

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Gyökérkolonizáló nem patogén gombák: változatosság, taxonómia és vizsgálati módszereik

KOVÁCS M. GÁBOR

**Eötvös Loránd Tudományegyetem
Természettudományi Kar
Biológiai Intézet, Növénysszervezettani Tanszék**

BUDAPEST
2017

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	4
2. Háttér, irodalmi áttekintés	6
2.1 Mikorrhizák	6
2.1.1 Ektomikorrhiza, ECM-képző gombák	7
2.1.2 Arbuszkuláris mikorrhiza, AM-képző gombák	11
2.1.2.1 Egy taxonómiai illusztráció	15
2.2 Gyökérendofiton gombák	16
2.2.1 Sötét szeptált endofitonok	18
2.2.2 Kölcsönhatástípusok <i>in planta</i> változatossága	21
2.3 Diverzitás és taxonómia	22
2.3.1 Fajdiverzitás feltárása, gyűjtemények	23
2.3.2 Nevezéktan	25
2.3.3 Molekuláris taxonómiai, primerek	26
2.3.4 Adatbázisok	29
2.4 Száraz, félszáraz területek	31
2.4.1 Sivatagi szarvasgombák	32
2.5 Hazai előzmények, alföldi vizsgálatok	33
3. Célkitűzések	35
4. Anyagok és módszerek	37
5. Eredmények és értékelésük	40
5.1 Ektomikorrhizák, ECM-képző gombák	40
5.1.1 A <i>Tuber rapaeodorum</i> fajcsoport ektomikorrhizái	40
5.1.2 A <i>Tomentella</i> nemzetség ektomikorrhizái	43
5.1.3 Az <i>Inocybe</i> nemzetség ektomikorrhizái	46
5.2 Arbuszkuláris mikorrhiza, AM-képző gombák	49
5.2.1 A virginiai holdruta AM-képző gombáinak <i>in planta</i> diverzitása	49
5.2.2 Kiskunsági területek AM-képző gombáinak spóraalapú vizsgálata	52
5.2.2.1 Tudományra új AM-képző gombafaj	54
5.2.3 AM-képző gombák molekuláris taxonómiája	56
5.3 Sötét szeptált endofiton (DSE) gombák	63
5.3.1 Kiskunsági homokterületek DSE-gombái	63
5.3.2 DSE-gombák taxonómiája	67
5.3.3 DSE-csoportok funkcionális heterogenitása	73
5.4 Gyökérkolonizáló gombák <i>in planta</i> vizualizációja	76

5.5 Sivatagi szarvasgombák és rokon taxonok	79
5.5.1 Spanyolországi sivatagi szarvasgombák revíziója	79
5.5.2 Egyéb területek sivatagi szarvasgombái	85
5.5.2.1 Dél-Afrika és Ausztrália sivatagi szarvasgombái	85
5.5.2.2 Észak-amerikai <i>Terfezia</i> és rokon fajok	89
5.5.3 A <i>Mattiolomyces terfezioides</i> vizsgálatai	94
5.5.3.1 Ultrastruktúra	94
5.5.3.2 Gazdanövények, szklerócium, lelőhelyek	95
5.6 Molekuláris taxonómiai és filogenetikai módszerek fejlesztése	98
5.6.1 A gombák DNS-vonalkódja	98
5.6.2 Indel-motívumok nrDNS ITS-alapú filogenetikai elemzésekben	100
6. Konklúziók, terveink	102
7. A legfontosabb eredmények rövid összefoglalása	106
8. Köszönetnyilvánítás	120
9. Saját közlemények jegyzéke	123
9.1 A dolgozatban összefoglalt eredmények alapjául szolgáló publikációk	123
9.2 A dolgozat témájához kapcsolódó egyéb és korábbi publikációk	125
9.3 Egyéb mikológiai publikációk	126
10. Irodalomjegyzék	128

1. Bevezetés

A gombák szerepe az ökoszisztémák működésében minden túlzás nélkül alapvető, nélkülözhetetlen és evolúciós léptékben is jelentős. Kulcsszerep jutott nekik például a növények szárazföldre „lépésében” és annak meghódításában (KENDRICK és CRANE 1997), lebontó szervezetekként pedig az egyedüli élőlénycsoportként tudják hatékonyan a lignocellulózt a szénkörforgásba visszaforgatni. A növények kórokozó gombáikkal való versenyfutása jelentős, új szelekciós nyomás volt mindkét fél evolúciójában, a mutualista szimbionta gombák pedig lehetővé tették a felszívó szerveken, gyökereken történő hatékony, sőt többször egyedüli lehetséges tápanyagfelvételt a növények számára (SIMON és mtsai. 1993; TAYLOR és OSBORNE 1996; SELLOSE és LE TACON 1998; BRUNDRETT 2002). Természetesen, mivel a gombák nem producens szervezetek, a növényi szénforrásoktól függő viszonyban a növényvilág fejlődése számukra is egyre jelentősebb elterjedési és diverzifikációs lehetőséget teremtett.

Ennek ellenére a gombák nem töltenek be olyan helyet az általános gondolkozásunkban, mint a növények, és ennek talán a legfontosabb oka, hogy életciklusuk jelentős részét rejtőzködve élik. Amennyiben egyáltalán képeznek szabad szemmel is észrevehető, makroszkopikus képleteket, termőtesteket, ezek életciklusuknak arányaihoz képest, és sokszor abszolút értékében is csak nagyon rövid szakaszban jelennek meg. Ráadásul ilyen képleteket csak a gombák kis része képez, és ez az arány különösen alacsony, ha a nagyobb leszármazási vonalakat vesszük számításunk alapjául.

A valódi gombák becsléseink szerint 1–1,5 milliárd évvel ezelőtt jelentek meg az eukarióta élőlények evolúciója során (HEDGES és mtsai. 2004; BHATTACHARYA és mtsai. 2009 és hivatkozásaik), és jelenlegi ismereteink szerint ez a monofiletikus csoport testvércsoportja a komplex soksejtű állatok Metazoa csoportjának (KEELING és mtsai. 2005). Más leszármazási vonalon is kialakultak olyan élőlénycsoportok, melyeket „gombáknak” nevezünk, ilyenek a nyálkagombák csoportjai vagy a Stramenopil leszármazási vonalba tartozó gombák, mint például a petespóras gombák (KEELING és mtsai. 2005). A valódi gombák csoportjába hozzávetőlegesen 120 000 elfogadott, leírt faj tartozik (HAWKSWORTH és LÜCKING 2017), ami figyelembe véve a gombák leágazásának feltételezett idejét és a csoport elterjedtségét, nem tekinthető magas számnak –

sőt, kimondottan alacsony, ha az ízeltlábúakra vagy akár egyes virágos növénycsoportok ismert fajgazdagságára gondolunk. Fontos hangsúlyozni, hogy ez csupán a leírt és elfogadott, nevezéktani szempontból érvényes fajok száma: nagy valószínűséggel, sokkal több faj „vár” még felfedezésre, leírásra. Nagyon széles tartományok között mozognak a még leíratlan fajok számára vonatkozó becslések. Az ismertebb fajszámbecslések legszigorúbbja is 0,7 millióra teszi a gombafajok számát (SCHMIT és MUELLER 2007), míg a legmagasabb fajszámot adó becslés, csak a talajban élőket 3,1–5 millióra (O'BRIEN és mtsai. 2005). A legtöbbször hivatkozott becslést HAWKSWORTH (1991, 2001) adta, aki 1,5 millióra becsülte a gombafajok számát, sok egyéb mellett pont egy élőhely növény–gomba fajszámarányát, a specificitás kérdését is a becslés alapjául véve. Az egyik legfrissebb becslés ezt a számot 2,2–3,8 millió közé teszi (HAWKSWORTH és LÜCKING 2017). Természetesen óriási különbségek vannak egyes rendszertani csoportok és/vagy földrajzi területek, élőhelytípusok diverzitásának feltártságában.

Ez a feltáratlan diverzitás különösen igaz a növényekkel gyökereiken keresztül kapcsolatban lévő nem patogén gombákra, hiszen ezek alapvetően a talajban találhatók, és bár bizonyos csoportjaik képeznek makroszkopikus termőtesteket, ezek között is vannak olyanok, mint például a szarvasgombák, melyek még makroszkopikus termőtesteiket is a felszín alatt, a talajban hozzák létre. A nem patogén gyökéraszociált gombák ráadásul nem okoznak olyan elváltozásokat a gazdanövényeknél, hogy felszín feletti tünetek jelezzék jelenlétüket. A kevésbé ismert élőhelyek a száraz, félszáraz területek, holott az ilyen, abiotikus stressznek erősen kitett környezetben a nem patogén gyökérkolonizáló gombáknak, például a növényeket segítő, azok szárazságtűrését növelő mikorrhizaképző gombáknak, vagy az ilyen élőhelyeken gyakori gyökérendofitonoknak különösen nagy szerepük lehet.

Ennek a szerepnek, pontosabban ezeknek a lehetséges szerepeknek a megértéséhez elengedhetetlen a szereplők megismerése, annak tisztázása, feltárása, hogy milyen gombák, gombacsoportok alkotják ezeket a közösségeket. Azonban nem csak a gombaközösségek változatosak. Az természetes, hogy a különböző kompozicionális vagy funkcionális diverzitási kérdések vizsgálatai sokféle módszer alkalmazását igénylik, de ezen túlmenően, az egyes kérdések vizsgálati módszerei az eltérő kölcsönhatási típusoktól és az azokat létrehozó különböző gombacsoportoktól függően is különbözhetnek.

2. Háttér, irodalmi áttekintés

2.1 Mikorrhizák

A nem patogén, gyökérkolonizáló gombák legismertebb csoportjait a mikorrhizaképző gombák adják (SMITH és READ 2008). A mikorrhiza szót a görög gomba és gyökér szavakból alkotva FRANK (1885) használta először, sok szempontból mérföldkőnek számító munkájában, aki porosz erdők tanulmányozása során valójában ektomikorrhizákat vizsgálva hozta létre a szót, és értelmezte megfelelően a szimbiotikus kapcsolat természetét. Nem ő volt ugyanakkor az első, aki látta és dokumentálta az ektomikorrhizák jellegzetes képleteit, számos remek megfigyelés született korábban is, elsősorban mikoheterotróf orchideafélék vagy például szarvasgomba-termőtestek körül gyűjtött gyökerek vizsgálata során (a pre-FRANK időszak mikorrhiza-kutatása, -irodalma TRAPPE (2005) áttekintéséből megismerhető). Hiába látták jól korábban a struktúrát, a kapcsolat funkcióját félreértették, nem tudtak átlépni azon az általános vélekedésen, hogy gomba csak negatív hatással lehet növényekre, csak korhaszt és/vagy betegséget okoz (TRAPPE 2005). FRANK (1885) azonban helyesen értelmezte és egyértelműen leírta, hogy mutualista szimbiózisról van szó, melyben a gomba talajból felvett anyagokat juttat a növénynek, míg a növény asszimilátumokat juttat a gombának. A kölcsönös anyagátadást MELIN és NILSON (1950, 1957) igazolta, az előbbi 65 évvel, az utóbbit 72 évvel FRANK munkája után. FRANK ezen alapvető funkciók meglátása mellett egyéb mérföldkőnek számító hipotéziseket is megfogalmazott. Felvetette, hogy a szervesen kötött nitrogén legfontosabb forrása a humuszban található fehérjék, valamint, a gomba egyes anyagokhoz, elsősorban a nitrogénhez, a humuszt lebontva jut hozzá, majd ezeket adja át a növénynek. Évszázadnyi távolságban igazolták, hogy fehérjéhez kötött nitrogénhez gomba segítségével juthatnak a növények (lásd CHALOT és BRUN 1998 és hivatkozásai), és bizonyították az ektomikorrhiza- képző gombák humuszbontását akkor is, amikor növényekkel kapcsolatban vannak (DURALL és mtsai. 1994).

FRANK példája – jelentőségén túl – jól illusztrálja a struktúra és az azt létrehozó organizmusok, valamint az élőhelyi adottságok megfelelő funkcionális értelmezését.

A fent említett alapvető, elsődleges, tápanyagcserén alapuló funkción túl számos egyéb pozitív hatása lehet a mikorrhizáknak, például jelentősen segíthetik a szárazságstressz

elviselését, növelhetik a növények abiotikus- és biotikusstresszel szembeni tűrőképességét (SMITH és READ 2008). Javíthatják a talajok szerkezetét – nem csupán hifahálózatuk, de általuk kiválasztott anyagaik – mint például az AM-gombák által kiválasztott glomalin (RILLIG és MUMMEY 2004) – segítségével.

A mikorrhizákat számos nagyobb típusba sorolhatjuk, melyekre jellemzők lehetnek az adott kapcsolatokat létrehozó gomba- és növénycsoportok és az általuk kialakított struktúrák.

Az orchid mikorrhiza az orchideafélék családjára (Orchideaceae) jellemző, ahol a növények életszakaszainak mindegyikében jelen vannak szimbiotikus gombapartnerek, melyek mind a füstmagvak csírázásához, mind a protokorm fejlődéséhez, mind pedig a kifejlett egyedek életéhez szükségesek (DEARNALEY 2007; SMITH és READ 2008). A kifejlett növények esetében speciális helyzet, amikor a fotoszintézisre képtelen növények gombapartnereiken keresztül jutnak sokszor más fotoszintetizáló növénytől származó szénhidrátokhoz (mikoheterotróf növények), hasonlóan a fotoszintetikus igényeiket csak részben fedezni tudó (például fotoszintetikus rendszerük fejletlensége és/vagy árnyékban élés miatt) orchideákhoz (BIDARTONDO és mtsai. 2004; JULOU és mtsai. 2005; SELOSSE és mtsai. 2016). A hangafélék (Ericaceae) speciális gyökérszerveződésük és a szerves bomlást nehezítő speciális élőhelyeik (pl. tőzeges, savanyú „csarabosok”) miatt szintén erősen rászorulnak a gombapartnereikre, jellegzetes erikoid mikorrhizát képeznek, és köztük is előfordulnak mixotróf növények (SMITH és READ 2008; SELOSSE és ROY 2009). Az arbutoid és monotropoid mikorrhizák kisebb növénycsoportok jellegzetes ektendomikorrhizái, mindkét esetben mixotrófia/mikoheterotrófia jellemzi a partnernövényeket (SMITH és READ 2008).

2.1.1 Ektomikorrhiza, ECM-képző gombák

Az ektomikorrhizák (ECM) nevüket arról kapták, hogy a kapcsolat kialakításakor a gombapartner nem nő bele a növény intracellulárisaiba, hanem az intercelluláris tereket kolonizálja (SMITH és READ 2008). A ECM-képzés általában fásszárú növényekre jellemző, de fajszámra vonatkoztatva kevés növény, csupán a fajok 2%-a képez ilyen típusú mikorrhizát (BRUNDRETT 2002, 2009; WANG és QIU 2006). Ezek a növények azonban nagyon fontos társulásalkotó fajok, mint például a nyitvatermő fenyőfélék (Pinaceae) vagy a zárvatermő bükkfafélék (Fagaceae), nyírfafélék (Betulaceae), fűzfé-

lék (Salicaceae) csoportjai. Olyan fontos erdőalkotó fák képeznek ektomikorrhizát, mint a tölgy, a bükk, a szelídgesztenye, az eukaliptusz, az éger, a nyír, a nyár vagy épp a fenyők (BRUNDRETT 2002, 2009; WANG és QIU 2006), mely felsorolásból is látszik, hogy például az északi félteke mérsékelt égövi erdeit döntő többségében, sokszor egyeduralkodóan ECM-képző fajok alkotják. Sokáig úgy tartották, hogy a trópusi területek erdeire kevésbé jellemző ez a mikorrhizatípus, viszont egyre több ilyen területen folyó vizsgálat árnyalja ezt a képet (lásd KOTTKE és KOVÁCS 2014 és hivatkozásai). A mikorrhizatípushoz nehezen rendelhető egy meghatározott gombacsoport, leginkább a valódi gombák koronacsoportját adó Dikarya kládba tartoznak ECM-képzők (SMITH és READ 2008; TEDERSOO és mtsai. 2010; TEDERSOO és SMITH 2013), a bazális csoportok közül egyedül a jelenleg a Mucoromycotina kládba sorolt *Endogone* fajokról ismert, hogy ektomikorrhizát képeznek (WALKER 1985; YAMAMOTO és mtsai. 2017). Mind a tömlős-, mind a bazídiumos gombák között nagy számban találunk ECM-képzőket, egyes leszármazási vonalakhoz egyértelműen köthető is az életforma (TEDERSOO és mtsai. 2010; TEDERSOO és SMITH 2013). Ezek között számos jól ismert, makroszkopikus termőtestet is képző gombacsoport van, mint például a tömlősgombák közül a csészegombák rendjébe (Pezizales) tartozó „valódi” szarvasgombák (*Tuber*) és sivatagi szarvasgombák (*Terfezia*), vagy a bazídiumos „nagygombák” közül a tinórufélék (Boletaceae), galócák (*Amanita*), susulykák (*Inocybe*) rókagombák (*Cantharellus*), galambgombák (*Russula*), tejelőgombák (*Lactarius*). Az ECM-képző gombák közül megfelelő táptalajon sok fenntartható izolátumként is, de termőtestet gazdanövényeikkel kapcsolatban képeznek, bár e „szabály” alól vannak nagyon ritka kivételek is (például OHTA 1994; YAMANAKA és mtsai. 2000; OHTA és FUJIWARA 2003).

A molekuláris azonosítás módszereinek elterjedése bizonyos értelemben meglepő eredményeket hozott egyes csoportokban, mint például a tömlősgombáknál, vagy például a bazídiumos *Tomentella* nemzetség (TEDERSOO és mtsai. 2006; KÖLJALG és mtsai. 2000) esetében: kiderült, hogy sokkal nagyobb gyakorisággal, vagy elterjedéssel (akár földrajzi értelemben, akár gazdakörre vonatkoztatva) képeznek ektomikorrhizát, mint azt korábban gondolták ezekről a csoportokról. ECM-képző bazídiumos kalaposgombanemzetségek körében végzett diverzifikációs elemzések azt mutatták, hogy az egyes csoportok fajszámnövekedése nem mutat összefüggést biogeográfiai változásokkal, vagy éppen gazdanövények diverzifikációjával (RYBERG és MATHENY 2012), ami egyértelműen utalhat arra, hogy funkcionális különbségek lehetnek abban, hogy miként

valósítják meg a mikorrhizás szimbiózisokat ezek a gombák, tehát az ECM-képzés uniformitása megkérdőjelezhető.

