben 0,5-1 egységgel alacsonyabbak a Vörös-tóiaknál. Kismértékű karbonáttartalom csak a $pH_{KCl} > 6,8$ talajokra volt jellemző (T2/0 3,1%; D2/0 1,4%). A talajnedvesség-értékek a felső, humuszos szintek esetében rendre magasabbnak mutatkoztak a szélsőséges vízháztartású agyagos talajoknál. A szervesanyag-tartalom a fekete és barna rendzinákban a legjelentősebb. A lézeres szemcseanalízis eredménye alapján a minták agyag, ill. agyagos vályog fizikai féleségűek.

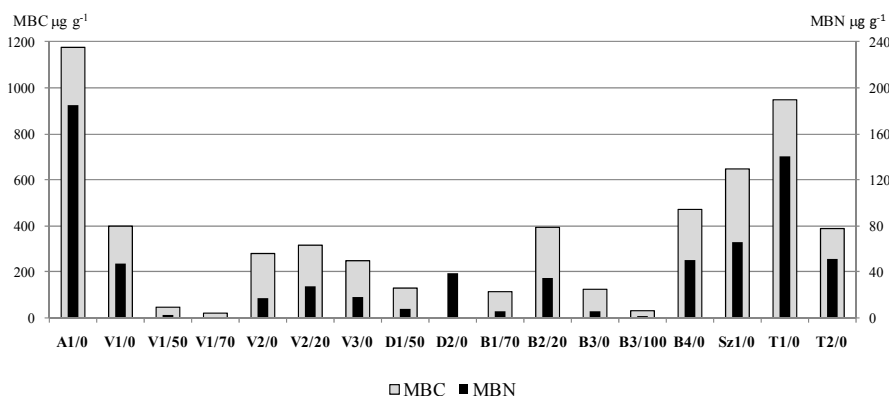
II. táblázat
Table II.

A talajminták fizikai és kémiai jellemzői
(br: barna rendzina, fr: fekete rendzina, va: vörösayag, vr: vörösayagos rendzina, bet: barna erdőtalaj)
Physical and chemical characteristics of the soil samples
(br: brown rendzina, fr: black rendzina, va: red clay, vr: red clayey rendzina, bet: brown forest soil)

Minta jelzése	Talaj-típus	pH d.víz	pH KCl	Szerves anyag-tartalom %	Nedvesség-tartalom %
T2/0	Br	7,6	7,3	1,88	12,43
T1/0	Fr	6,7	6,1	5,52	31,36
B3/100	Va	6,1	4,5	1,01	16,78
B3/0	Va	5,6	4,2	1,81	15,54
B1/70	Va	5,8	4,2	1,14	21,07
B2/20	Va	5,1	3,5	1,99	27,72
SZ1/0	Bet	5,1	3,8	3,13	27,12
D2/0	Vr	7,7	7,3	2,37	26,96
D1/50	Va	6,7	4,8	1,43	19,31
B4/0	Br	7,1	6,3	4,91	30,57
A1/0	Fr	6,6	6,0	8,51	36,94
V1/70	Va	6,3	4,7	1,02	19,90
V1/50	Va	6,3	5,2	2,51	17,05
V1/0	Va	6,6	6,0	3,98	31,04
V2/20	Va	7,0	6,1	3,96	25,53
V2/0	Va	6,7	5,6	3,24	25,03
V3/0	Va	6,5	5,1	1,81	22,90

Kivételt képeznek a Tapolcai-karszton gyűjtött minták, amelyeknél a földtani adottságok miatt (pannon üledékek) a nagyobb szemcseméretűek dominálnak, néhány %-ban homokfrakciót is tartalmaznak.

