

Válasz Prof. Virányi Ferenc opponensi véleményére

Mindenek előtt, szeretném megköszönni Dr. Virányi Ferenc professzor úr opponensi munkáját, dolgozatommal kapcsolatos észrevételeit, méltató szavait, és hogy az értekezést nyilvános vitára javasolja.

A formai kifogásokkal egyetértek. Sajnos a *Tomentella* nemzetség és magyarországi tomentelloid ektomikorrhizák nrDNS ITS szekvenciáin alapuló filogenetikai fa valóban túl nagy, és ezért a nyomtatott verzióban nehezen olvasható méretű. Megoldás lehetett volna egy kihajtogatható, dupla méretű ábra. Valóban szerencsés lett volna térképpel bemutatni a magyarországi mintavételi területeket, vagy akár a Föld különböző élőhelyeiről feldolgozott minták származási helyeit.

Opponensem *endofitonok, endofiton gombák szerepére, funkcióira, a patogén-endofiton evolúciós kapcsolataira irányuló kérdése* az általános probléma mellett, a kiskunsági területekről kimutatott, általunk a mesterséges visszafertőzési kísérlet alapján sötét-szeptált endofitonnak (DSE) tekintett gombákra, taxonokra is utal. Az adott munkánk során azt az azonosítási szintet rendeltük egy-egy csoporthoz, melyet az akkor rendelkezésünkre álló adatok alapján a legbiztosabban még meg tudunk tenni. Így kerültek megnevezésre olyan, jelen ismereteink szerint nagyon változatos stratégiájú csoportok, nemzetségek, mint amelyeket opponensem is megnevez. Ezek között olyan csoportok is vannak, melyek taxonómiája sajnos nem teljesen tisztázott, így az adott csoporton belül a faj szintű azonosítás nem tehető meg biztonsággal. Erre lehet példa a nevezett *Cadophora* nemzetség, melyben nem tisztázottak a fajhatárok és egyes taxonok, így például a *Cadophora luteo-olivacea* is nagy heterogenitást mutatnak. Más csoportoknál abban sem lehetünk biztosak, hogy az adott nemzetségnévvel jelölt csoport monofiletikus.

Egyetértek opponensemvel, hogy az endofiton gombák szerepe, funkciója komoly dilemma. Az, hogy közelrokon fajok, vagy éppen ugyanazon faj/leszármazási vonal miként lehet patogén, vagy tekinthető patogénnek bizonyos helyzetekben, az nem feltétlenül világos. Mivel maga a meghatározás funkciót nem mond ki, csupán annyit, hogy az életük egy szakaszában tünetmentesen kolonizálnak növényi szöveteket, régóta szűkebben és tágabban is értelmezik, hogy milyen gombákat tekintenek endofitonoknak. Az általános endofiton definícióját többször ültették át az endofiton gombákra és rendszeresen próbálták is újrafogalmazni, értelmezni, de a korábbi meghatározásnál pontosabb, jobban használható megközelítés nem született.

Funkcióik megértésére vonatkozó egyik mérföldkönek számító munka meghatározása szerint az endofiton-gazda kölcsönhatás egyensúlyi antagonizmusnak („balanced antagonism”, SCHULTZ és BOYLE 2005) tekinthető, ahol az egyes résztvevők állapota, a környezeti tényezők, és a hipotézis frissítésekor (SCHULTZ és mtsai. 2015) beemelt mikrobiális kölcsönhatások játszanak a fő szerepet. Az endofiton gombák funkcióival kapcsolatban gyakran felmerül a látens patogén vagy épp a látens szaprotróf életmód lehetősége, melyeknél az „egyensúly” felborulásával – és véleményem szerint ezen *status quo felbomlásának a*

lehetséges okai jelentik a fő kérdéseket – jelenik meg markánsan a gomba patogén vagy szaprotróf jellege/szerepe.

A lehetséges szerepet, és az egyensúlyt, jelentősen meghatározhatja a gazdanövény és/vagy a kolonizált szerv. Egy mérsékelt övi, lombhullató fás szárú növény leveleit kolonizáló endofitonok más szereppel bírhatnak, mint egy élő gyökereit kolonizálóké. Az utóbbi, nagyobb kategórián belül jelentős különbségeket okozhat a környezet. Ugyanazon gombának egy erősen tápanyaglimitált, természetes környezetben más funkciója, hatása lehet egy élő gazdára, más lehet a gomba stratégiája, mint például egy mezőgazdasági művelés alatt álló rendszerben egy egynyári gazda esetében. Így nem csak a fent említett taxonómiai problémák, de ezek is eredményezhetnek anomáliának tűnő különböző eredményeket. Pár éve kerültek a látóterünkbe például olyan, több évtizedes szakirodalmak, melyek a *Periconia macrospinos*a fajt, ezt a széles körben elterjedt, általános, fűféléket kolonizáló DSE gombát, gabonafélék kártevőiként kezelik/kezelték (például LEFEBVRE és mtsai. 1949), és olyan megállapításokat tettek például bizonyos anatómiai képletekkel kapcsolatban (mikroszkleróciumok), melyek ismeretlenek a DSE-szakirodalomban. Jelenleg magunk is rendszeres mintavételezést végzünk különböző kalászosok gyökereiről (búza, kukorica és árpa), többek között azzal a céllal, hogy vizsgálhassuk, vajon hatásaikban, stratégiájukban okozhatnak-e különbséget a gazdanövény, vagy az eredeti élőhely, egy adott gyökérendofiton *viselkedésében*.