Az ECM esetében a partnerek közötti anyagátadás helye az intercellulárisokban létrejövő határfelület, a speciális szerkezetű úgynevezett Hartig-háló (SMITH és READ 2008). A kolonizált gyökérvégeket az ECM biomasszájának jelentős részét adó köpeny borítja, melynek szerveződése, vastagsága fajra, nemzetségre jellemző lehet. A köpeny felszínén különböző anatómiai képletek (például cisztídiumok) figyelhetők meg, és itt kapcsolódnak a talajt behálózó hifák és/vagy ezek összerendeződéséből létrejövő rhizomorfák (AGERER 1991, 1995, 2006; AGERER és IOSIFIDOU 2004). Az ECM-anatómia számos funkcionális jellegzetességgel bír, de ezen túlmenően, az ECM morfo-anatómiai jellegzetességei segíthetnek a gombataxonok azonosításában. Vannak olyan jellemzők, melyekre jelentős hatással van a gazdanövény is, például az ECM elágazódási típusa jellegzetesen dichotomikus nyitvatermők esetében, vagy a Hartig-háló kolonizációjának a mértéke, mely általánosságban különbözik a nyitva- és zárvatermő növényeknél (SMITH és READ 2008). Az ektomikorrhizák legtöbb mikroszkopikus jellemzője azonban a gombataxonokhoz köthető. Így aztán az ECM morfo-anatómiai jellemzés lehetőséget adott ECM-képző taxonok azonosítására, diverzitásuk becslésére (AGERER 1991, 1995, 2006; AGERER és IOSIFIDOU 2004). Az ektomikorrhizákból kiágazó rhizomorfák akár direkt kapcsolatban is állhatnak termőtestekkel, ez óvatos mosással, mikroszkóppal követhető is, így a faj termőtest alapú határozásával akár pontosan azonosítható egy ECM. Ez a közvetlen kapcsolat is segített például egy pókhálógomba ektomikorrhizájának részletes anatómiai jellemzésében (KOVÁCS és mtsai. 2002). Több határozó és gyűjteményes munka is összefoglalta egy adott, egységesített szempontrendszer és terminológia szerint végzett ECM-leírásokat (INGLEBY és mtsai. 1990; GOODMAN és mtsai. 1996–2002; AGERER 1987–2008; AGERER és mtsai. 1996–2012). Ezek közül az AGERER-féle rendszer terjedt el, ami elektronikus kulcsokban (DEEMY: RAMBOLD és AGERER 1997), majd később online verzióban is megjelent (AGERER és RAMBOLD 2004–2017). Egyes gombafajok ektomikorrhizái annyira jellegzetesek, hogy ezek alapján nagy biztonsággal fel lehet ismerni őket, erre a legismertebb példa minden bizonnyal a *Cenococcum geophilum* faj fekete, kiágazó, fekete hifáktól „szőrös” mikorrhizája, melynek nem csak a színe, hanem köpenye, szerveződése is jellegzetes, így könnyen felismerhető (AGERER és GRONBACH 1988). Modellfajként sok kísérletes munkában lehet találkozni ezzel a generalista, világszerte elterjedt (LOBUGLIO 1999), de

jelen tudásunk szerint termőtestet nem képző fajjal (de lásd FERNÁNDEZ-TOIRÁN és ÁGUEDA 2007). Részletes molekuláris diverzitási vizsgálatok feltárták, hogy a nagyfokú genetikai diverzitás miatt inkább fajcsoportnak, mint egy fajnak tekinthető ez az egyedi ektomikorrhizát képző taxon (például OBASE és mtsai. 2016). A gombapartnerek kizárólag ECM-morfológián alapuló azonosítása nem feltétlenül elegendő, és bár a molekuláris taxonómiai módszerek térhódításával visszaszorult, a részletes anatómiai ECM-jellemzés informatív lehet taxonok összehasonlító vizsgálatainál, mint például *Lactarius/Lactifluus* taxonok összevetésénél (LEONARDI és mtsai. 2016; MONTOYA és mtsai. 2017). Habár ritkábban, de új fajok leírásánál is megjelenhet nem csupán a termőtest, de a faj által képzett ektomikorrhiza bemutatása, mint például a *Tuber arnoldianum* szarvasgomba (HEALY és mtsai. 2016) vagy az *Acephala macrosclerotiorum* faj leírásakor (MÜNZENBERGER és mtsai. 2009), mely utóbbi latin diagnózisában is szerepel ektomikorrhizára vonatkozó jellemző: „*Species pinirrhizae sclerotibus praeditam ectomycorrhizam in Pino sylvestri format, tenui tunica myceliari sclerotibus atrobrunneis crassitunicatis hemisphaericis 100–300 µm diametro in radicibus composita.*” Az ektomikorrhizák morfo-anatómiai sokfélesége funkcionális heterogenitással is összefügghet, és itt nem csak arról van szó, hogy egy-egy nemzetségen belül is különbözhetnek az anatómiák, hiszen láttuk, hogy az egyes nemzetségek ektomikorrhiza-képzésének uniformitása megkérdőjelezhető (RYBERG és MATHENY 2012). Például a különböző hosszúságú, sűrűségű kiágazó hifák, az ektomikorrhizák „szőrözöttsége”, egyértelműen meghatározzák, mekkora talajtérfogatot tud behálózni és forrásaiban kiaknázni a gomba. Ezen is alapul az ektomikorrhizák úgynevezett kihasználási típusokba („exploration type”) sorolása (AGERER 2001).

Ahogy korábban említettük, a szimbiózis alapvető funkciója, hogy a kapcsolatban a növény cukrokat juttat a gomba számára, míg a gomba a növénynek a talajból felvett tápanyagokat biztosítja (SMITH és READ 2008). Utóbbi esetben az ektomikorrhizás kapcsolatoknál sokáig a legfontosabbnak, a nitrogénmobilizációt, -felvételt és -átadást tekintették, pedig az ECM-képző gombák a foszfátmobilizációban is jelentős szerepet töltenek be (SMITH és READ 2008). Az ECM-kapcsolatról meglévő ismereteinket nagymértékben bővítette, hogy számos ECM-képző gomba genomját szekvenálták meg az elmúlt tíz évben: először a bazídiumos kétszínű pénzecskegomba (*Laccaria bicolor*) (MARTIN és mtsai. 2008), majd az aszkuszos francia szarvasgomba (*Tuber melanosporum*) (MARTIN és mtsai. 2010) teljes genomját publikálták, és már ezek ösz-

szevetése is megdöbbentő eredményeket hozott: bár voltak hasonlóságok, átfedések a mikorrhizaképzés feltételezett genomi háttérben, a két gomba jelentős különbségeket is mutatott (MARTIN és mtsai. 2010). Később, további 11 ECM-képző gomba, két jellemzően erikoid és egy jellemzően orchid mikorrhizaképző gombafaj genomjával készültek el (KÖHLER és mtsai. 2015), majd az előzőekben említett *Cenococcum geophilum* teljes genomját is be tudták vonni az összehasonlító genomikai elemzésekbe (PETER és mtsai. 2016). Ezek fontos eredményei, hogy az ektomikorrhizas leszármazási vonalak, melyek nagy valószínűséggel fehérkorhasztó ősből alakultak ki több alkalommal is a gombák evolúciója során, jelentős különbségeket mutatnak fontos géncsaládok evolúciós változásaiban (KÖHLER és mtsai. 2015). Számos, szimbiózisban funkcionálisan résztvevő génjük, semmihez nem hasonlító, úgynevezett „orphan” gén, ráadásul ezeknek jelentős részéhez semmiféle feltételezett funkciót nem lehet kötni, ami azt mutatja, hogy komoly funkcionális heterogenitás jellemzi magukat az ektomikorrhizas kapcsolatokat, így az ECM-képző gombákat is (KÖHLER és mtsai. 2015; PETER és mtsai. 2016). Mindez a növényi partner részéről is megmutatkozik, hiszen egyazon növényfaj génjei különböző expressziós mintázatot mutattak, amikor különböző gombapartnerekkel léptek ektomikorrhizas kapcsolatba (PETER és mtsai. 2016). Ahhoz még nem áll rendelkezésünkre elegendő ECM-képző gomba teljes genomja, hogy érdemben vizsgálni lehessen például egyes ektomikorrhizák anatómiai sajátosságainak, vagy a kihasználási típusoknak az összefüggéseit genomi jellegzetességekkel, lehetséges molekuláris hátterekkel.

2.1.2 Arbuszkuláris mikorrhiza, AM-képző gombák

A leggyakoribb szárazföldi szimbiózisnak is tartják az arbuszkuláris mikorrhizát (AM) (FITTER és MOYERSON 1996; BRACHMAN és PARNISKE 2006), mely típus jellegzetes intracelluláris képleteiről, a fácskaszerűen, sűrűn elágazó arbuszkulumokról kapta a nevét (SMITH és READ 2008). Endomikorrhiza, mert az obligát biotróf AM-képző gombák hifái kolonizálják a gazdanövény sejtjeit is. Szinte minden nagyobb szárazföldi növénycsoport tagjai képeznek arbuszkuláris mikorrhizát (BRUNDRETT 2002, 2009; WANG és QIU 2006), míg a gombapartner minden esetben a Mucoromycota törzs Glomeromycotina altörzsébe tartozik (SPATAFORA és mtsai. 2016), sőt a csoport minden tagja (a cianobaktériumokkal szimbiózisban élő *Geosiphon piriforme* kivételével) kizárólagosan AM-képző gomba, és csak így képes élni. A gomba–növény interakció különböző szakaszait számos jellegzetes sejtszerveződési és molekuláris mechanizmus

jellemzi, mint például a partnerek kölcsönös felismerése szignálmolekulákkal vagy éppen a növényi sejt átrendeződése a hifák behatolása, átjutása előtt (PARNISKE 2008; BONFANTE és GENRE 2008; GUTJAHR és PARNISKE 2013). A tápanyagátadás egyik ki-tüntetett határfelülete az intracelluláris arbuszkulum, melyet a növényi sejt speciális szerveződésű membránja vesz körül (GUTJAHR és PARNISKE 2013). Hasonlóan a korábban említett FRANK-féle ektomikorrhiza kapcsolatokhoz köthető anyagátadási hipotézishez, ennek a mikorrhizatípusnak is jóval a felfedezése, dokumentálása után igazolták, hogy a szénforrás a gomba számára a növénytől származik (HO és TRAPPE 1973), és az anyagáramlás ténylegesen cukrok és lipidek formájában is történik, ami azért is elengedhetetlen, mert minden jel arra mutat, hogy az I-es típusú zsírsav-szintáz (FAS-I) komplex hiányzik az AM-gombákból (lásd RICH és mtsai. 2017 és hivatkozásaik). Ahogy az ECM-kapcsolatokhoz általánosságban a nitrogén mobilizációt, úgy az AM kapcsolathoz általában a foszfátot kötik (SMITH és READ 2008).

Az AM-képző gombák cönocitikus hifákat képeznek, sok sejtmag található egy hifában, vagy egy spórában (REDECKER és RAAB 2006). Az AM-képző gombákra általánosan nagyfokú genetikai heterogenitás jellemző, ennek mértékéről, szerveződéséről, akár csak a genomjuk méretéről hosszas vita folyt (például PAWLOWSKA és TAYLOR 2004; HUIJI és SANDERS 2005; áttekintésként lásd ROPARS és CORRADI 2015). Az obligát biotróf életmód és a sokmagvúság, illetve a heterogén genetikai tartalom jelentősen megnehezítette, megnehezíti ezen gombák genomikai vizsgálatait. Ennek köszönhetően, annak ellenére, hogy molekuláris biológiai modellorganizmusok, eddig csak egy faj, a legszélesebb körben használt *Rhizophagus irregularis* (amit sokáig *Glomus intraradices* fajként használtak, lásd később) teljes genomját sikerült szekvenálni, igaz több monokarionból kiindulva (TISSERANT és mtsai. 2013; LIN és mtsai. 2014). Ezek a szekvenciák számos érdekességre rávilágítottak, például az is kiderült, hogy talán mégsem olyan jelentős, vagy teljesen máshogy szerveződik a gombákon, hifákon belüli genetikai heterogenitás (áttekintésként lásd CORRADI és BRACHMANN 2017).

Azt is megerősítették az eredmények, hogy a növényen belüli struktúrák, az intracelluláris kolonizáció kialakítása is nagyrészt a növényen múlik, hiszen például nincsen a gombának megfelelő hatékonyságú növényi sejtfalat bontó enzimek (plant cell wall degrading enzyme; PCWDE) (TISSERANT és mtsai. 2013). Azonban az arbuszkuláris mikorrhiza növényen belül létrejövő kolonizációs mintázatait feltételezhetően előfordul, hogy a gomba és nem a növény határozza meg (DICKSON 2004). Alapve-

tően két fő típusát különíthetjük el a kolonizációnak: GALLAUD (1905) munkája alapján az *Arum*- és a *Paris*-típust, az előző esetében intercellulárisan futó fő hifákról történnek leágazások, és jönnek létre jelentős méretű arbuszkulumok a sejtekben, míg az utóbbi esetben a hifák intracellulárisan haladnak, a sejtekben hifahurkokat képeznek, és ha vannak, ezekről indulnak a kisméretű, sokszor nehezen észrevehető arbuszkulumok. Természetesen számos átmeneti forma is előfordulhat (DICKSON 2004), és az is nyilvánvaló, hogy a kolonizáció típusa alapvetően befolyásolhatja a partnerek közötti anyagáramlás térbeli szerveződését (SMITH és SMITH 1997). A kolonizáció módja, bár vannak nagyobb csoportokra, esetleg taxonokra utaló formák (OEHL és mtsai. 2011b), összességében azonban nem nyújt támpontot az arbuszkuláris mikorrhizát létrehozó gombáról.

Habár a részletes fajleírásoknál szokás dokumentálni, megemlíteni egy adott csapdanövény gyökerében képzett struktúrákat is, az AM-képző gombák „klasszikus”, morfológiai alapú taxonómiája azonban a leggyakrabban a talajban, egyes fajok esetében a gyökérben képzett ivartalan spórák jellemzőin alapulnak (REDECKER és RAAB 2006; OEHL és mtsai. 2011b; BŁASZKOWSKI 2012). Az AM-képző gombák monofiletikus csoportját (az akkori Glomerales) elsősorban a cönocitikus szerveződésű hifáik alapján sokáig az egykori járomspórás gombák (Zygomycota, Zygomycetes) közé, majd később, elsősorban riboszómális RNS-gének szekvenciáinak filogenetikai elemzése alapján, külön törzsbe sorolták őket (Glomeromycota, SCHÜSSLER és mtsai. 2001). Ezen gének elemzése alapján az AM-képző gombák kládja testvércsoportja volt a Dikarya csoportnak, bár ez a pozíció nem volt erősen támogatott. Más gének vizsgálatakor azonban a járomspórás csoportokkal rendeződött együtt és ezt a pozíciót filogenomikai vizsgálatok is megerősítették, és ezen kívül a hifális szerveződés egyes jellemzőinek hasonlósága is ezt támogatta, nem a Dikarya rokonságot (SPATAFORA és mtsai. 2016). Ennek eredményeképpen Glomeromycotina néven altörzs szintre sorolták a csoportot, mely a Mortierellomycotina és Mucoromycotina altörzsszel alkot egy kládot és adják együtt a Mucoromycota törzset (SPATAFORA és mtsai. 2016)

Függetlenül a csoport leágazódási helyétől, annak idejét körülbelül 400–450 millió évvel ezelőtre teszik (REDECKER és RAAB 2006), tehát az AM-képző gombák leszármazási vonalának megjelenése és ezek diverzifikációjának kezdete a szárazföld növények általi meghódításával esik egybe, azonban növények összehasonlító genomikai vizsgálata szerint az arbuszkuláris mikorrhiza kialakulását lehetővé tevő gének már a szárazföldre

„lépést” megelőzően megjelentek a növények evolúciójában (DELAUX és mtsai. 2015; BRAVO és mtsai. 2016). A leágazás kora, a partnernövények magas száma és azok jelentős filogenetikai és életmódbeli diverzitása, továbbá a földrajzi elterjedtség ellenére a mai napig csupán körülbelül 250 elfogadott, leírt AM-képző gombafajt ismerünk. A csoport morfológiai szempontból kimondottan karakterszegény, a molekuláris filogenetikai módszerek megjelenése előtt ivartalan spóráiknak morfológiai és anatómiai bélyegeit használták az egyes taxonok jellemzésére (REDECKER és RAAB 2006). A jellemzések és határozások során a használható karakterek a spóra alakja, a csatlakozó hifa kapcsolódási módja, a spóra csírázásának mikéntje vagy épp a spórafalak, illetve azok rétegeinek száma, jellemzői, festődése (OEHL és mtsai. 2011b; BŁASZKOWSKI 2012). Ezek helyes vizsgálata és megfelelő értelmezése – különösen új taxonok leírásakor – nagy tapasztalatot és szakértelmet igényel, és akkor még nem is említettük, hogy az egyspórás, „egyfajos” izolátumok létrehozásának, és folyamatos fenntartásának nehézségeit. Nem véletlen, hogy a világon csak néhány ember tekinthető a morfológiai alapú taxonómia és jellemzés avatott, megbízható szakértőjének. Az AM-képző gombák esetében is számos probléma abból eredt, hogy a rendszerezésben használt fontosnak, jónak hitt bélyegekről derült ki, hogy valójában, nagyobb csoportok szintjén nem informatívak. Például az úgynevezett glomoid spóra, mely esetén a hifák végén képződik egy gömbölyded klamidospóra, melyhez bármiféle extra anatómiai változás nélkül, egyszerűen csatlakozik hifa, fontos határozóbélyeg volt (REDECKER és RAAB 2006). Kiderült azonban, hogy az ezen bélyeg alapján kijelölt csoport bizonyosan nem monofiletikus, és számos más leszármazási vonalban találhatunk ilyen spórákat, például a később leírt *Paraglomus* és *Diversispora* nemzetségekben is (REDECKER és RAAB 2006). Ráadásul, vannak hialin (színtelen) glomoid spórájú taxonok, melyek spóraméret-tartománya például alatta lehet a talajmosásoknál sokszor rutinszerűen használt szitalyukméretnek (BŁASZKOWSKI és mtsai. 2015), így az sem zárható ki, hogy egyszerűen ilyen okokból is „elkerüli” sok AM-képző gombafaj, hogy begyűjtésre, leírásra kerüljön.

Egy másik, a taxonómiai munkákat megnehezítő problémát az AM-képző gombák típusanyagai, múzeumi, gyűjteményi példányai jelentik. Ezek a legtöbb esetben fixált, mikroszkópos preparátumok, és ezeken néhány spóra jelenti például az adott név típusanyagát. Jó esetben egy ilyen preparátum mikroszkopikusan vizsgálható, de a korábban részletezett problémák miatt ez nem biztos, hogy segít megoldani a kérdéseket, moleku-

lális vizsgálatok viszont megvalósíthatatlanok ezekből az anyagokból. Mivel a nevezéktan szabályai szerint (MCNEILL és mtsai. 2012) gombák típusanyagai nem lehetnek metabolikusan aktívak, így AM-képző gombáknál is csupán úgynevezett „ex-type” izolátumok létezhetnek, – ezeket mivel, ha egyáltalán vannak, cserépkultúrákban kell(ett) fenntartani, különösen a molekuláris filogenetikai módszerek alkalmazása előtt leírt fajoknál csak nagy óvatossággal lehet bármilyen célra kiindulópontnak tekinteni.