A 17 eltérő típusú és/vagy különböző mélységből vett talajmintában mért mikrobiális biomassza C- és N- mennyiségeket az 1. ábrán tüntettük fel. Látható, hogy a biomassza C-értékek valamennyi minta esetében a biomassza N-mennyiségek többszörösének adódtak. A legkisebb MBC/MBN értéket (6,35-7,63) a legsekélyebb talajréteggel jellemezhető A1, T1 és T2 minták esetében, míg a legnagyobb értéket (23,08) a legmélyebbről származó talajminta (B3/100) esetében számoltuk. Jellemzően a felszíni és felszín közeli (20 cm-es) mintákban (A1/0, T1/0, Sz1/0, B4/0, B2/20, V2/20) mértük a nagyobb biomassza értékeket, míg az 50 cm-es vagy annál mélyebb rétegekben (V1/50, V1/70, D1/50, B1/70, B3/100) nagyon alacsony értékeket kaptunk (1. ábra).



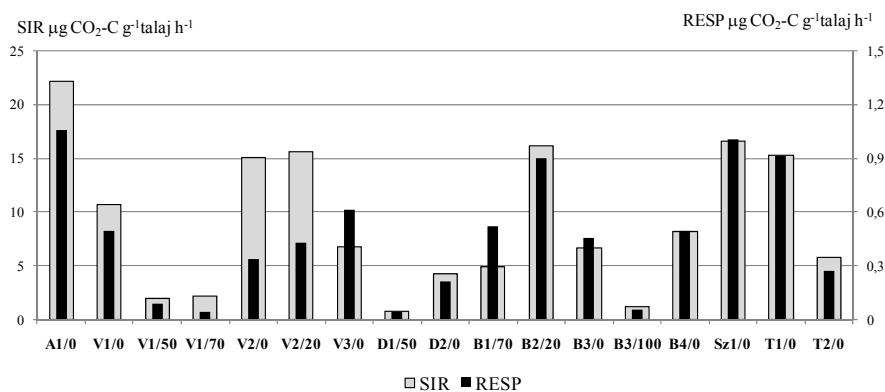
1. ábra Mikrobiális biomassza C (MBC) és N (MBN) értékek a 2009. őszi talajmintákban (szürke oszlopok: MBC, fekete oszlopok: MBN)

Fig. 1. C (MBC) and N (MBN) values of the microbial biomass in the soilsamples of autumn 2009. (gray columns: MBC, black columns: MBN)

A biomassza mérési eredményekhez hasonlóan a respirációs mérések (2. ábra) esetében is jelentős különbségek mutatkoztak az egyes talajminták között mind az alaprespirációt, mind a szubsztrát indukált respirációt illetően.

Itt is általában a felszíni és felszín közeli minták esetében mértük a magasabb értékeket, és az 50 cm-es vagy annál mélyebb minták esetében jóval alacsonyabb respirációs aktivitást kaptunk. Mindez összhangban van azzal a korábbi megfigyeléssel, hogy a mikrobák száma és aktivitása a mélységgel csökken, ezért a biogén CO₂-produkció a felső szintekben magasabb (ZÁMBÓ 2001, DARABOS 1997).

Mindkét vizsgálat eredménye alapján elsősorban a mikrobaközösségek talajmélység szerinti elkülönülését figyeltük meg. *AGNELLI et al.* (2004) erdei talajban, vertikális profil mentén vizsgálta az egyes talajsintek mikrobaközösségeit. A mikrobiális biomassza C, az alaprespiráció, valamint a C/N értéke egyaránt a mélységgel csökkenő tendenciát mutatott. A legnagyobb alap és szubsztrát indukált respiráció, valamint biomassza C- és N-értékeket az Aggtelekről származó fekete rendzina talaj esetében mértük, ami azt valószínűsíti, hogy nemcsak a talaj mélysége, hanem típusa is befolyásolja azokat.