Nagyban nehezíti az általános tendenciák, evolúciós történések megértését az endofitonok rendszertani sokszínűsége; még a gyökérkolonizáló DSE gombák is számos, filogenetikailag távoli leszármazási vonalban megtalálhatók.

Remélhetőleg, több olyan összehasonlító elemzés meg tud valósulni (magunk is tervezünk ilyen), mely egy-egy jól körülírható, szűkebb leszármazási vonal különböző stratégiájú tagjait vizsgálva próbál evolúciós következtetésekre is jutni.

Ilyen, „finomabb” léptékű vizsgálatok alapján feltételezik jelenleg, hogy a Clavicipitaceae családon belül a növény-szimbionta, endofiton leszármazási vonal a levezetett, mely az ősibbnek feltételezett stratégiából, az állati, ízeltlábú patogénekből alakulhatott ki (SPATAFORA és mtsai. 2007).

Kíváncsian várjuk például *Fusarium* fajok, törzsek funkcionális és összehasonlító genomikai vizsgálatainak eredményeit, ahol nagyszámú, különböző fuzárium összehasonlításával próbálnak választ találni arra, hogy milyen genomikai, evolúciós változások állhatnak a különböző életmódú leszármazási vonalak stratégiái mögött.

A gyökérendofitonok evolúciós kérdéseinek vizsgálatában segítségünkre lehetnek például olyan gombák, melyek alapvetően különböző partnerekkel asszociáltak („polifág” gombák). A dolgozatban a „DSE-2” névvel jelölt izolátumokkal konspecifikus törzseket izoláltunk homoki területeken, tömlős gombák földalatti termőtesteiből, és a klád további tagjai előkerültek több élőhelyről, például franciaországi erdőkből ektomikorrhizas gyökérvégekről, vagy éppenséggel törökországi élőhelyekről, ahol fonálféreg cisztákból izolálták őket (ezért írtuk le az új nemzetséget *Polyphilus* névvel (ASHRAFI, KNAPP és mtsai. 2018)).

A kérdéskörhöz kapcsolódóan szeretném megemlíteni, hogy mi is vizsgáltuk a DSE gombák genomikai, genom-evolúciós jellemzőit. A kiskunsági élőhelyekről kimutatott DSE leszármazási vonalak két rendszertanilag és gazdakörében markánsan különböző reprezentánsainak (*Cadophora* sp. és *Periconia macrospinosa*) teljes genomszekvenciájának meghatározása, elemzése és összehasonlító vizsgálatai érdekes eredményekre vezettek (KNAPP és mtsai. 2018). A fent említett különbségek mellett, a közös élőhely miatt, éltünk azzal a feltételezéssel, hogy az esetleges markáns hasonlóságuk az életmódjukból, ökoszisztémában betöltött hasonló szerepükből adódik majd. Mindkét gombát relatíve nagy méretű genom és magas prediktált génszám jellemzi. Az összehasonlító elemzésekbe további 32, különböző életmódú Pezizomycotina gomba genomját is bevontuk. A szénhidrát-aktív enzimek („carbohydrate active enzymes”, CAZymes), ezen belül pedig a növényi sejtfalbontók („plant cellwall degrading enzymes”, PCWDEs) vizsgálatába további három DSE gomba genom adatait is be tudtuk emelni. Érdekes módon a DSE gombákra kiemelkedően magas CAZymes gén kópiaszám a jellemző, és az adatok elemzése során is együtt rendeződtek a DSE gombák. Érdekes eredmény, hogy ez utóbbi során egyéb gyökérekolonizáló gombák (mikorrhizás: *Oidiodendron maius*, patogén: *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*) is ide rendeződtek. A magas CAZymes szám mutatja az enzimvizsgálatokkal megállapított sokszor jelentős bontóképességet, ami erős szaprotróf jegyekre utalhat. Eredményeink mutatják, hogy számos különbség ellenére (legalább is a gyökérendofitonok esetében), mégiscsak körvonalazódhat valamiféle hasonlóságokat mutató úgynevezett „endofiton életmód” („endophytic lifestyle”). Ezen belül viszont markáns funkcionális különbségek, egyedi jellemzők is megfigyelhetők, melyet jól illusztrál többek között az is, hogy mind a *Cadophora* sp. mind a *P. macrospinosa* DSE-re jelentős mértékű, csak az adott taxonokhoz vezető leágazásokra jellemző génduplikációkat lehetett kimutatni (KNAPP és mtsai. 2018).