2.1.2.1 Egy taxonómiai illusztráció

Jól illusztrálja a taxonómiai problémák számos fajtáját a különböző kísérletekben legtöbbet használt, talán legismertebb AM-képző gomba taxonómiai, nevezéktani „története” az utóbbi évtizedből: BLASZKOWSKI és mtsai. (2008) leírták a *Glomus irregulare* fajt, melynek szekvenciái molekuláris filogenetikai elemzések során a modellorganizmus *Glomus intraradices* szekvenciáinak „egységét” megbontották, és bár mutattak morfológiai hasonlóságokat, a szerzők indokoltnak látták az új fajt leírni. STOCKINGER és mtsai. (2009) nrDNS-szakaszok vizsgálatával megállapították, hogy a modellorganizmus *Glomus intraradices* név „ex-type” izolátuma, és a *Glomus intraradices* fajként kísérletekben, kutatásokban leginkább elterjedten használt két, különböző gyűjteményből származó izolátum, valójában a *Glomus irregulare* fajjal egyeznek meg. (Megjegyzés: Az előbbi cikk online megjelenése és az utóbbi kéziratának benyújtása között körülbelül másfél hónap különbség volt.) Az új faj anyagait felhasználva SOKOLSKI és mtsai. (2010) három, izolátumokon belül heterogenitást nem mutató proteinkódoló gén vizsgálatával is igazolták, hogy az egyik leggyakrabban használt izolátum (DAOM 197198) valójában *Glomus irregulare*. Jelenleg a faj neve *Rhizophagus intraradices*, mivel ezt a taxont sem kerülte el az AM-képző gombák teljes taxonómiai revíziója és nevezéktani felülvizsgálata. Ennek szerzői, kihasználva a nevezéktani szabályozás lehetőségeit, „magánkiadásban”, online tették közzé az anyagot (SCHÜSSLER és WALKER 2010), és hiába követte rövidesen három erratum (listázva: SCHÜSSLER és WALKER 2010), még így is sok hiba maradt az egyébként jelentős, és régóta, bár nem ilyen formában közölve várt munkában. Jól jellemzi a gombacsoport taxonómiája körüli helyzetet, hogy OEHL és mtsai. (2011b) szintén a teljes AM-képző gombákra irányuló átfogó, szemléletmódjában teljesen más felől közelítő munkája, bár a megjelenés után került benyújtásra, meg sem említi SCHÜSSLER és WALKER (2010) anyagát. SIEVERDING és mtsai. (2014) azonban megkérdőjelezhető érvekkel támadták a

nemzetség nevének kijelölését, és leírták a *Rhizoglossus* nemzetséget, átsorolva 13 *Rhizophagus* nemzetségbe sorolt vagy 2010 után ebbe a nemzetségbe leírt fajt. Ezzel viszont nem jutott nyugvópontra a nemzetség ügye, hiszen az előbb említett, online publikációs lehetőségek miatt minden későbbi *Rhizoglossus* nemzetségben leírt fajt az Index Fungorum névközlési lehetőségét kihasználva „visszasoroltak” *Rhizophagus* nemzetségbe (például WALKER 2016), mely nemzetségnév konzerválására nevezéktani javaslat is született (WALKER és mtsai. 2017). Ezt a javaslatot befolyásolhatja az AM-képző gombák átcsoportosítása (SPATAFORA és mtsai. 2016), mert a javaslat formálisan a Glomeromycota törzsbe tartozónak sorolja a nevet.

A példa illusztrálja, hogy egy nehezen vizsgálható gombacsoport, valós taxonómiai és nevezéktani problémájának a megoldása közben (helyett) miként keletkezhetnek újabb problémák és ezzel együtt akár új nevek tucatjai. PODANI (1997) könyvében a kladisztika témájával foglalkozó részt „A „veszekedők” tudománya” alcímmel vezeti fel – talán az idézőjel használatánál is tovább finomodhatna ez a cím, ha párhuzamba állítanánk az AM-képző gombák taxonómiai, rendszertani kutatásaival.

2.2 Gyökérendofiton gombák

A növények gyökereit a különböző mikorrhizaképző gombák mellett endofiton gombák is kolonizálják. „Endofiton az az organizmus, mely úgy kolonizál, hogy az nem feltűnő, a kolonizált szövetek legalább átmenetileg tünetmentesek, és a kolonizáció bizonyíthatóan belső...” (STONE és mtsai. 2000), ennek megfelelően az „endofiton gombák a növényi szövetekben, akár inter- akár intracellulárisan, tünetmentesen (értsd: a szöveti károsodás kézzelfogható jele nélkül) élnek” (SAIKKONEN és mtsai. 1998). Próbálkozások az újradefiniálásra (HARDOIM és mtsai. 2015) sem oldották fel az abból fakadó problémákat, hogy a meghatározások nem egy rendszertani csoportra vonatkoznak, és funkciót sem kötnek ezekhez az organizmusokhoz. Ennek megfelelően elég nagy a bizonytalanság az endofitonokkal kapcsolatban, akár még annak tekintetében is, hogy például mikorrhizaképző gombákat (gondoljunk az endomikorrhizákra) endofitonnak tekinthetünk-e. Természetesen alapvető kérdés, hogy általánosan milyen funkciói lehetnek az endofitonoknak, és ezzel kapcsolatban számos elmélet, lehetőség van. Az egyik ismert elképzelés szerint egy „kiegyensúlyozott antagonizmus” („balanced antagonism”) (SCHULZ és BOYLE 2005) valósul meg a növény és az endofiton között,

mely, amikor ebből kimozdul, akkor patogénné válik. Ezt egészítették ki azzal, hogy nem csupán a növény–endofiton kapcsolat tartja egyensúlyban a szimbiózist, de kompetitorok, patogének és egyéb endofitonok is részt vesznek az egyensúly fenntartásában (SCHULZ és mtsai. 2015). PORRAS-ALFARO és BAYMAN (2011) endofiton gombákhoz kapcsolható számos lehetséges funkciót összefoglaltak: lehetnek akár mikorrhizaképzők, nyugvó, látens patogének, szaprotrófok, vagy védelmi szerepük lehet különböző biotikus és abiotikus faktorokkal szemben.

Az endofiton gombákat sokféle szempont alapján lehet csoportosítani. RODRIGUEZ és mtsai. (2009) többek között a gombák diverzitását, a gazdanövények körét, a kolonizált szerveket alapul véve csoportosították őket négy osztályba („class”). Az első, legismertebb, legtöbbet kutatott csoport az úgynevezett C-endofitonok, az anyarozsfélék családjának (*Clavicipitaceae*) jól ismert endofitonjai, melyek leginkább fűfélék föld feletti szerveit kolonizálják. A harmas csoportba szintén föld feletti szerveket kolonizáló endofitonok tartoznak, mint például a fásszárúak leveleit kolonizáló hiperdiverz (ARNOLD és LUTZONI 2007) endofiton közösségek.

A RODRIGUEZ-féle osztályozásban (RODRIGUEZ és mtsai. 2009) a kettes és a négyes csoportba tartoznak azok az endofiton gombák, melyek gyökereket is kolonizálhatnak. A kettes csoportban nem kizárólagosan gyökereket kolonizálók vannak, és előfordulhat az élőhely-adaptáció („habitat adaptation”) jelensége, míg a négyes csoportban csak gyökereket kolonizáló és melanizált hifákkal rendelkező, úgynevezett sötét szeptált endofiton (DSE) gombák tartoznak. Az élőhely-adaptáció egyik legismertebb példája a Yellowstone Nemzeti Park (USA) hőforrásai körül megtalált endofiton szimbiózis: a *Dichantelium lanuginosum* nevű fűféle és a gyökereket is kolonizáló *Curvularia protuberata* gomba külön-külön már 38 °C fok felett elpusztulnak, de együtt, mikor a gomba endofitonként kolonizálja a növényt, akár 65 °C hőmérsékletet is túlélnek (REDMAN és mtsai. 2002). Később kiderült, hogy ehhez ráadásul elengedhetetlen egy harmadik partner is, egy, a gombákat „fertőző” vírus, a *Curvularia thermo-tolerance* vírus (CThTV) (MARQUEZ és mtsai. 2007).

A legismertebb gyökérendofiton egy olyan gomba, melyet eddig egyetlen egyszer izoláltak a természetben, az 1990-es évek első felében, egy AM-gomba spórájából. Ezt a bazídiumos gombát 1998-ban egy új nemzetséget alkotva írták le *Piriformospora indica* néven (VERMA és mtsai. 1998). A gomba nagyon hamar modellé vált, amihez a megfelelő marketingen túl szükséges volt az is, hogy fenntartható táptalajon, jól felszaporítha-

tó, gazdanövények széles spektrumát kolonizálja és valóban számos pozitív hatása van a növényekre (SINGH és mtsai. 2003; QIANG és mtsai. 2012). Kolonizálta a lúdfüvet (*Arabidopsis thaliana*) is, így a nem mikorrhizas növénybiológiai modellorganizmussal számos kísérletben lehetett használni (például PEŠKAN-BERGHÖFER és mtsai. 2004; LAHRMANN és mtsai. 2015). A gomba egyes növényekkel interakcióban először biotróf, majd nekrotrófba csap át (LAHRMANN és mtsai. 2013), és a faj genomjáról is megállapították az elemzések során, hogy mind szaprotróf, mind biotróf jellegzetességeket is mutat (ZUCCARO és mtsai 2011).

Maga a nemzetség is monotipikus volt sokáig, majd 2012-ben írták le a második fajt (BASIEWITZ és mtsai. 2012), annak izolálójáról nevezve el azt (*Piriformospora williamsii*), aki szintén AM-képző gombából, a csapdanövény gyökerén belüli vezikulumokból izolálta az új fajt, egy Harpendenből (Rothamsted Research, UK) származó AM-izolátum cserépkultúrájából (WILLIAMS 1985). A nemzetség hivatalos neve már *Serendipita* (WEISS és mtsai. 2016), igaz, az átnevezés indokoltsága vitatható. A modellendofiton felkapottságának, biológiai adottságai mellett, egy másik oka, hogy a Sebaciales rendbe tartozik, ami egy nagyon diverz, széles körben elterjedt csoport, és melynek tagjai számos mikorrhizatípust is képeznek: ekto-, orchid-, erikoid- és ektendo-mikorrhizaképző taxonokat is találunk a csoport két nagy családjában (lásd WEISS és mtsai. 2016 és hivatkozásaik).

2.2.1 Sötét szeptált endofitonok

Jóval szélesebb körben elterjedtek és gyakoribbak a jellemzően tömlősgombák közé tartozó gyökérendofiton gombák, melyek között el szokták különíteni a melanizált hifájú, úgynevezett sötét szeptált endofiton (dark septate endophyte, DSE) formacsoportot (fentebb, mint a RODRIGUEZ-féle negyedik osztály). Mikorrhizák vizsgálata során már korán észrevettek egy másfajta, endogén kolonizációt, melyet, tudva, hogy nem az, „*Rhizoctonia*-szerűnek” neveztek (történeti áttekintést lásd JUMPPONEN és TRAPPE 1998). A csoport a jelenleg leggyakrabban használt nevét (DSE) a gyökereket kolonizáló, szeptált, melanizáció miatt barna hifáikról kapta (HASELWANDTER és READ 1980), jellegzetes képlete továbbá az intracellulárisokban létrejövő, sűrűn szeptált, úgynevezett mikroszklerócium is (JUMPPONEN és TRAPPE 1998). A csoportot különböző nevekkkel illették, és illetik ma is, a legelterjedtebb az először csak szeptált endofiton, mely később egészült ki a sötét jelzővel (JUMPPONEN és TRAPPE 1998). Hasonlóan az AM-

szimbiózishoz, minden szárazföldi növénycsoportban találhatunk DSE-kolonizációt (JUMPPONEN és TRAPPE 1998; SIEBER és GRÜNIG 2014), és a nem mikorrhizásnak tekintett csoportok (például keresztesvirágúak, szegfűfélék, keserűfűfélék) gyökereit is kolonizálják DSE-gombák. Köztük az *Arabidopsis* gyökereit is, ezért alkalmasak lehetnek ezzel a modellnövényrel való vizsgálatokra (MANDYAM és mtsai. 2013; MANDYAM és JUMPPONEN 2014). Vadon élő *Arabidopsis* gyökerekről is izoláltak endofiton gombákat (KEIM és mtsai. 2014), és egy nagy földrajzi léptékű gyökérendofiton-vizsgálatban is egy rokon keresztesvirágú növényt, a *Microthlaspi* fajok egyedeit mintázták szerte Európában (GLYNOU és mtsai. 2015, K1A és mtsai. 2016). Jelen ismereteink szerint nincs olyan növénycsoport, amiről kijelenthető lenne, hogy nem kolonizálja DSE. A DSE-gombák jellemzően a tömlősgombák közé tartoznak, a Pezizomycotina számos rendjében megtaláljuk a csoport képviselőit, számos ismert faj tartozik például a Pleosporales, Helotiales, Xylariales, Eurotiales, Sordariales rendekbe (ADDY és mtsai. 2005; SIEBER és GRÜNIG 2014). A DSE gombák általános jellemzője, hogy ivaros alakjuk nem ismert, és sokszor még ivartalan spóráképzésük is csak nehezen indukálható (JUMPPONEN és TRAPPE 1998). Habár folyamatosan írnak le újabb és újabb DSE-taxonokat, a mai napig kevés, csupán néhány tucatnyi pontosan leírt DSE-gombafajt ismerünk.

Legismertebb és legjobban vizsgált képviselőik a Helotiales rendbe tartoznak, mint például a *Cadophora* nemzetség tagjai (SIEBER és GRÜNIG 2014), vagy az erdei ökoszisztémák ECM-képző fásszárú növényeivel gyakran szimbiózisban élő úgynevezett PAC-fajcsoport (*Phialocephala*–*Acephala* complex) gombái (GRÜNIG és mtsai. 2008). Ezek között vannak olyanok, melyek egyes növényekkel ektendo-mikorrhizát vagy akár ektomikorrhizát képezhetnek, mint például a már korábban említett *Acephala macrosclerotiorum* faj (MÜNZENBERGER és mtsai. 2009). A PAC-csoportban annak ellenére, hogy nem ismert ivaros alak, populációgenetikai vizsgálatok alapján feltételezték, hogy létezhetett ivaros szaporodás vagy létezik valamiféle paraszexuális folyamat a csoportban (GRÜNIG és mtsai. 2008). A párosodásért felelős MAT-lókuszokat is azonosították később (ZAFFARANO és mtsai. 2011) és ezek a *Phialocephala subalpina* faj teljes genomszekvenciájának elemzésekor is azonosításra kerültek (SCHLEGEL és mtsai. 2016).

A gyökérendofiton–növény kölcsönhatás funkcionális szempontból jóval kevésbé feltárt, mint a mikorrhiza-kapcsolatok, nem véletlenül utal a csoport egyik fontos áttekintő munkája címében is „elusive function”-ként a DSE-gombák szerepére (MANDYAM és

JUMPPONEN 2005). A korai, funkciókra irányuló vizsgálatokból is látszott, hogy növényekre gyakorolt hatásaiban is nagyon heterogének a DSE-gombák, igaz ezt sokszor a nem pontosan meghatározott taxonok használata, nehezen összevethető kísérleti beállítások okozhatták (lásd JUMPPONEN és TRAPPE 1998). Izotópos vizsgálatokkal bizonyították egy DSE-gomba–növény interakcióban a kölcsönös anyagátadás meglétét (USUKI és NARISAWA 2004), de nagyon sok funkciókkal kapcsolatos kérdés nyitott még. Például transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatok során nem találtak ép periszimbiotikus membránt (lásd PETERSON és mtsai. 2008 és hivatkozásai), bár későbbi vizsgálatokban biotrófként jellemezték a *Harpophora oryzae* kölcsönhatást (SU és mtsai. 2013). Két metaanalízis is próbálta publikált tanulmányok alapján elemezni a DSE-gombák növényekre gyakorolt hatásait. Míg MAYERHOFER és mtsai. (2013) a teljes növényi biomaszára gyakorolt szignifikáns negatív hatást találtak (más paraméterekre sokszor inkább neutrális hatást), addig NEWSHAM (2011) azt találta, hogy a DSE-gombák nem voltak negatív hatással semmilyen paraméterre az általa vizsgált kutatásokban, sőt a hajtás- és gyökérbiomassza nőtt, és az inokulált növények nitrogén- és foszfortartalma is emelkedett. Fontos faktornak bizonyult, hogy a rendszerekhez ne adjanak további szervetlen nitrogénformát, és/vagy csak szerves formában kerüljön nitrogén a rendszerbe (NEWSHAM 2011), ezzel is megerősítve a nitrogénformák jelentőségét a DSE-gombák növényekre gyakorolt kölcsönhatásában (USUKI és NARISAWA 2007; UPSON és mtsai. 2009). Az egyik metaanalízis érdekes eredménye, hogy valójában a hatásokat nem befolyásolta, hogy volt-e DSE-gombakolonizáció az inokulált rendszerekben (NEWSHAM 2011). A két metaanalízis által is vizsgált tanulmányokban, hasonlóan az általános gyakorlathoz, a legtöbbször vizsgált paraméter a növények biomaszájának a gyarapodása (NEWSHAM 2011; MAYERHOFER és mtsai 2013). Ez a „quick and dirty” módszer korlátainak ismeretében adhat bizonyos támpontot, de hasonlóan a mikorrhiza-kapcsolatokhoz, a gyökérendofitonok esetében is számos egyéb, a növényekre gyakorolt pozitív hatás is lehetséges. Ilyen például a patogénekkal szembeni védelem, mely hatást vizsgáltak például már fásszárú (TELLENBACH és mtsai. 2013) és lágyszárú (SU és mtsai. 2013) növényeket kolonizáló DSE-gombák esetében is.

2.2.2 Kölcsönhatástípusok *in planta* változatossága

A fent felsorolt kölcsönhatási típusok átfedő gazdanövénycsoportjai mutatják, hogy léteznek olyan növények, melyek többféle kölcsönhatás kialakítására is képesek (BRUNDRETT 2002, 2009; WANG és QIU 2006; KOVÁCS 2008). Ráadásul ezeket szimultán módon is kialakíthatják, akár ugyanazon gyökérrészt kolonizálhat különböző interakció-típust kialakító gomba. Bár ennek nagyon sokféle kombinációja lehetséges, itt csak az endofitonokkal kapcsolatban említenénk példákat, lévén, talán a mai napig ez a leginkább „ignorált” kölcsönhatási típus.

A korábban említett erdei ökoszisztémák fásszárú növényeit kolonizáló PAC-csoport endofiton fajai ECM-képző növényeket kolonizálhatnak (például *Populus* fajok), de más, nem ebbe a csoportba tartozó DSE-gombákat is ki lehet mutatni ECM-növényekből (például LACERCAT-DIDIER és mtsai. 2016). Az ECM-képző növényeket, sőt magukat az ektomikorrhizas gyökérvégeket is sokszor nagy arányban kolonizálják endofitonok, ahogy ez molekuláris diverzitási vizsgálatok során is sokszor igazolást nyert (például TEDERSOO és mtsai. 2009; KERNAGHAM és PATRIQUIN 2011; TOJU és mtsai. 2013). Hasonló a helyzet az AM-képző növényekkel, ahol még könnyebb is a kettős kolonizáció felismerése, és szinte biztos, hogy találunk DSE-kolonizációt is az AM mellett. Olyan növényeket is ismerünk, melyek mindhárom – ektomikorrhiza, arbuszkuláris mikorrhiza, DSE-gombakolonizáció – kölcsönhatási típust képesek egyszerre létrehozni, például a fűzfélék (fűz, nyár), vagy a Cistaceae csoportba tartozó fajok (JUMPPONEN és TRAPPE 1998; BRUNDRETT 2002, 2009; WANG és QIU 2006; SIEBER és GRÜNIG 2014).