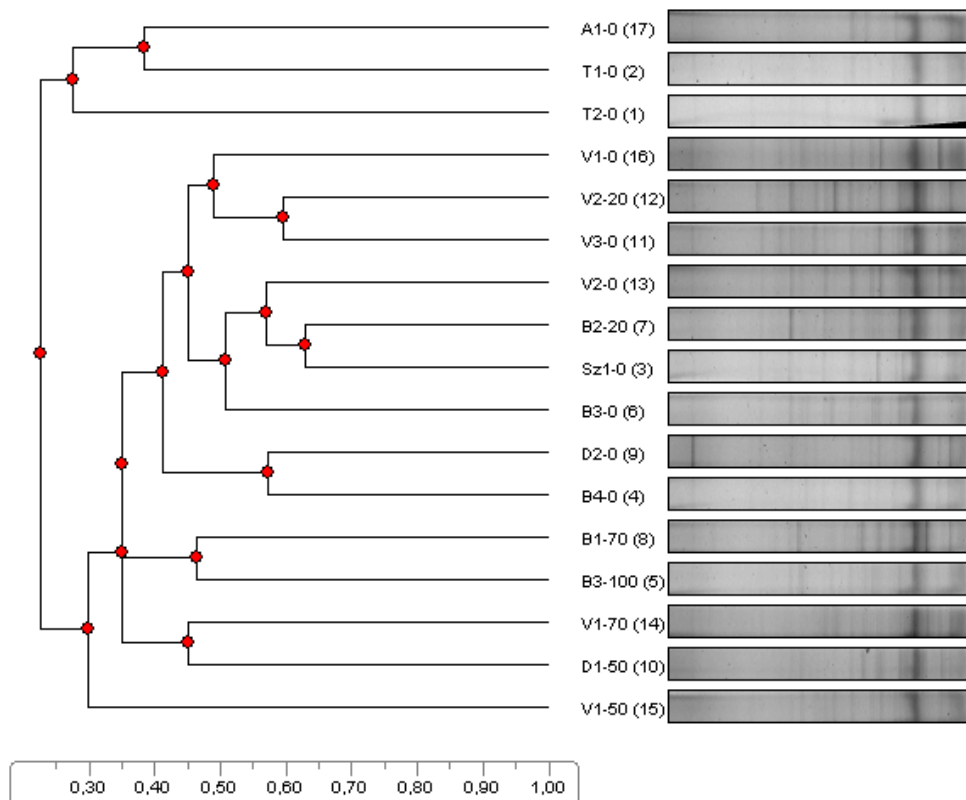


2. ábra Alaprespiráció (RESP) és szubsztrát indukált respiráció (SIR) értékek a 2009. őszi talajmintákban
 Fig. 2. Basic respiration (RESP) and substrate induced respiration (SIR) values in the soil samples of autumn 2009.

NAKATSU et al. (2000) Norvégiából és az Egyesült Államokból, mezőgazdasági területekről származó talajmintákon tesztelte a DGGE módszert. Két különböző Bacteria-specifikus primer-párt alkalmaztak, mindkét esetben nagyszámú (több száz) OTU-t lehetett elkülöníteni a DGGE profil alapján. A csíkok nagy száma minden sávban elmosódott mintázatot eredményezett. Mindebből arra következtettek, hogy a magas diverzitással jellemezhető környezeti minták esetén nincs lehetőség a közösségek közti különbségek kvantitatív elemzésére. A módszer, mint kezdő lépés, mégis jól alkalmazható a mikrobiális ökológiai kutatások során, amikor nagyszámú minta gyors, kvalitatív összehasonlítására van szükség. *IBEKWE et al.* (2002) és *MULLER et al.* (2001, 2002) is sikerrel alkalmazta a módszert talaj-mikrobaközösségek szerkezetében és diverzitásában különböző hatásokra (pl. mezőgazdasági kezelések, Hg-szennyezés) bekövetkező változások detektálására.