A gyökérendofitonok esetében azonban könnyebben értelmezhetővé válik a patogén-endofiton különbség, amennyiben például az adott gyökérekolonizálóról igazolást nyer, hogy segítik a gazdanövény tápanyagfelvételét a talajból. Ennek három fő módja lehet: a tápanyagok direkt felvétele és átadása, egyes tápanyagok mobilizálása és a gombák hozzáférése olyan helyekhez (és így forrásokhoz), mely a növény számára nem elérhető. A DSE gombákkal kapcsolatban néhány esetben már igazoltak ilyen jellemzőket (például USUKI és NARISAWA). Hasonlóan fontos szerep, hogy egyes DSE gombákról igazolható volt, hogy csökkentik egyes növénypatogének okozta negatív hatásokat (például TELLENBACH és mtsai. 2012), és bizonyos esetekben direkt antagonistá hatást is sikerült kimutatni. Ezek persze nem mondanak semmit az adott funkciók evolúciójáról, de segítségül lehetnek abban, ha egyes csoportokon belül adott stratégiával rendelkező, vagy éppen az adott stratégiát (itt patogén) valószínűleg még látenszen sem képviselő reprezentánsokat keresünk.

Arra, hogy egyes szűkebb leszármazási vonalak mentén miként alakulhat(ott), miként kapcsolódik az endofiton-patogén életmód, összefoglalóan két irányból remélhetünk választ: egyrészt, a remélhetőleg egyre több szűkebb leszármazási vonalakon végzett összehasonlító, funkcionális genomikai vizsgálatokból feltehetően ki tud majd rajzolódni, hogy mi tesz, mi

tehet egy növényi gombapartner „ellenséggé vagy barátta” („Friend or foe...”, PARRENT és mtsai. 2009). Másrészt pedig az egyes konkrét, endofiton kapcsolatokat egyensúlyban tartó feltételek, köztük hangsúlyosan a gazdanövény reakcióival, azok kulcspontjainak megértése adhat majd feleletet. Mindkét válasz-csoportnak óriási gyakorlati jelentősége is lenne.

Még egyszer szeretném megköszönni opponensem pozitív bírálatát.

Mosonmagyaróvár, 2018. április 29.

Kovács M. Gábor

HIVATKOZOTT IRODALMAK:

- Ashrafi S*, Knapp DG*, Blaudez D, Chalot M, Maciá-Vicente JG, Zagyva I, Dababat AA, Maier W, Kovács GM 2018. Inhabiting plant roots, nematodes and truffles — *Polyphilus*, a new helotialean genus with two globally distributed species. *Mycologia* (online megjelent, DOI: 10.1080/00275514.2018.1448167)
- Knapp DG, Németh JB, Barry K, Hainaut M, Henrissat B, Johnson J, Kuo A, Lim JHP, Lipzen A, Nolan M, Ohm RA, Tamás L, Grigoriev IV, Spatafora JW, Nagy LG, Kovács GM 2018. Comparative genomics provides insights into the lifestyle and reveals functional heterogeneity of dark septate endophytic fungi. *Scientific Reports* **8**: 6321
- Lefebvre CL, Johnson AG, Sherwin HS. 1949. An undescribed species of *Periconia*. *Mycologia* **41**, 416–419.
- Parrent JL, Ty J, Vasaitis R, Taylor AFS. 2009. Friend or foe? Evolutionary history of glycoside hydrolase family 32 genes encoding for sucrolytic activity in fungi and its implications for plant-fungal symbioses. *BMC Evol Biol* **9**:148.
- Schulz B, Boyle C. 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research* **109**: 661–686.
- Schulz B, Haas S, Junker C, André N, Schobert M. 2015. Fungal endophytes are involved in multiple balanced antagonisms. *Current Science* **109**: 39–45.
- Spatafora JW1, Sung GH, Sung JM, Hywel-Jones NL, White JF 2007. Phylogenetic evidence for an animal pathogen origin of ergot and the grass endophytes. *Molecular Ecology* **16**: 1701–1711.
- Tellenbach C, Sieber TN. 2012. Do colonization by dark septate endophytes and elevated temperature affect pathogenicity of oomycetes?, *FEMS Microbiology Ecology* **82**: 157–168.
- Usuki F, Narisawa K. 2017. A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*, and a nonmycorrhizal plant, Chinese cabbage, *Mycologia* **99**: 175–184.