Ennek ellenére például nem általános, hogy egy-egy vizsgálatban a különböző kölcsönhatási típusokat is figyelembe vegyék, a funkcionális munkákban pedig különösen ritka, hogy együttes kolonizációban, szimultán inokulációval vizsgálják a kapcsolatokat. Például a PAC-csoport egyes tagjai ECM-képző gombával együtt szignifikánsan más hatást gyakoroltak a növények gyarapodására, mint amikor önmagukban alkalmazták őket. Ezen kísérletek (REININGER és SIEBER 2012, 2013) eredményei is mutatták a gyökérendofitonok esetében is tetten érhető fajon belüli funkcionális heterogenitást (például MANDYAM és mtsai. 2013; MANDYAM és JUMPPONEN 2014).

2.3 Diverzitás és taxonómia

Az előbbi példákból is látszik, hogy milyen jelentősége lehet annak, ha akár csak egyetlen növény gyökereit is különböző gombák kolonizálják – legyenek akár jelentősen eltérők rendszertanilag és/vagy az általuk kialakított kölcsönhatástípusok szempontjából, vagy akár ugyanakkor a fajnak különböző izolátumai (a gombák esetében az „egyed” nem feltétlenül értelmezhető). Mindez szervesen illeszkedik az általánosan is egyre elterjedő szemlélettel, miszerint egy élőlény az őt kolonizáló, benne élő többi élőlénnel, mikrobával együtt, egyfajta holobiontként értelmezhető (például GORDON és mtsai. 2013). A növényi holobiont szemléletében ugyanígy jelentős szerepe van az együttes kolonizációknak, akár nem patogén (lásd VANDENKOORNHUYSE és mtsai. 2015) akár patogén (lásd TOLLENAERE és mtsai. 2016) kölcsönhatásokat vizsgálunk is.

Ez közösségi szinten sincs másképp: egy élőhelyen a gyökérkolonizáló gombák kompozicionális diverzitásának jelentős hatása lehet például az adott növénytársulásra. Ennek egyik legelső, mérőföldkőnek számító igazolásakor AM-képző gombaközösségek diverzitásának hatását vizsgálták európai és észak-amerikai gyepek növényeiből mesterségesen létrehozott közösségeire, és igazolták, hogy a talajban az AM-képző gombák közösségének diverzitása egyértelműen pozitív hatással volt a növényközösség diverzitására és produktivitására (VAN DER HEIJDEN és mtsai. 1998). A talaj tápanyagainak kiaknázása is egyre jelentősebb volt a fajsza emelkedésével, ami utal a taxondiverzitás melletti funkcionális diverzitás meglétére is (VAN DER HEIJDEN és mtsai. 1998). Amennyiben egy AM-képző gombaközösség egy növénytársulás domináns, erős kompetitorára erős pozitív hatással van, úgy viszont akár az is előfordulhat, hogy fordított lesz a hatás, a növénytársulás diverzitása csökken az AM-képző gombák hatására (WILSON és HARTNETT 1997; HARTNETT és WILSON 1999). Igazolást nyert például az is, hogy a taxondiverzitás „mélysége” is befolyásolja például egy AM-gombaközösség hatását, filogenetikai szempontból minél különbözőbb tagjai voltak a közösségnek, annál erősebb pozitív hatást tudott gyakorolni a növényzetre (MAHERALI és KLIRONOMOS 2007). Bár az AM-képző gombáknál is egyértelműen igazolt a fajon belüli funkcionális heterogenitás (például MUNKVOLD és mtsai. 2004), ezek a példák is mutatják, amennyiben funkciójában szeretnénk megérteni egy ökoszisztémát, elengedhetetlen a közösség diverzitásának feltárása, és szereplőinek, illetve azok változatosságának azonosítása.

Ezekből is látható, hogy az ökoszisztémák működésében, a növények életében kulcsszerepet játszó gyökérkolonizáló gombák diverzitásának feltárása funkcionális szempontból is lényeges, és túlmutathat a biodiverzitás pusztá dokumentációjának alapvető feladatán. Bár az is nyilvánvaló, hogy a lehetséges funkciók nem feltétlenül értelmezhetők kizárólag a fajok szintjén és a fajdiverzitás–funkcionális diverzitás viszonya sem teljesen tisztázott, mégis, a gombafajok azonosítása, jellemzése, megnevezése alapvető fontosságú, és nem csupán alapkutatási szempontból. A gombák taxonómiájának gyakorlati vonatkozásai is jelentősek, gondoljunk csak a kórokozó fajokra (CROUS és mtsai 2015), vagy éppen az ezek elleni küzdelemben használt biokontroll ágensekre, és ezek neveinek a különböző szabályozásokban betöltött szerepére. És ugyanez, bár például a törvényi, szabályozási korlátok esetükben kevésbé szorosak, de igaz az oltóanyagként használatos növényeket segítő gyökérkolonizáló gombákra is. Hasonlóan lényeges szempont a fajok azonosítása és megnevezése étkezési szempontokból is. A fogyasztható, árusítható, élelmiszeriparban felhasználható vagy éppen a gyógyhatású gombák esetén ennek nem csak egészségügyi („Bad taxonomy can kill”, ahogy a Mycotaxon folyóirat híres „emblémája” is utal a gombák fajfelismerésének szélsőséges jelentőségére), de gazdasági vonatkozásai is lehetnek. A mikorrhizaképző gombák közül számos faj termőteste nagy gasztronómiai jelentőségű, komoly piaci értéket képviselnek, nem véletlen, hogy például a valódi szarvasgombák (*Tuber*) fajszerű diagnosztikájának fejlesztése fontos célja a kereskedelmi célú ellenőrzések segítése is (például PAOLOCCI és mtsai. 2004; BONITO 2009).

2.3.1 Fajdiverzitás feltárása, gyűjtemények

A bevezetésben említett fajszámbecslések (HAWKSWORTH 1991, 2001; O'BRIEN és mtsai. 2005; SCHMIT és MUELLER 2007; HAWKSWORTH és LÜCKING 2017) bármelyikét is vesszük alapul, a jelenleg leírt gombafajok számának még többszöröse, 5–10–30-szorosa „vár” felfedezésre és leírásra. A 2000-es évek első évtizedében hozzávetőlegesen körülbelül 1000–1100 új gombafajt írtak le évente, ez a 2010–2015-ös időszakban megemelkedett, átlagosan évenkénti körülbelül 1500 fajra (HIBBETT és mtsai 2011, 2016; HAWKSWORTH és LÜCKING 2017). Még ezzel az utóbbi gyorsabb ritmussal is több, mint 350 évre lenne szükség a legalacsonyabb számmal becsült fajok leírására. Sajnos azonban ez a folyamatos taxonómiai munka újabb munkát is termel, és nem csak a korábbiakban említett nevezéktani „ámokfutások” miatt. Jelenleg egy új taxon leírása-

hoz nem kötelező molekuláris taxonómiai, filogenetikai elemzés, nem szükséges DNS-szekvenciák deponálása. A korábbi, például az AM-gombáknál tárgyalt példák mutathatták, hogy molekuláris vizsgálatok nélkül nem lehet teljesen megbízható jellemzését adni egy taxonnak, de ez számos más gombáról is elmondható. A későbbi kutatásokat is nagyban segítené, ha az újonnan leírt fajok típusanyagaiból azonnal elkészülnének fontos lókuszok, DNS-vonalkódrégiók szekvenciái, melyek felhasználhatók lennének a későbbi taxonómiai vagy éppenséggel közösségi, molekuláris diverzitási vizsgálatokban. Annak ellenére, hogy egy-egy lókusz szekvenál(tat)ása már olcsón kivitelezhető, és számos cég teljes szolgáltatást is kínál a DNS-kivonástól kezdve a bioinformatikai feldolgozásig, még 2015-ben is több, mint 500 új gombafajt írtak le bármiféle DNS-szekvenciaadat nélkül (HIBBETT és mtsai. 2016). Igaz, az ezredforduló óta a szekvenciaadatok nélkül leírt fajok száma arányaiban egyre csökken, és 2013-ban kisebbségbe „billent” az ilyen leírások aránya a korábbi 70%-ról (HIBBETT és mtsai. 2011, 2016), valójában az lenne ideális, ha tilos lenne új taxont leírni szekvenciavizsgálatok nélkül, hiszen az ilyen elemzések nélkül leírt a taxonok és neveik garantáltan további munkát okoznak, és növelhetik a szinonimok számát is.

Ennél jóval szélsőségesebb álláspont az, miszerint egyáltalán nem kéne leírni a „klaszszikus értelemben” új neveket, sokkal fontosabb lenne a meglévő, ismert diverzitás biológiájának megértése, a gombákat pedig megfelelő adatbázisok szekvenciacsoportjaik alapján lehetne azonosítani (MOONEY 2015).

Sajnos a szekvenciaadatokkal is jellemzett többség csak a jelenlegi, új fajleírásokra vonatkozik, a korábban leírt fajokra és használatban lévő nevekre vetítve ennél rosszabb az arány. Vannak gombacsoportokra és/vagy területekre, gyűjteményekre, országokra irányuló kezdeményezések, melynek célkitűzései, hogy a fajok gyűjteményekben deponált példányaiból, illetve adott esetben típusanyagaiból megpróbáljanak szekvenciaadatokat nyerni, és ezeket elemezni, publikálni, és adatbázisokban hozzáférhetővé tenni (RATNASINGHAM és HEBERT 2007; BROCK és mtsai. 2008; OSMUNDSON és mtsai. 2013; LIIMATAINEN és mtsai. 2014). A taxonómiai és nevezéktani szempontból is bonyolult, hatalmas fajszámú, bazídiumos, ECM-képző pókhálósgombák nemzetsége például egy ilyen csoport, ahol ráadásul a makroszkopikus termőtestek lehetővé teszik, hogy típusanyagokból DNS-kivonáshoz mintát lehessen venni, és relatíve jól használható ilyen munkákra akár régebbi példányok is (LIIMATAINEN és mtsai. 2014). A nemzettségben vannak olyan szekciók, ahol a leírt fajok típusanyagainak jelentős részét már

feldolgozták – és például megállapítást nyert, hogy csak morfológiai jellemzőket használva, mindent egyes fajt átlagosan legalább kétszer leírtak (LIIMATAINEN és mtsai. 2014). Azonban nem minden gombacsoportban kivitelezhető ilyen munka, ahogy az például az AM-gombáknál említésre is került, és nem is tartozik minden névhez használható típusanyag, aminek nem csak elvesztés, gyűjtemény megsemmisülés lehet az oka, hanem például az is, hogy típus lehet(ett) akár illusztráció is, sőt 1958. január 1-ig egy új faj leírásához nem is volt kötelező típusanyag kijelölése (MCNEILL és mtsai 2012).

A gyűjtemények feldolgozottsága, és sajnálatos módon sokszor a megbecsültségük, ritka üdítő kivételektől eltekintve, nem mondható jónak. Természetesen a gyűjtemények anyagai, a típusanyagokkal való munka számos friss anyagon vizsgálható morfológiai karakter vizsgálatát már nem teszi lehetővé: színatlaszok (például RAYNER 1970) kódjai, nevezéktana ellenére a szín is egy ilyen jellemző, hasonlóan az egyes csoportoknál informatív illathoz. Ultrastruktúra-vizsgálatok sem végezhetők száraz anyagokon, holott ezek a komparatív vizsgálatok számos csoport esetében fontos, rendszerezésben is használható információt nyújthatnak, ilyenek például a rajzospórás gombák mozgó sejtjeinek ultrastruktúrája (JAMES és mtsai. 2006), az üszögök egyes jellemzői (BAUER és mtsai. 1997) vagy éppenséggel a tömlősgombák bizonyos karakterei (KIMBROUGH 1991). Nem véletlen, hogy a valódi gombák filogenetikai viszonyainak tisztázását célul tűző AFTOL (Assembling Fungal Tree of Life) projekt is számos ultrastruktúrális jellemzőt is vizsgált (CELIO és mtsai 2006.).

2.3.2 Nevezéktan

A nevezéktannal foglalkozni nem tudományos feladat, mégis elengedhetetlen fontosságú a szabályok követése és azok módosítása, többek között azzal a céllal, hogy amennyire lehet, könnyítse, segítse a még feltáratlan gombadiverzitás dokumentálását. A gombák nevezéktani szabályait az International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants című munka tartalmazza, melynek jelenlegi érvényben lévő változata az úgynevezett „Melbourne Code” nyomtatott angol nyelvű változata (MCNEILL és mtsai. 2012).

A gombák nevezéktanával kapcsolatos, az utóbbi évek talán legfontosabb törekvéseit, célkitűzését az úgynevezett „Amszterdam-Deklaráció” fogalmazta meg (HAWKSWORTH

és mtsai. 2011). Elvként rögzítette az „egy gomba, egy név” („One fungus, one name”) célt, hiszen a gombák taxonómiájának egyik legnagyobb problémája a rengeteg érvényes szinonim meglétéből fakadt (kb. 300 000 érvényes név körülbelül 120 000 fajhoz). Szakértőkből álló csoportok dolgozták ki, hogy melyik nevek maradjanak érvényben („One fungus, which name?”), úgy, hogy praktikus elveket is figyelembe vegyenek, és ne csupán automatikusan alkalmazzák a prioritási szabályokat.

Fontos változtatás volt a gombák nevezéktanában a latin diagnózis szükségességének eltörlése is, hiszen 1935. január 1. és 2011. december 31. között kötelező volt az új taxonok rövid, elkülönítő specifikumait összefoglaló rész latin nyelvű közlése (MCNEILL és mtsai. 2012). Ez különösen anakronisztikusan hat, amikor például nukleotid-motívumok vagy azonosítást biztosító PCR primerek szekvenciái is egy-egy diagnózis részét képezik, mint például az AM-képző *Archeosporaceae/Paraglomaceae* és *Archeospora/Paraglomus* taxonok esetében (MORTON és REDECKER 2001). A változtatás annyiban viszont hátrányos, hogy nem feltétlenül különül el minden esetben egy rövid diagnózis a részletes leírástól, és ha egy határozó kulcsot sem közölnek a leírók, akkor nehéz eldönteni, mit is tekintenek az új taxon specifikus, elkülönítő karaktereinek.

Nem minden változtatási törekvést lehet teljes támogatással üdvözölni. Ezek közül jelenleg az egyik legerősebb, agresszíven terjesztett javaslat, hogy el lehessen nevezni, formálisan le lehessen írni csupán szekvencia alapján igazolt, bemutatott gombataxont (HIBBETT és mtsai. 2011; HIBBETT és TAYLOR 2013; HIBBETT 2016). Ezt a mikológus „társadalom” a közvélemény-kutatásokban egyértelműen elutasította, ez azonban nem tántorította el az ügy képviselőit, hogy tovább erőltessék a dolgot, és már hivatalos indítványt is megfogalmaztak a következő kódex változtatáshoz (HAWKSWORTH és mtsai. 2016.).

Ezzel több probléma is van, az egyik talán legnagyobb félreértés, hogy az ügy képviselőinek érvelésében összekeveredik a molekuláris módszerekkel még nem azonosított, azonosítható klád és az eddig nem ismert új taxon fogalma (például HIBBETT és mtsai. 2009; HIBBETT és TAYLOR 2013). A korábban taglalt feldolgozottságok (meglévő fajok, jelenlegi leírások) mellett, különösen egyes csoportokban, a leírt fajok jelentős részéhez nincs szekvencia, és ez okozhatja, hogy az adott csoportban kládok azonosítatlannak tűnnek. Ezt jól illusztrálta, mikor egy közönséges talajlakó csoport adatbázisokból legyűjtött, molekuláris diverzitási munkákból származó szekvenciáihoz egyre több törzs-

gyűjteményi, leírt faj szekvenciáját rendelve, folyamatosan csökkent az azonosítatlan kládok száma (NAGY és mtsai. 2011). Ezek a kládok eredetileg, mint „azonosítatlan” csoportok jelentkeztek, de valójában nem új fajok voltak (NAGY és mtsai. 2011). Természetesen, a molekuláris diverzitási munkák valóban segíthetik megjósolni egy-egy gombacsoport fajszerát, vagy egy-egy területen előforduló, illetve egy-egy növény gyökereihez kapcsolódó gombataxonok szerát, de csupán néhány, jól feldolgozott csoport esetén feltételezhetjük, hogy egy nem azonosított leszármazási vonal új fajt/taxont is jelent. És még ekkor sem biztos, hogy a pusztán szekvencia alapú formális leírás segíti, és nem nehezíti a további munkálatokat.

2.3.3 Molekuláris taxonómia, primerek

A gombák filogenetikájának, taxonómiájának, diverzitásának vizsgálataiban forradalmi változást hozott a molekuláris módszerek megjelenése, különösen a polimeráz láncreakció elterjedése, mely időszaknak korai pillanataiban mikológusok is megtervezték és közzétették azokat a primer szekvenciákat (WHITE és mtsai. 1990), melyeknek úttörő jelentősége lett a gombák kutatásában. Az ebben a munkában közölt magi riboszómális RNS génkomplex (nrDNS) különböző szakaszait célzó primerek a mai napig rutinszerűen használatban vannak. Nem sokkal ezen publikációt követően publikálták azt az nrDNS kis alegység (SSU) 3' végén forward irányba mutató „valódi gombák” csoportjára specifikus primert (ITS1F, GARDES és BRUNS (1993), melyet párban alkalmazva a fenti munkában közölt, nrDNS nagy alegységének (LSU) 5' végén reverz irányultságú ITS4 primerével, specifikusan amplifikálható az úgynevezett ITS-régió, mely az átíró-dó, de később kivágódó ITS1- és ITS2-régiót, és az általuk közrefogott 5.8S nrRNS gént tartalmazza. Általánosan ez a régió, ezek a szakaszok váltak a mikológia taxonómiai és diverzitási munkáinak „alapjává”, függetlenül attól, hogy az korán megmutatkozott, hogy például közösségek vizsgálataiban az ITS1F primer „hajlamos” a fejlettebb, Dikarya csoportok DNS-éhez kötni, és az ősi csoportok alulreprezentáltak, különösen, ha jelenlétük és/vagy DNS-ük aránya a közösségben/mintában valóban alacsony.