Az általunk vizsgált talajminták DGGE sávmintázata alapján szerkesztett UPGMA dendrogramon (3. ábra) a baktériumközösségek három hasonlósági csoportot alkottak. A gélcsíkokban megfigyelhető csíkok cse-

kély száma (5-16 db) és alacsony intenzitása alapján az A1/0 (fr), a T1/0 (fr) és T2/0 (br) talajminták mikrobaközösségei különültek el legjobban a többi-től, így feltételezhető, hogy a különböző talajtípusok eltérő baktériumközösségekkel jellemezhetőek. Az eredmények alapján feltételezhető, hogy a talaj szerves anyag tartalma szintén befolyással van a mikrobaközösségek összetételére. Erre a megállapításra jutott nehézfém-szennyezett mezőgazdasági talajok mikrobaközösségeinek vizsgálata során KOZDRÓJ (2001) is.

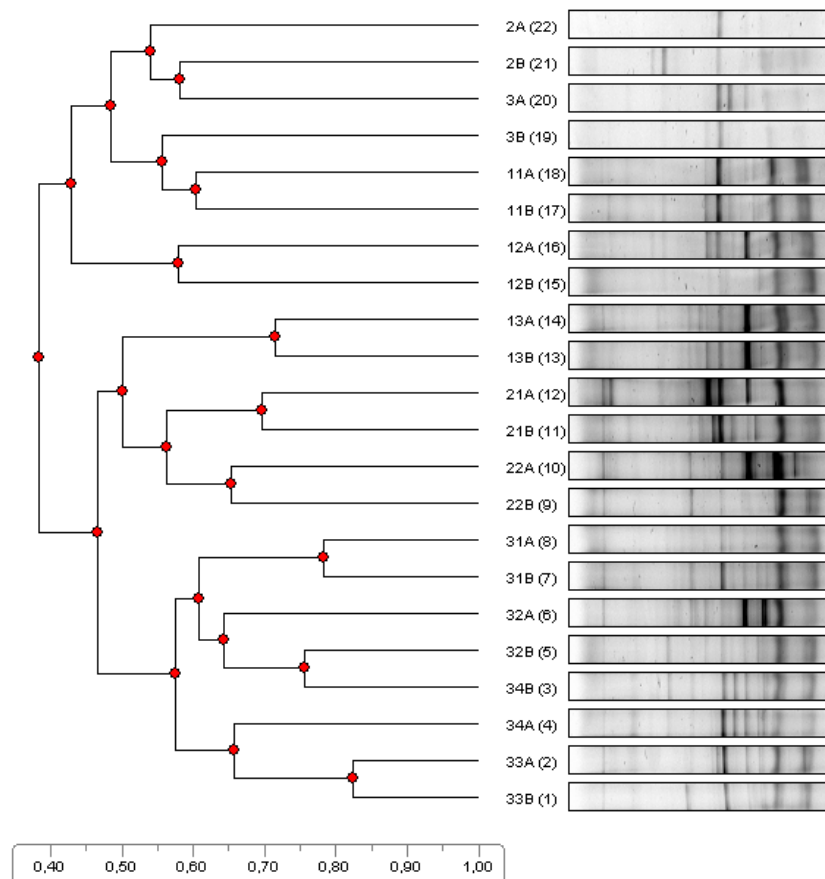


3. ábra A talajminták baktériumközösségeinek DGGE sávmintázata alapján szerkesztett UPGMA dendrogram
Fig. 3. UPGMA dendrogram edited according to the DGGE patterns of the soil samples' bacteria communities

A többi minta esetében sem a csíkok számában (16-27 db), sem pedig azok intenzitásában nem lehetett ilyen markáns elkülönülést megfigyelni, bár a felszíni és felszínközeli minták baktériumközösségei a mintázat típusa alapján kisebb mértékben elkülönültek az 50 cm-es és annál mélyebb minták baktériumközösségeitől. Hasonló eredményre jutott AGNELLI *et al.* (2004) is, aki erdei talaj mikrobaközösségeit DGGE módszerrel hasonlította össze egy vertikális talajprofil mentén. A vizsgálat komplex sávmintázatot eredményezett, mely alapján a baktériumok magas diverzitására lehetett

következtetni. A közösség szerkezet a mélységgel változott, a legnagyobb bakteriális diverzitás a talaj felső (A1 és A2) szintjeire volt jellemző. A csíkok intenzitásában megfigyelhető különbségeket a PCR torzításai is eredményezhették, ezért abból nem következtethetünk egyértelműen az egyes baktériumfajok abundancia viszonyaira.