Ilyen okok eredményezték például azt, hogy a bazális AM-képző gombákhoz külön primerek, primerrendszerek fejlesztése történt meg. Sok esetben az alacsony DNS-mennyiség és/vagy arány miatt ezek „nested”, „semi-nested” PCR-ekben használatosak. Az egyik legkorábbi és sokáig a legelterjedtebben használt primerpár az általános NS31 (SIMON és mtsai. 1992) és az AM-képző gombákra specifikus AM1 (HELGASON és

mtsai. 1998). Ezek egy rövid szakaszát erősítik fel az SSU-génnek, hamar elterjedtek, nagyon sok adat gyűlt össze használatukkal, és az amplikon hossza miatt az első nagy mintamélységű „metabarcod” AM-gombadiverzitási munkákhoz is alapot adott (ÖPIK és mtsai. 2009). Ezt a szakaszt is lefedi a WUBET és mtsai. (2006) által közölt, nested PCR-rendszer, melynek második lépésében négy, az AM-képző gombák nagyobb csoportjaihoz tervezett primer tartozik. Szintén az SSU ezen szakaszát is lefedi a LEE-féle (LEE és mtsai. 2008) primerpár. Nem fed ezzel át, mert az SSU 3' végét és az ITS-régiót fed le a REDECKER-féle (REDECKER 2000; REDECKER és mtsai. 2003) nested/seminested PCR-rendszer, melynél a második lépésnek számos primerje/primerpárja egyes AM-képző gombacsoportokhoz kötődik jobban. Az LSU régió 5' végén található informatív loop-régiókat átfedő DA SILVA-féle primerrendszer (DA SILVA és mtsai. 2006), mely önállóan és nested PCR-ben, első lépésben az LR1 (VAN TUINEN és mtsai. 1998) és FLR2 (TROUVELOT és mtsai. 1999) primereket alkalmazva is használható. Egy újabb, elsősorban taxonómiai munkákhoz tervezett PCR-rendszer szintén egy nested PCR-en alapuló módszer, melyben számos primer keveréke alkotja az egyes „primereket” és az SSU végét, a teljes ITS-régiót és az LSU informatív régióját is lefedi (KRÜGER és mtsai. 2009). A KRÜGER-féle rendszer diverzitási munkákban is feltűnt már, azonban használata nehézkes, és az amplikon hossza miatt sok hibalehetőséget is hordoz, de taxonómiai, filogenetikai munkákban egyre elterjedtebb és jól használható. Viszont az érintett szakasz nem fed át például az SSU azon szakaszával, amiről rengeteg diverzitási adat is rendelkezésünkre áll(t), és az azon szakaszokkal jellemzett taxonokkal nem elemezhetők együtt a KRÜGER-féle rendszerrel nyert szekvenciák.

Bár messzemenően az nrDNS különböző szakaszai a leggyakrabban használt szekvenciák, számos egyéb lókuszt használnak nem csupán a taxonómiai, filogenetikai, de a diverzitási munkákban is. Az előző vizsgálatok legismertebb génjei/lókusztai még az RNS polimeráz II legnagyobb (*RPB1*) és második legnagyobb alegysége (*RPB2*), az elongációs faktor (*TEF*), az aktint kódoló gén (lásd áttekintésként például LUTZONI és mtsai. 2004; STIELOW és mtsai. 2015). A diverzitási munkákban a sejtaktivitáshoz köthető gének mellett néha alkalmaznak egyéb funkciókat reprezentáló géneket is (lásd HANNULA és VAN VEEN 2016; PÉREZ-IZQUIERDO és mtsai. 2017). Olyan vizsgálatokban, ahol párhuzamosan nrDNS szakaszokat és funkcionális géneket is alkalmaznak egy gombaközösség vizsgálatakor, úgy is hivatkoznak az előbbiekre, mint a „filogenetikai”, az utóbbiakra, mint „funkcionális” lókusztok.

Ha molekuláris diverzitási vizsgálatokról van szó, nem mehetünk el az „új generációs” szekvenálási (NGS) technikák térhódítása mellett (METZKER 2010), mely nem csak a genomikában (lásd Ezer Gomba Genom Projekt (1KFG), GRIGORIEV és mtsai. 2011), de a diverzitásvizsgálatokban is robbanást okozott, és már a korai tanulmányok eredményei (BUÉE és mtsai. 2009; JUMPPONEN és JONES 2009; ÖPIK és mtsai. 2009), az elképesztő mennyiségű „taxonszám”, és ezek jelentős arányát adó „nem azonosított” egységek száma nagy lökést adtak a korábban említett, szekvenciaalapú taxonómiai kezdeményezéseknek (HIBBETT és mtsai. 2009). Az is látszik már, hogy bár fajlagos költségük, sebességük miatt tényleg alapvető módszerré váltak, igazából nem biztos, hogy ténylegesen más eredményt adnak, mint a kisebb mintamélységű, korrekten kivitelezett munkák, ahogy azt például AM-gombáknál nemrég felvetették (VASAR és mtsai. 2017.)

Azt azonban a szekvenciaalapú taxonok elkülönítését kezdeményező anyagok is felvetik, hogy nem szabad elfeledkezni a DNS-alapú molekuláris diverzitási munkák erős korlátairól. Többek között fontos lenne az egyes csoportokat lokalizálni (HIBBETT és mtsai. 2009), vizsgálni például, hogy milyen formában vannak jelen az adott közösségben, hogy valójában ne csupán a DNS-ük jelenlétéről legyen információnk. Egyes újabb taxonokat, melyek meglétét molekuláris szekvenciaadatok és elemzések jeleztek, fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH) is kimutattak, vizsgáltak, mint például a Cryptomycota (JONES és mtsai. 2011) esetében.

2.3.4 Adatbázisok

Természetesen a gyűjtemények feldolgozottsága, az alkalmazott molekuláris markerek mellett legalább ugyanekkora, ha nem nagyobb hatással bír, (bár egyik kérdéstől sem független) az összehasonlításként, referenciaként használt adatbázisok megléte, minősége. A nyilvánosan elérhető szekvenciák legnagyobb tárháza a nem kurrált GenBank adatbázis (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), melyben, bármennyire is kérés, törekvés a lehető legteljesebb és legpontosabb deponálás (BIDARTONDO és mtsai. 2008), mikológiai példák tömkelegét is lehetne hozni a pontatlanságokra, rosszul, hibásan elnevezett szekvenciákra (lásd NILSSON és mtsai. 2006). Hatalmas áttörés volt, mikortól a nukleotidalapú összehasonlító keresésekből ki lehetett hagyni a környezeti mintákból származó, nem azonosított szekvenciákat; igaz deponálásoknál ezt is lehet következtelenül alkalmazni, és vannak fajnévvel deponált, valójában környezeti mintákból származó anyagok. Egy nemrég történt kezdeményezéssel sikerült elérni, hogy lehessen

jelezni és később szűrni azon „magasabb értéket” képviselő szekvenciákra, melyek típusanyagokból származnak (SCHOCH és mtsai. 2014), és ez meg is jelent, mint opció a GenBank felületein. Fontos fejlesztés, hogy a GenBankban megjelennek a kereszthivatkozások kurrált adatbázisokra is, mint például a UNITE-ra (KÖLJALG és mtsai. 2013), és fordítva, például a MycoBank (ROBERT és mtsai. 2013) vagy éppen a UNITE is hivatkozik a GenBankra.

A MycoBank (<http://www.mycobank.org/>, ROBERT és mtsai. 2013) és az Index Fungorum (www.indexfungorum.org) nevezéktani, taxonómiai, online elérhető adatbázisok. A két felület sokáig párhuzamosan, de mindenféle taxonómiai kötelezettség nélkül működött, a MycoBank egyre jobban fejlődött és tartott lépést az internet fejlődésével, szinte „állva hagyva” az Index Fungorumot. Az „egy gomba, egy név” kezdeményezésekkel párhuzamosan ez a kettősség informálisan el is dőlt, a kutató közösség a MycoBanknak szavazott elsőbbséget. Bár hivatalosan (MCNEILL és mtsai 2012) csak annyi az előírás, hogy „recognized repository” azonosító szükséges a leírásokhoz, a folyóiratok többsége a MycoBank deponálást követeli meg.

Emellett léteznek egyes gombacsoportok, például különböző mikorrhizákat képző gombák, specifikus, kurrált adatbázisai. A UNITE például eredetileg csak skandináviai ektomikorrhizás gombák, elérhető herbárium példánnyal is rendelkező, termőtestekből származó, csak ITS-adatokon alapuló adatbázisának indult (KÖLJALG és mtsai. 2005). Mostanra megkerülhetetlen segítőjévé és kiindulópontjává vált gombadiverzitási munkáknak, nem csak azzal, hogy kiterjesztették a szekvenciák forrásait, de számos információt is kötnek a hasonlóságok alapján létrehozott úgynevezett „Species Hypotheses” (SH) csoportokhoz (KÖLJALG és mtsai. 2013). Ezen túl, a felület számos összehasonlítási, elemzési lehetőséget, „pipeline-t” is kínál (PlutoF, ABARENKOV és mtsai. 2010).

Egy másik, az AM-képző gombák SSU-szekvenciáin, ott is leginkább az NS31–AM1 priemer határolta szakasz szekvenciáin alapuló adatbázis a MarjaAM (ÖPIK és mtsai. 2010). Ez az adatbázis a szekvenciákat hasonlósági értékek alapján úgynevezett „virtuális taxonokba” (VT) rendezi, a szekvencia-összevetéses keresés lehetősége mellett számos élőhelyi, földrajzi, gazdanövényekre vonatkozó adatot is tartalmaz. Kereshetünk például arra, hogy milyen élőhelytípusokból származnak vagy milyen növénycsoport tagjaiból mutattak ki az adott szekvenciákat (ÖPIK és mtsai. 2010), így szűrhetjük, megjeleníthetjük a kevésbé vizsgált élőhelyeket vagy növénycsoportokat.

2.4 Száraz, félszáraz területek

Az előbbire jó példák lehetnek a száraz, félszáraz területek, hiszen ahogy mindennapi gondolkozásunkban is a nyirkos helyekhez, nedvességhez, esőhöz kötjük a gombákat, úgy a száraz területek gombaközösségeire vonatkozó kutatások is alulreprezentáltak. Ennek számos oka lehet, az egyik fontos ok „leolvasható” az ilyen területek elhelyezkedésének térképéről: jelentős része ezeknek nem tartozik a könnyen megközelíthető, és nyugodtan vizsgálható élőhelyek közé. Az azonban kijelenthető, hogy az ilyen, abiotikus stressznek erősen kitett környezetben a gombák jelentősége, például a növényeket segítő, azok szárazságtűrését növelő mikorrhizaképző gombák jelentősége arányaiban jóval nagyobb lehet, mint egy kedvezőbb vízellátottságú élőhelyen. Vagy éppen a talajok alacsony tápanyag-ellátottsága miatt a gombák lebontó tevékenysége jelentette anyag-visszaforogtatás játszhat kiemelt szerepet az ilyen ökoszisztémákban.

Kérdésként merülhet fel, hogy milyen területek tekinthetők száraznak, félszáraznak: a KÖPPEN-GEIGER klímaosztályozás értelmében például a Kárpát-medencében nincs ilyen terület (PEEL és mtsai. 2007), a kiskunsági homopusztagyepek és más homokterületek azonban mégis ilyen területnek tekinthetők, melynek egyik fő oka, hogy a homoktalaj szinte semmiféle vízmegtartó képességgel nem rendelkezik, a talajjal azonban például a fentebb említett klímamodell nem számol. A gombákra, növénykolonizáló gombákra irányuló vizsgálatok az ilyen élőhelyeken nem csupán az ökoszisztémák működésében betöltött szerepük megértése miatt lehet lényeges, de például az adott, vagy hasonló területeken folyó növénytermesztést is segíthetik a helyi, bizonyítottan hatékonyabb izolátumokon (például MIDDLETON és mtsai. 2015; EMAM 2016) alapuló oltóanyagok. Azt például AM-képző gombáknál is bemutatták, ráadásul igazolták, hogy az általános oltóanyagok erős kompetítor, generalista taxonjai kiszoríthatják, így aztán veszélyeztetik is például a száraz, sivatagi környezet helyi, kevésbé ismert AM-képző gombaközösségek tagjait (SYMANCZIK és mtsai. 2015).

A korábban említett pontos lokalizáció és vizualizáció segíthet annak tisztázásában is, hogy például egy kimutatott taxon valóban szárazságtűrő-e, vagy ténylegesen egy olyan mikrokörnyezetben él, ami nem tekinthető száraznak, mint amilyen például kisemlősök fészkei, hiszen az itt kimutatott gombák, a földrajzi terület ellenére, valójában nem tekinthetők száraz élőhelyen élőknek (lásd ZAK 2005 és példái).

Vannak olyan jellemzői a gombáknak, melyekről tudjuk, hogy összefüggésben állhatnak a száraz élőhelyekhez történő adaptációval, ilyen például a termőtestképzés eltolódása a zárt formák és a földfelszín alatti kialakítás felé. A záródó, föld alatt képzett termőtest nem ritka a gombák körében, és számos, különböző élőhelyeken előforduló lezármazási vonalon előfordul, ezt nevezzük „secotiod szindrómának” (THIERS 1984). Az talán nem véletlen, hogy THIERS többek között a nevadai sivatagokban végzett kutatásai alapján fogalmazta meg ezt a felvetését.

2.4.1 Sivatagi szarvasgombák

Ennek a termőtestképzésben is megnyilvánuló alkalmazkodásnak talán a leginkább egyértelmű példáit az úgynevezett sivatagi szarvasgombák adják. A fogalom nem jelent taxonómiai csoportot, és nem is használatos egy szarvasgombacsoport nevében sem a „sivatagi” jelző. Ezek a gombák sivatagokban élő embereknek, őslakosoknak évezredek óta a mindennapjaihoz tartoznak, ahogy ez a szaharai népek, kalahári őslakosok vagy éppen az ausztrál aboriginálok esetén is megmutatkozik (SHAVIT 2014). A szarvasgomba terminust, hasonlóan az angol „truffle” kifejezéshez, többféleképpen, szűkebb vagy tágabb értelmezésben is használják. Jelen dolgozatban, nem csak a sivatagi szarvasgombákkal kapcsolatban, LÆSSØE és HANSEN (2007) meghatározását alapul véve, a föld alatti termőtestet képző, egykori Tuberales rendbe sorolt tömlősgombákat kell érteni a szarvasgombák megnevezés alatt. A legismertebb sivatagi szarvasgombák a *Terfezia* nemzetségbe tartoznak, bár jelenleg (már) 11 olyan tömlősgomba nemzetséget ismerünk, melyekben előfordulnak sivatagi szarvasgombák, és ezek közül hét eddig csak sivatagi élőhelyekről került elő (KOVÁCS és TRAPPE 2014).

Azt talán nem is gondolnánk, de maguk a sivatagok is nagyon sokfélék, és bár közös bennük a szárazság maga, de egyéb abiotikus tényezőik alapján alapvetően különböznek (WARD 2008). A kisebb területektől eltekintve, húsz nagyobb sivatagot különítenek el a Földön, melyek között a különbségek „valószínűleg nagyobbak, mint bármely egyéb biom esetében” (WARD 2008). Ezeken az élőhelyeken, a növények szimbiotikus partnerként való segítésén túl, az állatvilág számára is lényeges táplálékforrást jelentenek a szarvasgombák, az állatok pedig a spórák terjesztésével segítik a szarvasgombákat. Érdekes, hogy éppen egy sivatagi szarvasgomba, az észak amerikai *Carbomyces emergens* mutat alternatív spóraterjesztési módot is, hiszen a kisemlősök általi terjesztésén túl, az érés során a felszínt is elérő termőtestek (erre utal az „emergens” fajnév) szinte porrá

válnak, ahogy kiszáradnak, és a perídiumuk szétesésével a szél is tudja terjeszteni a spóráikat (lásd TRAPPE és mtsai. 2014 és hivatkozásai).

A sivatagi szarvasgombák közül vannak, melyek molekuláris biológiai vizsgálatok modelljeivé váltak, és például a szárazságstressz elviseléséhez köthető jellemzők, mint az aquaporinok, vizsgálatait végzik rajtuk (NAVARRO-RÓDENAS és mtsai. 2012, 2013). Egyes fajukat termesztik, és a mikorrhizás partnernövényeikként is ismert Cistaceae fajokkal mikroszaporításon alapuló növény-előkészítést és inokulálást dolgoztak ki velük, és alkalmazták telepítések létrehozásához (lásd az áttekintést MORTE és ANDRINO 2014; HONRUBIA és mtsai. 2014).

Mivel ezeket a gombákat egyes területeken régóta gyűjtik, sok információ állt rendelkezésünkre, és több gyűjtemény is őriz jelentős mennyiségű sivatagi szarvasgomba példányt. A nagy érdeklődés és jelentős gyűjtési hagyományok ellenére, átfogó, több lezármazási vonalukra irányuló áttekintő, összehasonlító, molekuláris filogenetikai módszereket is alkalmazó vizsgálat korábban nem történt, klasszikus módszerekkel viszont készült egy nagyon alapos összehasonlító, áttekintő munka (ALSHEIK 1994).

2.5 Hazai előzmények, alföldi vizsgálatok

Összességében az mindenképpen elmondható, hogy a Kárpát-medencéből relatíve kevés nem patogén gyökérkolonizáló gombára vonatkozó adat áll rendelkezésünkre. A hazai, természetesnek tekinthető élőhelyek közül az Alföldön, a kiskunsági felszáraz homokterületeken találhatók közül több is vizsgálatra érdemes mikológiai szempontból, hiszen a feltáratlanság „garantálta” nóvum mellett az élőhelyek biotikus és abiotikus jellemzői, valamint a gombák adott ökoszisztémákban betöltött szerepe miatt az eredmények általános érdeklődésre is számot tarthatnak.

Az ektomikorrhiza-képző nagygombák termőtestgyűjtéseiről sok adat áll rendelkezésre (pl. BABOS 1989; RIMÓCZI 1994), ezek esetében, különösen a régebbi adatoknál, sokszor az adott taxonok újabb fajkonceptiói alapján revízióra szorulóknak az adatsorok. Célzottan, egy terület ECM-képző gombaközösségeinek feltérképezéséhez szisztematikus, hosszú távú, termőtestalapú felmérésről nincs publikált eredmény. Több erdős területen végzett monitoring (SILLER 2004) között az egyik átfogó szisztematikus vizsgálat sorozat esetében termőtest alapon az Őrség élőhelyein tárták fel az ott előforduló gombákat (SILLER és mtsai. 2013). Kiskunsági területekről léteznek régebbi adatsorok

(BABOS 1999), vagy utóbbi évtizedek rendszeres terepbejárásain alapuló fajlisták (NAGY 2004; NAGY és GORLICZAI 2007), melyekhez tartozó gyűjtemények akár kiegészíthetnek későbbi vizsgálatokat. A jelen dolgozatban bemutatott anyagokban, bár a susulykák ektomikorrhizáinak vizsgálatakor termőtestekből származó szekvenciákat is bevontunk az elemzéseinkbe, a homoki szarvasgomba vizsgálatainál történt csak termőtestek célirányos gyűjtése. A föld alatti termőtestű gombáknak jelentős hagyományai voltak a Kárpát-medencében, elég talán HOLLÓS (például 1911) és SZEMERE (például 1965) munkásságára utalni. Ezen hagyományokra is alapozva indultak el újabb kori, szarvasgombákra irányuló kutatások (lásd például HALÁSZ és mtsai. 2005; BRATEK és mtsai. 2013; MERÉNYI és mtsai. 2014).

Egyes növények, társulások mikorrhizáltságára irányuló kutatások magyar nyelven is összefoglalásra kerültek (KOVÁCS 2008). Az első, hazai laboratóriumokban végzett, kolonizált gyökérvégből kiinduló ECM-képző gomba molekuláris taxonómiai módszerekkel való azonosítása egy tomentelloid ektomikorrhiza vizsgálatakor történt (KOVÁCS 2002), melyet további mintákkal kiegészítve született meg a *Tomentella stuposa* fajcsoport ECM-jellemzése (JAKUCS és mtsai. 2005a). Az alföldi területeken végzett ECM-vizsgálatok leginkább nyár és tölgyerdőkre irányultak (JAKUCS 1997; JAKUCS és CSIHA 2002–2004, JAKUCS és mtsai. 2005a,b), bár a fülöpházi homokgyepből is publikálásra kerültek ECM anatómiai jellemzések (JAKUCS és mtsai. 1999; MAGYAR és mtsai. 1999; KOVÁCS és JAKUCS 2001).

Az AM-képző gombákkal számos alkalmazott vizsgálatot végeztek (lásd például HERNÁDI és POSTA 2013), és növényélettani vizsgálatokban is szerepet kaptak (például PARÁDI és mtsai. 2003; FÜZY és mtsai. 2013). A makroszkopikus termőtestet képző AM-képző gombák feltűntek föld alatti gombákra irányuló munkákban (SZEMERE 1965), és spóráik alapján természetes élőhelyeken, homokterületeken és alföldi szikes területeken is vizsgáltak AM-képző gombákat (LANDWEHR és mtsai. 2002).

A jelen dolgozatban bemutatott vizsgálatok kérdéseinek egy része a korábbi, alföldi, Duna–Tisza közti területeken végzett mikorrhizavizsgálatok eredményeiből indult ki (ezek összefoglalását lásd KOVÁCS 2002). A hazai vonatkozások, kapcsolódó előzmények a dolgozat további részeiben, elsősorban az eredmények és értékelésük részekben, kerülnek majd megemlítésre.

3. Célkitűzések

A jelen dolgozatban bemutatott kutatások célja elsősorban fűlszáraz, száraz területeken élő, és ezekkel közeli rokonságban álló, nem patogén gyökérkolonizáló gombák diverzitásának feltárása és vizsgálati lehetőségeinek fejlesztése volt.

Habár ezen gombák akár obligát módon is növényasszociáltak, mikocentrikus vizsgálataink az egyes interakció-típusokban résztvevő, különböző gombacsoportok diverzitására irányultak. A kompozicionális diverzitásvizsgálatokhoz vagy azok mellett, akár szűk értelemben vett taxonómiai célkitűzések is kapcsolódnak.

Munkáinkban három kölcsönhatási típusra és ezeket létrehozó gombákra fókuszáltunk, melyek mindegyike akár együttesen is jellemző legfontosabb hazai mintavételi területeink növényeire is, és vizsgáltuk a szintén növényasszociált sivatagi szarvasgombákat és rokons csoportjaikat is. Módszertani munkáink során az egyes gombacsoportok, kölcsönhatási típusok specifikus vizualizációját tűztük ki célul, és a fajok molekuláris azonosításának és a filogenetikai elemzések fejlesztési lehetőségeinek vizsgálatában is részt vettünk, ezek eredményeit munkáinkban alkalmaztuk is.

A dolgozatban bemutatott kutatások alatt **célunk volt:**

1. Az ektomikorrhizák vizsgálata során

1.1 a „kis fehér” szarvasgombák (*Tuber rapaeodorum* fajcsoport),

1.2 tomentelloid fajok (*Tomentella* spp.),

1.3 és susulyka fajok (*Inocybe* spp.)

diverzitásának ektomikorrhizáikból kiinduló, molekuláris filogenetikai módszerekkel történő vizsgálata, és az eredmények összevetése az ektomikorrhizák morfoanatómiai jellemzőivel és az ECM-képző gombacsoportok taxonómiájával.

2. Az arbuszkuláris mikorrhizák és az AM-képző gombák vizsgálata során

2.1 in planta molekuláris **diverzitási** módszerekkel tisztázni, milyen **AM-képző gombák** kolonizálják a **virginiai holdruta** (*Botrychium virginianum*) **sporofiton**jait annak hazai unikális, kiskunsági élőhelyén,

2.1.1 és az eredmények mutatnak-e összefüggést a páfrány arbuszkuláris mikorrhizájának speciális anatómiájával.

2.2 Kiskunsági homokterületek AM-képző gombaközösségeinek vizsgálata spóraelapú módszerek alkalmazásával, és

2.2.1 részletes jellemzését, taxonómiai leírását adni egy **tudományra új AM-képző gombafajnak**.

2.3 Homokterületekről, száraz élőhelyekről származó tudományra új AM-képző gombák és rokon fajaik taxonómiai kutatásaiban molekuláris filogenetikai módszerek alkalmazásával vizsgálni azok rendszertani helyzetét, és teljessé tenni tudományra új fajok, nemzetségek leírását, valamint a szükséges átsorolásokat.

3. A sötét szeptált endofiton (DSE) gombák vizsgálata során

3.1 kiskunsági élőhelyek gyökérendofiton gombaközösségeinek kompozícionális diverzitásának feltárása, a DSE-csoportokat azonosítása, és

3.1.1 tisztázni, melyek tekinthetők gyakori, generalista csoportoknak.

3.2 Ezen csoportok közül a **tudományra új**, nem azonosított **leszármazási vonalak** részletes, polifázikus **taxonómiai, filogenetikai vizsgálata**.

3.3 Annak vizsgálata, hogy a taxonómiai diverzitás mellett kimutatható-e **ezen DSE-gombacsoportok funkcionális sokszínűsége**.

4. Az *in planta* vizualizációs módszerfejlesztés során

akár egy növényben együtt is előforduló kölcsönhatási típusokat létrehozó különböző gombák **specifikusan** és **szimultán** is alkalmazható ***in planta* megjelenítésének** megvalósítása, ehhez a **fluorszcens *in situ* hibridizáció** (rRNA FISH) eljárás adaptálása és továbbfejlesztése.

5. A sivatagi szarvasgombák és rokonsági köreik vizsgálata során

5.1 spanyolországi *Terfezia* példányok egy gyűjteményi revíziója, illetve a nemzetség diverzitásának vizsgálata,

5.1.1 és egy **tudományra új faj** leírása.

5.2 Egyéb területekről származó minták vizsgálatával

5.2.1 dél-afrikai és ausztrál sivatagi szarvasgombák taxonómiai, filogenetikai viszonyainak tisztázása, és

5.2.2 az Észak-Amerikából korábban ***Terfezia*-ként leírt fajok** és ezek rokon taxonai teljes revíziójának elvégzése.

5.3 A ***Mattirolomyces*** nemzetség, kiskunsági homokterületeken gyakori típusfajának termőtestein az **ultrastrukturális jellemzők** vizsgálata, továbbá a faj Kunfehértói holdrutás erdei élőhelyén a potenciális növénypartnereinek vizsgálata.

6. A molekuláris taxonómiai és filogenetikai módszerek fejlesztése során

6.1 a sivatagi szarvasgombákon végzett munkáinkkal csatlakozva egy nemzetközi konzorciális kutatáshoz, a **gombák általános DNS-vonalkódjának** meghatározása.

6.2 Annak vizsgálata, hogy különböző elemzési módok és az illesztésekben a molekuláris evolúciós **indel-események** „lenyomatainak” **használata** miként emelheti a gombák nrDNA ITS-alapú filogenetikai elemzéseinek megbízhatóságát.

4. Anyagok és módszerek

Ez a fejezet a dolgozatban bemutatott vizsgálatokban felhasznált anyagok és alkalmazott módszereknek csupán vázlatos áttekintését adja. Azok pontos bemutatása, az egyes laboratóriumi eljárások, vegyszerek, reakciók és reagensek, vizsgálatok, adatértékelések, elemzések pontos részletei, körülményei megtalálhatók az adott eredményeket közlő saját publikációkban, azok hivatkozott szakirodalmában.

4.1 Mintavétel, területek, vizsgált növények

A dolgozatban számos területről származtak mintáink, és ezek, valamint a minták pontos lelőhelyei minden esetben megtalálhatók az adott publikációkban. Legfontosabb mintavételi területeink a kiskunsági homoktalajok társulásai voltak, a Kunfehértói holdrutás erdő, a bugaci és tatárszentgyörgyi borókások, és talán még ezek közül is kiemelkedik az eurázsiai sztyeppe öv legnyugatibb területét jól reprezentáló, hazánk botanikai szempontból egyik legjobban kutatott területe a fülöpházi buckás, mozaikos, nyílt homokpusztagyepei. Szinte minden esetben védett, fokozottan védett területeken vettük a mintáinkat, sokszor védett növényekről is. Az egyes vizsgálatok bemutatásánál megtalálhatók a mintázott, vizsgált növényfajok – a gyökérminták gyűjtésekor nagy figyelmet fordítottunk arra, hogy a lehető legkisebb bolygatással vegyük a mintáinkat, lehetőleg nem teljes növényeket eltávolítva. Ez alól az inváziós növények kivételt jelentettek, ott a terület bolygatásának minimalizálása volt az egyedüli szempontunk. Célrányosan termőtestet csak a homoki szarvasgomba és néhány susulyka esetén gyűjtöttünk, itt is arra törekedtünk, hogy csupán a vizsgálatokhoz elengedhetetlenül szükséges mintamennyiséget gyűjtsük be.

Minden mintavételünk a hatályos szabályozásoknak megfelelően történt, és minden vizsgálatunkhoz, minden mintatípushoz, az összes mintavételi területre való bejáráshoz rendelkezünk az éppen aktuális szabályozásokban rögzített törvényi felügyeletet gyakorló hatóságok engedélyeivel.

Sok esetben olyan mintákon is dolgoztunk, melyeket nem mi gyűjtöttünk, hanem gyűjteményekből kölcsönöztük azokat vizsgálatokra, vagy friss anyagot igénylő vizsgálatokhoz (például TEM, AM-képző gombák molekuláris taxonómiai munkái) együttműködések keretében megfelelő módon postázva jutottak el hozzánk.

4.2 Törzsek izolálása, azok fenntartása

Egyes növények egészségesnek látszó gyökereiből, azok darabjait felszínsterilizálásuk után antibiotikus táptalajra (MMN) helyezve izoláltuk, majd szétoltásuk után növekedési és telepjellemzők alapján különítettük el őket. Fenntartásukhoz szintén MMN-táptalajt használtunk, Petri-csészéken, 2–3 havonta átoltva a teljes gyűjteményt. Növekedési jellemzők és sporulációs vizsgálatoknál egyéb (MEA, OA, PDA, SNA, lásd CROUS és mtsai. 2009) táptalajokat is használtunk.

4.3 Növények inokulálása

A gyökérendofiton csoportok vizsgálatakor zárt rendszerben póréhgyma (*Allium porrum*) növényeket fertőztünk MS-táptalajon, Petri-csészéken kontrollált körülmények között nevelve azokat. A FISH-vizsgálatokhoz kukoricanövényeket inokuláltunk cserépkultúrákban, szintén

cserépkultúrákban kerültek „csapdázásra” az AM-gombafajok, a spóraalapú vizsgálatok során lándzsás útifű (*Plantago lanceolata*) gazdanövény alkalmazásával.

4.4 Enzimtesztek

A DSE-csoportok funkcionális heterogenitásának vizsgálataihoz a szemikvantitatív, színreakciók intenzitásának becslésén alapuló apiZYM enzimtesztet (API ZYM System, bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France) alkalmaztuk. A szénforrás-hasznosítás esetében a Biolog-FF plate-rendszerű (Biolog Inc., Hayward, CA, USA) tesztjét használtuk, melyben az adott szénforrások felhasználását a teszt speciális színreakciójának 492 nm-en, míg a hifák növekedésének mértékét a 750 nm-en egy microplate readerrel mért turbiditási értékekből kaptuk. Mindkét teszt esetében követtük a gyártók utasításait, leszámítva, hogy mivel törzseink nem sporuláló fonalgombák, a hifák „darabolása” volt a tesztek inokulálásának kiindulása.

4.5 Mikroszkópos vizsgálatok

A munkák során a legkülönbözőbb mikroszkópos technikákat kellett rendszeresen alkalmaznunk. Gyökerek kolonizációját szintelenítés után anilinkékes festéssel vizsgáltuk, az AM-képző gombák spóráinak vizsgálatához, kiválogatásához, hasonlóan az ektomikorrhizák morfológiai jellemzéséhez és válogatásához, sztereomikroszkópos vizsgálatokat végeztünk, míg anatómiájuk, köpenynyúzataik Nomarski-féle, differenciál interferencia kontraszt (DIC) optika használatával voltak vizsgálhatók. A termőtestek taxonómiai vizsgálatainál a normál fénymikroszkópia mellett szintén szükség lehetett a DIC-használatára, herbárium példányokon vizes vagy 5%-os KOH-s rehidratációt követően voltak vizsgálhatók az egyes taxonómiai jellemzők. Fluoreszcencia-alapú vizsgálatoknál megfelelő szűrőkkel felszerelt epifluoreszcens mikroszkópot és konfokális lézerpasztázó mikroszkópokat (CLSM) is alkalmaztunk. A spórák mintázatának vizsgálatához a pásztázó elektronmikroszkópot (SEM) használtunk, míg a termőtestek részletes ultrastruktúra-vizsgálatokhoz megfelelő fixálás, műgyantás beágyazás és festések után ultravékony metszeteket vizsgáltunk transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM).

4.6 Fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH)

Az rRNS fluoreszcens *in situ* hibridizációhoz a növényi autofluoreszcencia feltérképezése után választott fluorofórokat kapcsolattuk a publikációk vagy saját tervezések alapján szintetizáltatott próbákhoz. A vastag gyökérmetszeteken és gombaizolátumokon alkalmazott hibridizációs és mosási hőmérsékletek, formamid koncentrációk, mosási idők, többszöri próbálkozásokkal kerültek megállapításra.

4.7 Molekuláris filogenetikai vizsgálatok

Vizsgálatainkhoz számos különböző anyagból (ECM-gyökérvégek, AM-képző gomba spórák, kolonizált gyökerek, izolátumok, termőtestdarabok) végeztünk teljes DNS-kivonást, és leegyszerűsített CTAB-puffer alapú kivonás mellett számos gyártó különböző teljes DNS-kivonó kitjét is alkalmaztuk. Az AM-képző gombák spórái esetén, azokat mikroszkóp alatt TE-pufferben szétnyomtuk, és ebből indultunk ki a további munkákban.

A különböző lókuszek amplifikálására számos primerpárt, nested, semi-nested PCR-primerrendszert alkalmaztunk, egyes esetekben a publikált, más esetekben szekvenciákból kalkulált olvadási pontok figyelembevételével állítva be az „annealing” hőmérsékleteket. A különböző amplifikációkhoz számos különböző enzimet, enzim-keveréket alkalmaztunk,

minden esetben követve a gyártó ajánlását, és a polimeráz láncrakciók körülményeinek általános elveit.

Amennyiben szükséges volt az amplikonok klónozása, úgy nagy precizitású enzimeket, enzimkeverékeket alkalmazva, PCR-termékek klónozására kidolgozott vektorrendszereket használtunk. Szintén gyártók kémiai kompetens JM109 vagy DH5alfa *E. coli* sejtjeit használtuk a transzformáláshoz, felszaporításhoz.

Az adott lókuszok, klónok szekvenálását az amplifikációhoz használt, vagy belső, vagy klónok univerzális primereivel, Sanger-féle szekvenálással magunk készítettük elő és szolgáltatóknál futtattattuk, vagy később a teljes szekvenáltatást szolgáltató cégekkel végeztettük.

4.8 Molekuláris filogenetikai elemzések

A szekvenálások futtatásainak elektroforegramjait minden esetben a Staden programcsomaggal (STADEN és mtsai. 2000) ellenőriztük, és egyesítettük. A kapott szekvenciákat nyilvánosan elérhető vagy saját adatbázisaink szekvenciáihoz blastn algoritmussal (ALTSCHUL és mtsai. 1990) hasonlítottuk őket. A megfelelő taxonmintavétellel létrehozott sokszekvenciás adatsorok illesztését a kutatások során több különböző program segítségével készítettük el. A filogenetikai számításokhoz az utóbbi években, amennyiben az adatsorok ezt lehetővé tették, az indel eseményeket jelző úgynevezett „gap” motívumokat is kikódoltuk és ezekkel az adatokkal is kiegészítettük nukleotid-adatsorainkat.

A filogenetikai számításokhoz a munkák során számos algoritmust és programot használtunk, korábbi években távolságalapú és a parszimónia elvén alapuló számításokat is végeztünk. Később, maximum likelihood (ML) és Bayes-alapú filogenetikai számításokat alkalmaztunk, az utóbbi időszakban kizárólag a RAxML (STAMATAKIS 2014; implementáció raxmlGUI v. 1.3, SILVESTRO és MICHALAK 2012) és a MrBayes (MrBayes 3.1.2, RONQUIST és HUELSENBECK 2003) programok segítségével. Ha szükséges volt, adatsorainkra alkalmazható nukleotid szubsztitúciós modelleire és ezek paramétereire is végeztünk számításokat. A filogenetikai fák elágazásainak megbízhatóságát bootstrap elemzések vagy poszterior valószínűségek számításával jellemeztük.

4.9 Egyéb számítások, ábrák

Ábráink készítéséhez számos különböző programot alkalmaztunk, a filogenetikai fák formázásához sokszor használtuk a MEGA-program különböző verzióit (TAMURA és mtsai. 2011, 2013). Amennyiben további ábrák vagy statisztikai számításokra volt szükségünk, úgy a STATISTICA programcsomag különböző verzióit használtuk.

4.10 Publikált adatok nyilvános deponálása

Az aktuális szabályoknak és az adott folyóiratok elvárásainak megfelelően deponáltuk adatainkat, szekvenciáinkat a GenBank-ban, illesztéseinket, filogenetikai elemzéseink részleteit a TreeBase adatbázisban, taxonómiai, nevezéktani adatainkat a MycoBank adatbázisában deponáltuk és tettük elérhetővé.