A laboratóriumi esőszimulációs kísérletek során a sterilizált talajmintákkal végzett kontroll kísérletek esetében mikrobiológiai vizsgálatokra nem került sor. A nem sterilizált talajminták felhasználásakor az átszűrődött vízminták baktériumközösségeit DGGE mintázatuk alapján hasonlítottuk össze (4. ábra).



4. ábra A talajminták felhasználásával végzett laboratóriumi esőszimulációs kísérletek során átszűrődött vízminták baktériumközösségeinek DGGE sávmintázata alapján szerkesztett UPGMA dendrogram

Fig. 4. UPGMA dendrogram edited according to the DGGE patterns of the bacteria communities filtered from water samples in the course of the laboratory rainsimulation tests. The tests were made using the soil monolit samples.

Ugyanazon talajminták közvetlen (B) és mészkövel kiegészített (A) modellrendszereiben a vizsgálat 12 órás időtartama alatt a baktériumközös-

ségek szerkezetében nem lehetett különbségeket felfedezni. Erre utal, hogy a dendrogramon az azonos számjelzésű A és B minták rendszerint egymás mellé rendeződtek. A vizsgált minták két nagyobb csoportot képeztek, melyek közül az egyikbe a rendzina (2, 3, 11, 12), a másikba pedig a vörös-barna erdei talajok és vörös agyagok (13, 21, 22, 31, 32, 33, 34) baktériumközösségei kerültek, amiből arra következtethetünk, hogy az átszivárgó vízben megjelenő mikrobaközösségek összetételét elsősorban a talaj típusa befolyásolta.

A sterilizált és nem sterilizált talajokkal végzett karsztkorróziós kísérletekből származó vízminták kémiai elemzése nem eredményezett számottevő különbséget. A nem sterilizált talajtípusok karsztkorróziós hatásuk szempontjából az átszűrődött vízminták a mikrobiológiai vizsgálatok eredményeihez hasonlóan a kémiai analízis alapján is elkülönültek egymástól. Az oldott hidrogénkarbonát-tartalom egyértelműen a legcsekélyebb szerves anyagot tartalmazó, mélyebb szinteken elhelyezkedő vörösagyagoknál volt a legkisebb. A többrökből származó vörösagyagos üledékek humuszosabb felső szintjein átszivárgott vizek ugyanakkor a rendzinákhoz hasonló mértékű hidrogénkarbonát-tartalmat (karsztkorróziós hatást) mutattak.

Összefoglalás

Magyarország két jelentősen eltérő karsztos területéről, a Gömör-Tornai- és a Tapolcai karsztról származó 17 talajmintán végeztünk összehasonlító mikrobiológiai vizsgálatokat, karsztkorróziós hatásuk különbségeinek megismerése céljából.

Jellemzően a felszíni és felszín közeli mintákban mértük a nagyobb biomassza, valamint RESP és SIR értékeket, a mikrobák száma és aktivitása a mélységgel csökkent. Mivel a legnagyobb RESP, SIR, valamint biomassza C- és N- értékeket az Aggtelekről származó fekete rendzina talaj esetében mértük, valószínű, hogy a talaj típusa is befolyásolhatta ezen értékeket.

A talajminták DGGE sávmintázata alapján a baktériumközösségek elkülönülését elsősorban az adott mintavételi helyen előforduló talaj jellemzői (típus, szerves anyag tartalom) eredményezték, a talajminták mélység szerinti elkülönülése kisebb mértékű volt.

Az esőszimulációs kísérletek során átszűrődött vízminták baktériumközösségei DGGE sávmintázatuk alapján elsősorban a talaj típusa szerint rendeződtek két nagyobb csoportba. Az egyes talajtípusok elkülönültek a vízminták kémiai analízise (hidrogénkarbonát-tartalma) alapján is. Az elvégzett elemzések alapján az általunk vizsgált talajok és üledékek karsztkor-

róziós hatását a talaj típusa mellett annak mélysége és a humuszosodás mértéke egyaránt befolyásolja.

Eddigi vizsgálatainkat kiinduló lépésnek tekintjük. Eredményeink értelmezéséhez szükségesnek tartjuk a vizsgálatok megismétlését egy tavaszi és egy nyári mintavételt követően, amelyek alapján további következtetések vonhatók le a mikrobiális tevékenység szempontjából kulcsfontosságú szezonális változásokra vonatkozóan is.

IRODALOM

AGNELLI, A.-ASCHER, J.-CORTI, G.-CECCHERINI, M.T.-NANNIPIERI, P.-PIETRAMELLARA, G. (2004): Distribution of microbial communities in a forest soil profile investigated by microbial biomass, soil respiration and DGGE of total and extracellular DNA. - *Soil Biology & Biochemistry* 36. p. 859–868.

BECK, R.K.-BORGER, H. (1999): Soils and relief of the Aggtelek karst (NE Hungary): A Record of the ecological impact of paleoweathering effects and human activity. - in: Bárány I. Kevei-Gunn J. (eds): *Essays in the ecology and conservation of karst, Acta Geographica Tomus 36.* Szeged, p. 13-30.

DARABOS G. (1997): Mikroorganizmus-közösségek karsztkorróziós szerepének laboratóriumi vizsgálata az Aggteleki-karszt talajain. - Kandidátusi értekezés, ELTE, Budapest, Kézirat.

ELLIS, R.J.-MORGAN, P.-WEIGHTMAN, A.J.-FRY, J.C. (2003): Cultivationdependent and-independent approaches for determining bacterial diversity in heavy-metal-contaminated soil. - *Appl. Environ. Microbiol.* 69. p. 3223– 3230.

GUNN, J. (1999): Karst catchment protection: The Cuilcagh Mountain Park initiative, county Fermanagh, Northern Ireland -. in: Bárány I. Kevei-Gunn J. (eds): *Essays in the ecology and conservation of karst, Acta Geographica Tomus 36.* Szeged, p.121-133.

HAMILTON-SMITH, E. (1999): Management for environmental and social sustainability at Jenolan caves, New South Wales, Australia. - in: Bárány I. Kevei-Gunn J. (eds): *Essays in the ecology and conservation of karst, Acta Geographica Tomus 36.* Szeged, p.144-152.

HEUER, H.-KRSEK, M.-BAKER, P.-SMALLA, K.-WELLINGTON, E.M.H. (1997): Analysis of actinomycetes communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. - *Appl. Environ. Microbiol.* 63. p. 3233–3241.