5. Eredmények és értékelésük¹

5.1 Ektomikorrhizák, ECM-képző gombák

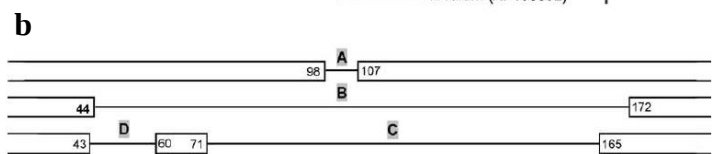
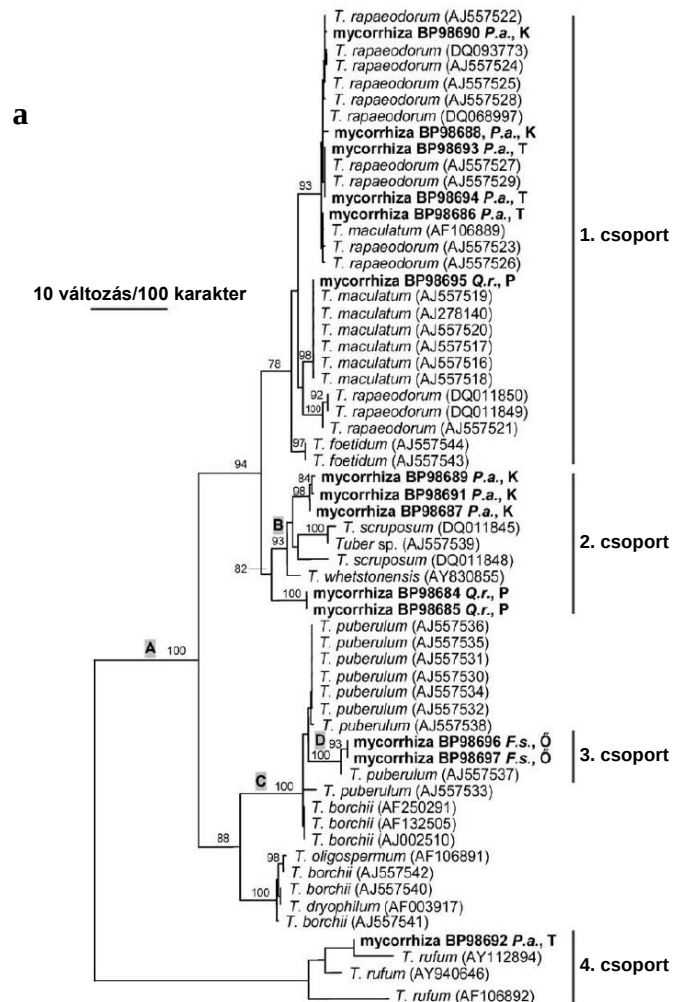
Egy adott élőhely, vagy növény ECM-képző gombaközösségének vizsgálatához alapvetően három mintavételi mód szolgálhat alapul: vizsgálhatjuk az ECM-képző gombák termőtesteit, növények ektomikorrhizas gyökérvégeit, vagy molekuláris diverzitás vizsgálati módszerekkel jellemezhetjük a talajban kimutatható ECM-képző gombák közösségét. Ezek közül a kolonizált gyökérvégek vizsgálata az egyedüli eljárás, ahol az eredmények alapján nagy bizonyossággal adott növénnel kapcsolatban lévőknek tekinthetünk egy-egy gombataxont. Ahogy a bevezetőben is tárgyalásra került, az ektomikorrhizák morfo-anatómiai jellemzői akár taxonspecifikusak is lehetnek, de a molekuláris taxonómiai módszerek alkalmazásakor is segítségünkre lehet a morfo-anatómiai vizsgálat, mert például az ECM-mintákon alapuló molekuláris diverzitási vizsgálatoknál segítheti a feldolgozás előtti mintaszűrést vagy egy vizsgálatra kiválasztott ECM-képző gombacsoport mikorrhizáinak összegyűjtését. Az ECM-alapú molekuláris taxonómiai vizsgálatokban leggyakrabban a gombákra specifikus ITS-primerek használhatók, és mivel egy adott ektomikorrhizas gyökérvégből izolált DNS kivonatban a gomba DNS-aránya nem elenyésző, a specifikus amplifikáció is alapvetően rutinszerű feladat – bár adódhatnak problémák, mint például kevert kolonizáció vagy a nrDNA ITS-szakasz heterogenitása. Munkánk során három ECM-képző gombacsoport ektomikorrhizáinak vizsgálatát végeztük el.

2.1.1 A *Tuber rapaeodorum* fajcsoport ektomikorrhizái

A tömlősgombák közé tartozó valódi szarvasgombák (*Tuber*), különösen egyes csoportjaik ektomikorrhizái relatíve jó hatékonysággal felismerhetők. Korábbi két mintán végzett anatómiai vizsgálatok eredményei alapján (KOVÁCS 2002) az úgynevezett „kis fehér” szarvasgombák, a /maculatum /puberulum leszármazási vonalak (HALÁSZ és mtsai. 2005; BONITO és mtsai. 2010) ektomikorrhizáinak vizsgálatát kiterjesztett mintaszámmal végeztük el, vizsgálva a csoport adott területeken jellemző diverzitását, illetve a csoport fajai által képzett ektomikorrhizák anatómiai változatosságát. A döntő többségében alföldi

¹ Az eredmények publikálásakor érvényes, használt taxonnevek szerepelnek a szövegben, ábrákon. A félreértések elkerülése miatt minden fajnév teljesen kiírva szerepel a dolgozatban.

erdőkből származó, morfo-anatómiai jellemzések alapján a „kis fehér” *Tuber* fajok által képzett ektomikorrhiza-minták közül 14 esetében a nrDNS ITS-szekvenciák elemzése alapján 13 mintáról igazoltuk, hogy azokat valóban a fajcsoporthoz tartozó gombák képezték (1. ábra, a). Egy ektomikorrhiza esetében (BP98692) a gombapartnernek a *Tuber rufum* faj adódott, ennek az ITS-szekvenciáját, a csoportba tartozó további ITS-szekvenciákkal együtt, mint külcsoportot vontuk be az elemzésekbe (1. ábra, a). A publikus adatbázisokban az elemzéskor elérhető, ehhez a csoporthoz tartozó szekvenciákkal együtt elemezve saját szekvenciáinkat, kiderült, hogy a fajcsoport ITS-szakaszára markáns hosszvariabilitás jellemző. Az illesztések alapján ez leginkább az ITS1-régió hosszkülönbségeinek volt köszönhető. Ezen a szakaszon, az illesztések után kialakult egy jellegzetes inzerciós-deléciós („indel”) mintázat (1. ábra, b). Ez az indel-mintázat olyan jelentős volt, hogy a filogenetikai elemzésben az ITS1-régiót nem, az ITS-szakasznak csak az 5.8S gén és az ITS2-régió szekvenciáit tudtuk használni. A végső filogenetikai elemzés során a *Tuber rapaeodorum* csoport szekvenciái két erősen támogatott nagyobb kládba, és ezeken belül két-két csoportba különültek el (1. ábra, a). Érdekes



1. ábra: (a) „Kis fehér” szarvasgombák ECM mintáikból származó nrDNS ITS szekvenciák filogenetikai elemzésének eredménye (Neighbor-Joining elemzés, 1000 ismétléses bootstrap mint %, 70% alatt nincs feltüntetve). Saját adataink vastag szedéssel, nyilvános adatok GenBank azonosítóval jelezve. F.s.: *Fagus sylvatica*, P.a.: *Populus alba*, Q.r.: *Quercus robur*; T: Tompa, K: Kelebia, P: Püspökladány, Ö: Bükk. A szürke háttérű betűk az (b) illesztett szekvenciákban az ITS1 régióban azonosított jellegzetes „indel”-motívumok rendeződésének adott „gap-jei”. A vastagon szedett szám a BP98687 mintából kapott ITS1 szakasz 44. nukleotid pozícióját jelöli. (KOVÁCS ÉS JAKUCS 2006, 1. ábra, módosításokkal.)

módon az ITS1-régió illesztésekor kialakult indel-mintázat nagyobb motívumai hozzárendelhetők voltak az ITS1 kihagyásával kapott filogenetikai fa egyes kládjaihoz, mint „shared characters” (1. ábra). A *Tuber rapaeodorum* csoport esetében a külcsoporthként bevont *Tuber rufum* szekvenciákhoz képest kapcsolható volt egy rövidebb „gap” (A – 1. ábra), melyet egyes alcsoportban „elfedtek” az ezzel átfedésben lévő nagyobb motívumok. A *Tuber rapaeodorum* csoportot képviselő szekvenciák az elemzésekben két fő csoportba rendeződtek. Az első nagy csoporton belül a *Tuber rapaeodorum*, a *Tuber maculatum* és a *Tuber foetidum* fajok szekvenciái képeztek egy kládot, ennek a nagy csoportnak két elkülönülő kládjába rendeződött öt és egy általunk vizsgált ektomikorrhiza-eredetű ITS-szekvencia. Ebben a csoportban ezeket a mikorrhizákat tekinthettük meghatározottnak. Az első nagy csoport másik kládját a *Tuber scruposum* és *Tuber whetsoniensis*, továbbá nem azonosított fajok képezték, illesztésükben egy hosszú „gap” motívummal (B – 1. ábra), tehát a rövidebb ITS1-szekvenciával is jellemezhető csoportba, határozottan elkülönülő ágra került három ECM-eredetű ITS-szekvencia, míg a hosszabb ITS1-szekvenciával rendelkező ECM-minták egy elkülönülő elágazását adták a csoportnak (1. ábra, a). A második nagy csoportba, a *Tuber oligospermum*, a *Tuber borchii* és a *Tuber dryophilum* szekvenciák kládjába, nem illeszkedett ektomikorrhiza-eredetű ITS-szekvencia. A *Tuber puberulum* és a *Tuber borchii* szekvenciákat tartalmazó kládba, mely kládra egy sajátos „gap” motívum (C – 1. ábra) is jellemző volt, beékelődött két ektomikorrhiza-minta, melyek egy *Tuber puberulum* szekvenciával képeztek egy csoportot, és így meghatározottnak tekinthettük őket. A jól támogatott kládra az előbb említett „gap” motívumon túl egy további kisebb „gap” is jellemző volt (D – 1. ábra). A kimutatott taxonok mindegyike ismert volt korábbi magyarországi termőtestgyűjtésekből.

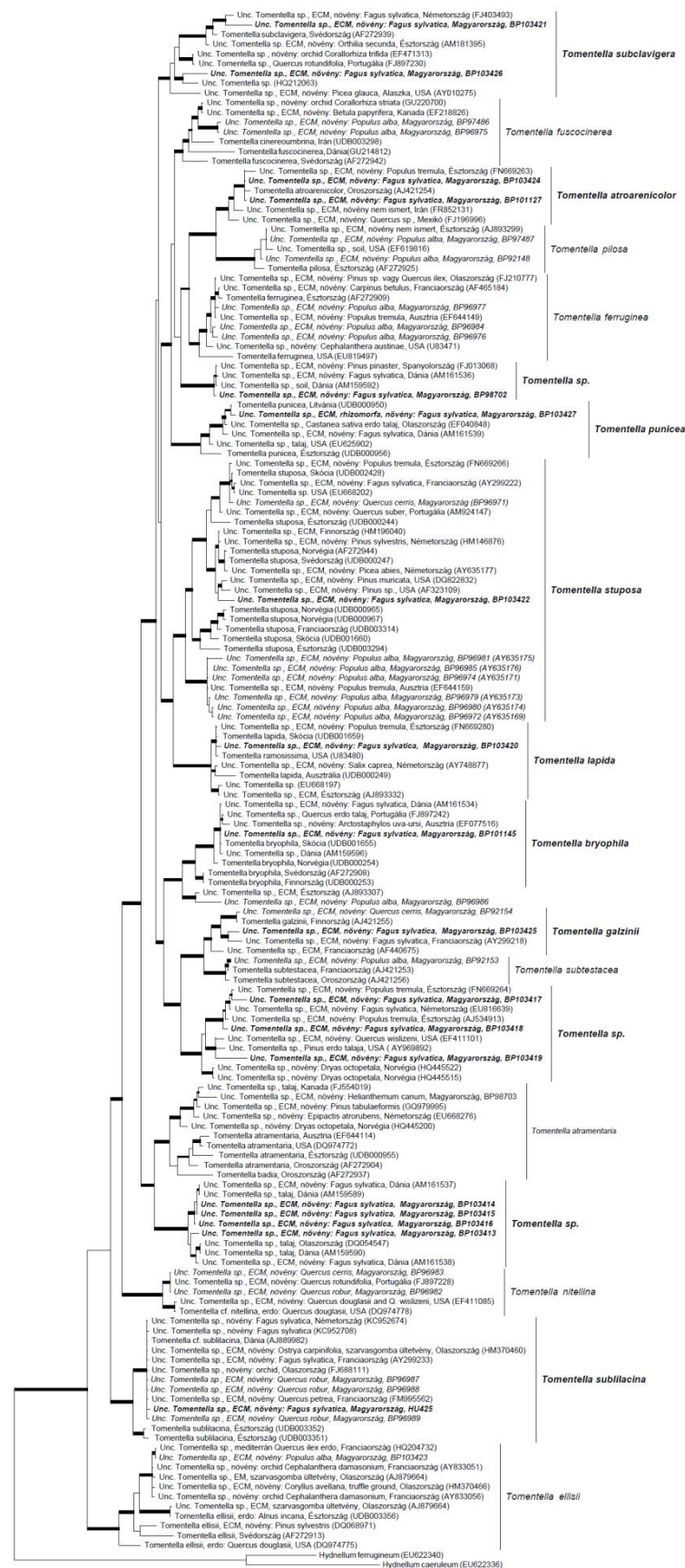
A *Tuber puberulum* csoportban az nrDNA ITS-szekvenciák elemzésekor jellegzetes csoporton belüli diverzitást és az elemzések során egyértelműen elkülönült, jól támogatott kládokat kaptunk, ennek ellenére a csoport ektomikorrhizáinak anatómiája nagyon hasonló: a különböző kládokba rendeződött minták ektomikorrhizái mind sárgászürkés, idősödve barnás színűek, jellegzetes epidermoid köpenyszerkezettel, és hasonló cisztídiumokkal, melyek a felszínen futó hálózatszerű hifarendszerről ágaznak le. A molekuláris filogenetikai eredményeink összhangban vannak a *Tuber* nemzetség, és különösen ennek a leszármazási vonalnak a zavaros taxonómiai helyzetével. Már a morfológiai alapon leírt fajoknál is jeleztek taxonómiai problémákat (GROSS 1987; MONTECCHI és LAZZARI 1992), és a jelentős mennyiségű termőtest, valamint típusanyag

morfológiai és molekuláris taxonómiai vizsgálatai (HALÁSZ és mtsai. 2005) sem tudtak minden problémát megoldani, miszerint a csoport fajai, molekuláris filogenetikai elemzésekben elkülönülő csoportjai, termőtest-morfológia alapján nem, vagy nehezen választhatók szét. Eredményeink alapján számunkra is a csoport „*sensu lato*” fajkonceptiója (MONTECCHI és LAZZARI 1992) tűnt elfogadhatónak. Bár azóta számos filogenetikai, taxonómiai munka született a nemzetségről, illetve erről a csoportról is, és a kládok új fajokkal is gazdagodtak (BONITO és mtsai. 2010. DENG és mtsai. 2013; GUEVARA és mtsai. 2013), a csoport alapvető fajkonceptiójának problémáját nem sikerült feloldani.

5.1.2 A *Tomentella* nemzetség ektomikorrhizái

A bazídiumos gombák Thelephorales rendjébe tartozó *Tomentella* nemzetség világszerte elterjedt ECM-képző csoport (TEDERSOO és mtsai. 2010; TEDERSOO és SMITH 2013), ennek fajai korábbi magyarországi ektomikorrhiza-vizsgálatokban is gyakran azonosításra kerültek (JAKUCS és ERŐS-HONTI 2008; WEI és AGERER 2010; BINDER és mtsai. 2013). A jellegzetes morfo-anatómiai jellemzők alapján az úgynevezett tomentelloid ektomikorrhiza jó hatékonysággal kiválaszthatók egy-egy mintából (JAKUCS és ERŐS-HONTI 2008), így a korábban molekuláris taxonómiai és anatómiai módszerekkel jellemzett mintáinkat – alföldi erdőkből származó tomentelloid adatokat (KOVÁCS 2002; JAKUCS és mtsai. 2005a, b), kiegészíthettük további, bükkösökből származó ektomikorrhiza-mintákkal, és az elemzésekbe bevonhattunk a korábbi tanulmányok óta publikált szekvenciaadatokat is. A molekuláris filogenetikai vizsgálatokban, a *Tuber* fajokhoz hasonlóan, a nrDNS ITS-szakasz szekvenciáit használtuk.

A gombapartnerek azonosításához végzett végső filogenetikai elemzésekbe a tizennyolc mintánkból kapott szekvenciákhoz hasonló nrDNS ITS-adatok mellé bevontunk minden olyan további *Tomentella* csoportot is, melybe a korábbi munkáinkban meghatározott szekvenciájú és anatómiájú, magyarországi területekről származó ektomikorrhizák tartoztak. Így, az új elemzésünkben már szerepelt az összes, magyarországi élőhelyről, leginkább alföldi erdőkből és bükkösökből származó tomentelloid ECM-képző gomba ITS-szekvenciája, a fő csoportokhoz tartozó azonosított termőtestekből származó szekvenciák és további hasonlósági keresésekkel nyert környezeti tomentelloid ITS-szekvencia (2. ábra). Az elemzésekbe vont ITS-szekvenciák 18 erősen támogatott kládot alkottak, ezek nagy részébe, összesen 15 kládba, csoportosultak meghatározott, herbáriumi példánnyal rendelkező termőtestekből származó ITS-szekvenciák: az ilyen kládokat meghatározottnak, az ide tartozó



2. ábra: A *Tomentella* nrDNA ITS-szekvenciák Bayes-alapú analízis eredményeiből számított 50%-os többségi konszenzusos filogram. A fán az összes magyarországi eredetű, eddig jellemzett tomentelloid ECM nrDNA ITS adat szerepel. Vastagon a bükkösökből származó adatok és ilyeneket tartalmazó kládok nevei, dőlttel az alföldi erdőkből származó tomentelloid minták. Egy klád akkor kapott fajnevet, ha szerepel benne azonosított, herbáriumi példánnyal is rendelkező termőtestből származó ITS-szekvencia. Az egyes szekvenciáknál szereplő előfordulási illetve gazdára vonatkozó adatok a GenBankból vagy az eredeti publikációkból származnak. Vastag ág: legalább 70%-os ML bootstrap (1000 ismétlés) és 0,9 posterior valószínűség támogatta. Mércé: 0,5 várható változás/hely/ág. (JAKUCS és mtsai. 2015, 1. ábra, módosításokkal)

ektomikorrhizákat az adott faj által képzettnek tekintettük (2. ábra). Számos kládba több UNITE SH-ba is tartozó ITS-szekvencia került (2. ábra). A 18, magyarországi erdőkből kimutatott tomentelloid csoportból csupán három olyan volt, ahová mind a bükkerdőkből származó tomentelloid minták, mind pedig az alföldi élőhelyekről is kimutatott minták rendeződtek (*Tomentella galzinii*, *Tomentella stuposa* és *Tomentella cf. sublilacina*) (2. ábra). A *Tomentella galzinii* és *Tomentella cf. sublilacina* fajok alföldi mintái mind tölgyről származtak, a *Tomentella stuposa* esetén pedig a klád elkülönülő csoportjaiba rendeződtek az alföldi nyárról és a bükkösből származó minták, így ennél a fajkomplexnél nem zárhatjuk ki, hogy ezek valójában nem is konspecifikusak. Hat ektomikorrhiza-minta, melyek közül kettőt az elemzésekkel nem tudtunk fajszerint azonosítani, eddig még nem jellemzett, új *Tomentella* ECM-morfotípust képviselt. Sikerült ITS-szekvenciákat kinyernünk egy mintában nagy mennyiségben jelenlévő, anatómiája alapján tomentelloid faj által képzett rhizomorfából is, és így elemzéseinkkel igazolni tudtuk a mintavételi területről a *Tomentella punicea* faj jelenlétét. A filogenetikai elemzéseinkkel négy olyan ECM-képző gombapartnert is sikerült azonosítani, melyek korábbi, részletes anatómiai jellemzése során nem azonosított *Tomentella* fajok ektomikorrhizájaként kerültek publikálásra: alföldi erdőkből (JAKUCS és mtsai. 2005b) csertölgyről a *Tomentella nitellina* és fehér nyárról a *Tomentella fuscocinerea* ektomikorrhizáját sikerült ezzel az elemzésünkkel utólag meghatározni, míg a *Helianthemum canum* részletesen jellemzett ektomikorrhizájáról (ERŐS-HONTI és mtsai. 2008) igazoltuk, hogy azt a *Tomentella atramentaria* (= *Thelephora atra*) faj képezi (2. ábra). Magyarország területéről a bükkről származó tomentelloid ECM-minták származási helyein is intenzív termőtest alapú vizsgálatok folytak (VASAS és LOCSMÁNDI 1995; SILLER 2004; SILLER és mtsai 2013), ennek ellenére csupán egy *Tomentella* sp. gyűjtése került rögzítésre a Bükk Őserdőből (SILLER 2004). Ezen kívül még egy *Tomentella ferruginea* faj termőtestéről van adat a Bakonyból (SZEMERE 1968), mely ektomikorrhizái alföldi erdőkből kerültek kimutatásra. Ezek alapján, ECM-szinten, Magyarországra 14 új, azonosított *Tomentella* fajt lehetett kimutatni, ebből hetet (és további három fajszerint nem azonosított taxont) olyan területekről, ahol termőtestek intenzív vizsgálata folyt.