- IBEKWE, A.M.-KENNEDY, A.C.-FROHNE, P.S.-PAPIERNIK, S.K.-YANG, C.H.- CROWLEY, D.E.* (2002): Microbial diversity along a transect of agronomic zones. - *FEMS Microbiol. Ecol.* 39. p.183–191.
- JOERGENSEN, R.G.* (1996): The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the kEC value. - *Soil Biology and Biochemistry.* 28. p. 25–31.
- JOERGENSEN, R.G.-MUELLER, T.* (1996): The fumigation extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the kEN value. - *Soil Biology and Biochemistry.* 28. p. 33–37.
- KEVEI, I.-ZÁMBÓ, L.* (1986): Study of relationship between bacteria activity in karstic soils and corrosion. - *Annales Universitatis Scientiarum Budapestinensis de Rolando Eötvös Nominatae.* 20-21. p. 325-333.
- KOWALCHUK G.A.-BODELIER, P.L.E.-HEILIG G.H.J.-STEPHEN J.R.-LAANBROEK, H.J.* (1998): Community analysis of ammonia-oxidising bacteria, in relation to oxygen availability in soils and root oxygenated sediments, using PCR, DGGE and oligonucleotide probe hybridisation. *FEMS Microbiol. Ecol.* 27 p. 339–350.
- KOZDRÒJ, J.-DIRK VAN ELSAS, J.* (2001): Structural diversity of microbial communities in arable soils of a heavily industrialised area determined by PCR-DGGE fingerprinting and FAME profiling. - *Applied Soil Ecology* 17. p. 31–42.
- LIAN, B.-CHEN, Y.-ZHU, L.-YANG, R.* (2008): Effect of Microbial Weathering on Carbonate Rocks. - *Earth Science Frontiers* 15(6) p. 90-99.
- MULLER, A.K.-WESTERGAARD, K.-CHRISTENSEN, S.-SORENSEN, S.J.* (2001): The effect of long-term mercury pollution on the soil microbial community. - *FEMS Microbiol. Ecol.* 36. p. 11–19.
- MULLER, A.K.-WESTERGAARD, K.-CHRISTENSEN, S.-SORENSEN, S.J.* (2002): The diversity and function of soil microbial communities exposed to different disturbances. - *Microb. Ecol.* 44. p. 49–58.
- MUYZER, G.-WAAL, E.C.D.-UITTERLINDEN, A.G.* (1993): Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. - *Appl. Environ. Microbiol.* 59. p. 695-700.
- NAKATSU, C.H.-TORSVIK, V.-ØVREAS, L.* (2000): Soil Community Analysis Using DGGE of 16S rDNA Polymerase Chain Reaction Products. - *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64. p. 1382–1388.
- ØVREAS, L.-JENSEN, S.-DAAE, F.L.-TORSVIK, V.* (1998): Microbial community changes in a perturbed agricultural soil investigated by molecular and physiological approaches. - *Appl. Environ. Microbiol.* 64. p. 2739–2742.

- PACE, N.R.* (1997): A molecular view of microbial diversity and the biosphere. - *Science* 276. p. 734-740.
- PACE, N.R.* (1999): Microbial ecology and diversity. - *ASM News* 65. p. 328-333.
- SZILI-KOVÁCS, T.* (2004): Szubsztrát indukált resziráció a talajban. - *Agrokémia és Talajtan* 53. p. 195-214.
- SZILI-KOVÁCS, T.-TÓTH, J.A.* (2006): A talaj mikrobiális biomassza meghatározása kloroform fumigációs módszerrel. - *Agrokémia és Talajtan* 55. p. 515-530.
- SZILI-KOVÁCS, T.-TÖRÖK, K.* (2005): Szénforráskezelés hatása a talaj mikrobiális aktivitására és biomasszájára felhagyott homoki szántókon. - *Agrokémia és Talajtan* 54. p. 149-162.
- SZILI-KOVÁCS, T.-ZSUPOSNÉ OLÁH, Á.-KÁTAI, J.-VILLÁNYI, I.-TAKÁCS, T.* (2009): Talajbiológiai és talajkémiai változók közötti összefüggések néhány tartamkísérlet talajában. - *Agrokémia és Talajtan* 58. p. 309-324.
- TORSVIK, V.J. GOKSOYR-F. L. DAAE.* (1990): High diversity in DNA of soil bacteria. - *Appl. Environ. Microbiol.* 56. p. 782-787.
- W. LI-L. J. YU-D. X. YUAN-H. B. XU-Y. YANG* (2004): Bacteria biomass and carbonic anhydrase activity in some karst areas of Southwest China. - *Journal of Asian Earth Sciences* 24. p. 145-152.
- ZÁMBÓ, L.* (1998): The experimental examination of microbial origin corrosion aggressivity of karst soils. - *Acta Carsologica* XXVII/1, 16.
- ZÁMBÓ, L.* (2001): A mikrobiális talajhatás morfológiai jelentősége a karsztosodásban. - Földrajzi konferencián elhangzott előadás, Szeged.