A legtöbb kládban különböző földrajzi területekről, kontinensekről és több gazdanövényről, mikorrhizatípusból származó szekvenciák is előfordultak, és bár az alföldi és a bükkösökből származó minták mutattak egyfajta elkülönülést (lásd feljebb), az elemzésbe vont többi adat alapján nem lehet kijelenteni, hogy lenne szárazabb területek erdeire jellemző tomentelloid leszármazási vonal (2. ábra).

Az általunk vizsgált *Tomentella* szekvenciák által képzett 18 klád nem csupán molekuláris filogenetikai jellemzőiben, de az egyes csoportok ECM-anatómiájában is nagyon diverznek

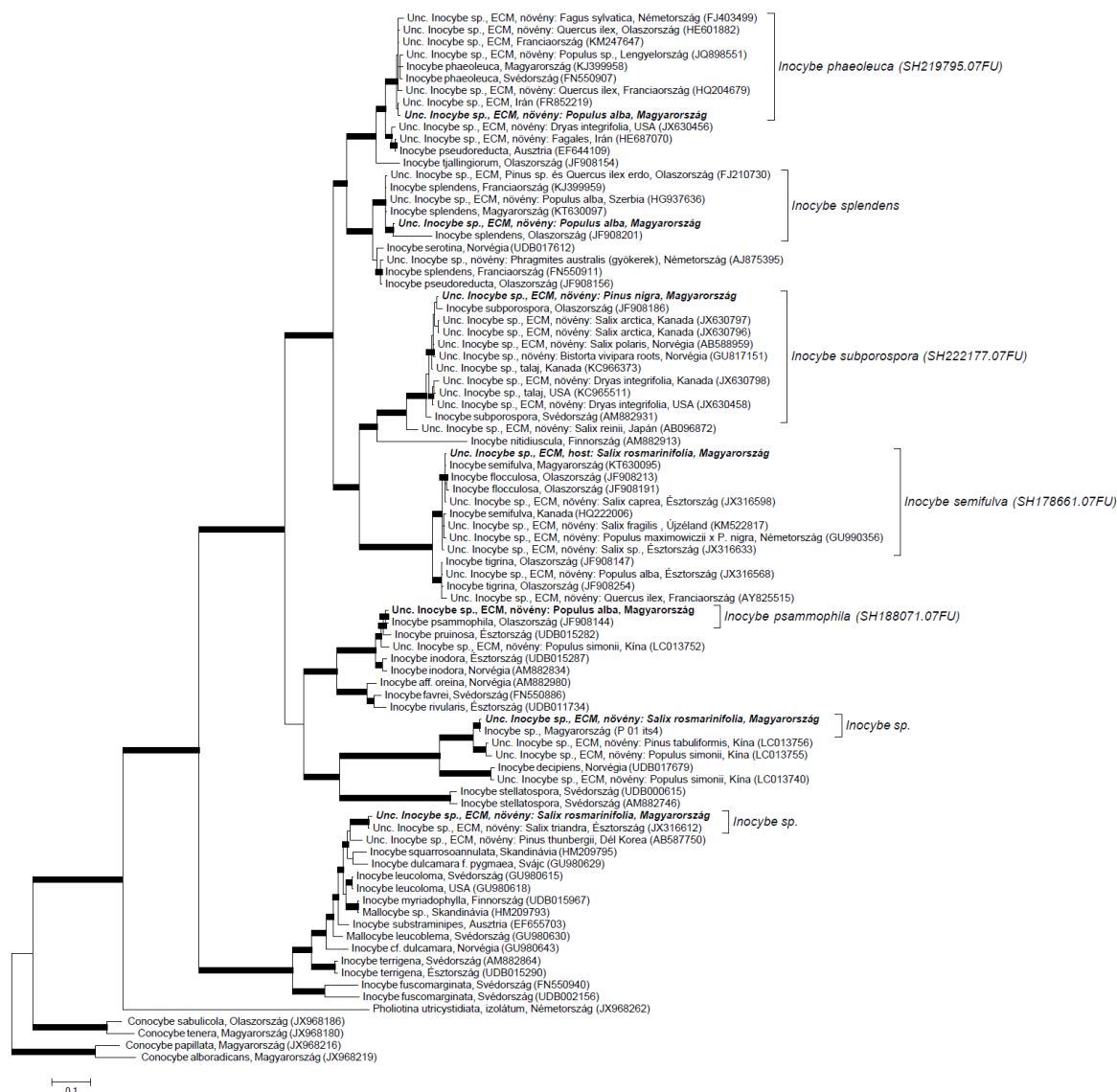
mutatkozott. Molekuláris filogenetikai eredményeink tovább erősítették, hogy az egyes tomentelloid leszármazási vonalak, fajok ECM-anatómia alapján elkülöníthetők, és a nagyfokú diverzitás ellenére, az úgynevezett tomentelloid ECM-típus (JAKUCS és ERŐS-HONTI 2008) jól azonosítható morfortipizálás során.

Annak ellenére, hogy a molekuláris filogenetikai elemzéseinkben az ITS-szekvenciákat kiegészítettük az illesztésekből kinyert indel-motívumok adataival (NAGY és mtsai. 2012, lásd később) a markánsan elkülönülő kládok, fajok egymáshoz viszonyított filogenetikai helyzetét, hasonlóan korábbi elemzések eredményeihez (KÖLJALG és mtsai. 2000, 2001; JAKUCS és mtsai. 2005a, b; BINDER és mtsai. 2013), nem sikerült megbízhatóan feltárni. A csoportra kisebb léptékű taxonómiai problémák is bizonyosan jellemzők, amit jól mutat az elemzésekkel kapott egy-egy klád nagyfokú genetikai heterogenitása, vagy az ezekbe rendeződő különböző UNITE Species Hypotheses egységei is. A nemzetség többlókuszos molekuláris filogenetikai vizsgálatokkal kiegészített, típusanyagokra is támaszkodó taxonómiai revíziója elengedhetetlen lenne a csoporton belüli leszármazási vonalak tisztázásához.

5.1.3 Az *Inocybe* nemzetség ektomikorrhizái

A susulykák nemzetsége (*Inocybe*) szintén a bazídiumos gombák közé tartozó, gyakori és széles körben elterjedt ECM-képző csoport (MATHENY és mtsai. 2009). Nagy fajgazdagság jellemzi, a leírt fajokra sokszor nehezen alkalmazható következetes morfológiai fajkonceptió. A kiskunsági területekről számos *Inocybe* faj jelenlétét kimutatták termőtesteken folytatott vizsgálatok során (BABOS 1999; NAGY 2004; NAGY és GORLICZAI 2007). A széleskörű elterjedtség és gyakoriság ellenére, az *Inocybe* fajok által képzett ektomikorrhizákról relatíve kevés ismerettel rendelkezünk, korábban tíz *Inocybe* ECM részletes anatómiai jellemzése készült el (lásd SERESS és mtsai. 2016 áttekintését). A fülöpházi homokpusztagyep ECM-képző gombaközösségeinek vizsgálata során az *Inocybe* fajok ektomikorrhizáit a molekuláris taxonómia vagy általános morfo-anatómiai jellemzők, illetve a mintavétel (*Inocybe* termőtest alól vett minták) alapján válogattuk ki. A molekuláris vizsgálatokhoz az nrDNA ITS-szakasz szekvenciáit használtuk. A végső molekuláris filogenetikai elemzésbe a mintákat adó taxonokkal közelrokon olyan fajok bevonására is törekedtünk, melyekről korábbi ECM-anatómiai adatok is rendelkezésre álltak. A 83 *Inocybe* ITS-szekvencia nyolc nagyobb kládba rendeződött az elemzések során, melyeken belül további kisebb, erősen támogatott kládok is elkülönültek (**3. ábra**).

Két ECM-mintánk esetében nem sikerült egyértelműen azonosítani a fajokat, míg öt esetben igen: ezeket az *Inocybe phaeoleuca*, az *Inocybe subporospora*, az *Inocybe semifulva* (habár



3. ábra: Az *Inocybe* nrDNS ITS-szekvenciák Bayes-alapú analízis eredményeiből számított 50%-os többségi konszenzusos filogram. A *Conocybe* fajok szekvenciái, mint külcsoporthoz tartoznak. Az adatsorban, a fülöpházi *Inocybe* ECM nrDNS ITS-adatok szerepelnek vastagon. Egy klád akkor kapott fajnevet, ha szerepel benne azonosított, herbáriumi példánnyal is rendelkező termőtestből származó ITS szekvencia. A kládok mellett a UNITE adatbázis Species Hypotheses (SH) azonosítóit is feltüntettük. Az egyes szekvenciáknál szereplő előfordulási illetve gazdára vonatkozó adatok a GenBank-ból vagy az eredeti publikációkból származnak. Vastag ág: legalább 70%-os ML-bootstrap (1000 ismétlés) és 0,9 posterior valószínűség támogatja. Mércé: 0,1 várható változás/hely/ág. (SERESS és mtsai. 2016, 1. ábra, módosításokkal)

más faj nevével deponált szekvencia is a kládba került, ezt a fajt típusanyaga reprezentálta), az *Inocybe psammophila* és az *Inocybe splendens* fajok képezték (**3. ábra**). Az egyes kládokban előforduló különböző fajnevek, és SH-megfelelések jól illusztrálják a nemzetségre jellemző taxonómiai problémákat. A legtöbb csoportban különböző földrajzi területekről, kontinensekről és széles gazdanövénykörről származó *Inocybe* szekvenciák is előfordultak (**3. ábra**). Habár az ITS-elemzések a vizsgált nemzetség – tomentelloid gombákkal összevethető – molekuláris heterogenitását bizonyították, a morfortípusok jóval egysége-

sebb képet mutattak, különbségeik jóval kisebbek voltak. A területről korábban részletes anatómiai jellemzése készült a *Fumana procumbens*, és a leírás szerint az *Inocybe heimii* fajok által képzett ektomikorrhizának (MAGYAR és mtsai. 1999). Sajnos nem álltak rendelkezésre molekuláris vizsgálatokat lehetővé tevő termőtest és/vagy ECM-minták, a közölt *EcoRI* RFLP-azonosítás adatai viszont nem mutatnak markáns eltérést a morfológiailag is nagyon hasonló *Inocybe phaeoleuca* és *Inocybe psammophila* ektomikorrhizáiból nyert ITS-szekvenciák számított *EcoRI* emésztési képétől.

Termőtestvizsgálatok alapján Magyarországról körülbelül 90 *Inocybe* fajról vannak adatok, ezek közül 15 fajnak van adata a fülöpházi területekről (BABOS 1989, 1999; NAGY 2004; NAGY és GORLICZAI 2007; SILLER és mtsai. 2013). Az ECM-minták vizsgálataival azonosított fajok közül az *Inocybe phaeoleuca* és az *Inocybe splendens* ismert volt, míg három fajnak (*Inocybe subporospora*, *Inocybe semifulva*, *Inocybe psammophila*) ezek voltak az első hazai gyűjtési adatai.

Az egyes ECM-morfotípusok ITS-szekvenciáit összevetve a fülöpházi ECM-képző gombaközösség vizsgálataiból származó adatokkal, egyfajta ECM-gyakoriságot és gazdanövényeket is rendelni tudtunk az adott fajokhoz/morfotípusokhoz. Az *Inocybe phaeoleuca* három növényfajról (*Populus alba*, *Salix rosmarinifolia* és *Pinus nigra*), az *Inocybe psammophila* és a nem azonosított 6. morfotípus két-két gazdáról (*Populus alba* és *Salix rosmarinifolia*), míg egy-egy gazdáról került elő az *Inocybe semifulva* és a nem azonosított 7. morfotípus (*Salix rosmarinifolia*), az *Inocybe splendens* (*Populus alba*) és az *Inocybe subporospora* (*Pinus nigra*) által képzett ektomikorrhizák. Két *Inocybe* fajt is ki tudtunk mutatni a területen nem honos, oda az 1950-es években behurcolt *Pinus nigra* (TAMÁS 2003) gyökereiről. Nagy valószínűséggel ezek a gombafajok honosak voltak a területen, és képesek az inváziós jövevényfajjal új kapcsolat kialakítására („novel association” *sensu* NUÑEZ és DICKIE 2014).

5.2 Arbuszkuláris mikorrhiza, AM-képző gombák

Ahogy a bevezetőben is tárgyalásra került, az AM-képző gombák vizsgálatát több módon tehetjük meg. Egyes növényfajok gyökerének vizsgálata a kolonizációról adhat támpontot, azonban a gyökéren belüli kolonizációs jellemzők leginkább funkcionális információkat adhatnak, de nem használhatók AM-képző gombák azonosítására. Molekuláris módszerekkel vizsgálhatjuk az AM-képző gombák *in planta* diverzitását, mely esetben külön kihívást jelent az AM-képző gomba DNS-ének alacsony aránya a gyökerekből történő DNS-kivonások során, illetve a gyökereket kolonizáló egyéb gombák, melyek befolyásolhatják az alkalmazott PCR-rendszerek specificitását. A primerrendszerek kiválasztásánál külön problémát okozhat azok átfedése korábbi vizsgálatok, nemzetközi adatbázisok elérhető, nyilvános szekvenciáival. Az AM-képző gombák obligát biotróf élőlények, ráadásul propagulumaik természetes körülmények között nem tartják meg fertőzőképességüket sokáig, így a talajból kiinduló közösségvizsgálataik során, habár egyes növényekhez nem tudjuk kötni az AM-képző gombataxonokat, azt joggal feltételezhetjük, hogy az adott növénytársulás AM-partnereit térképezzük fel. Az egyre elterjedtebb DNS-alapú AM-képző gombákra irányuló közösségvizsgálatok mellett, a „klasszikus” megközelítésben az gombák ivartalan spóráinak kimosása, mikroszkópos válogatása, anatómiai feldolgozása, spóraalapú határozása alapján is képet kaphatunk egy-egy élőhely AM-képző gombaközösségéről.

5.2.1 A virginiai holdruta AM-képző gombáinak *in planta* diverzitása

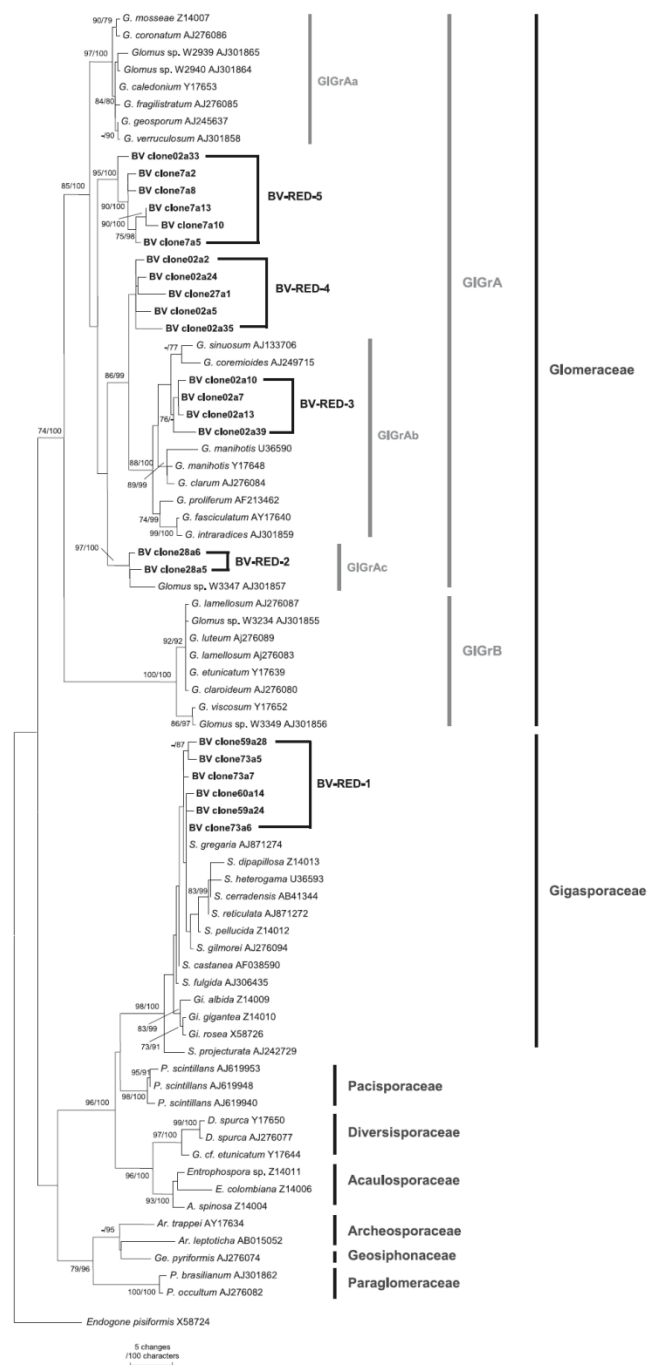
A virginiai holdruta kunfehértói erdőben található állományának területén korábban végzett mikorrhizáltsági státuszvizsgálatok alapján a társulást dominálják az AM-képző növények (KOVÁCS és BAGI 2001). A holdruta-sporofiton mikorrhizájának részletes anatómiai vizsgálatával érdekes, egyedi arbuszkulumszerveződést írtunk le (KOVÁCS és mtsai. 2003). A *Botrychium virginianum* sporofiton AM-képző gombáinak *in planta* diverzitási vizsgálataihoz több egyedről gyűjtöttünk gyökérmintákat, melyekben hasonló kolonizációs mintázatot találtunk, mint a korábbi részletes anatómiai vizsgálatok során – a kéreg 2–3 sejtsorát kolonizálták elsősorban a gombák. Azokból a néhány milli-

méteres gyökérdarabokból végeztünk teljes DNS-kivonást, melyek egyik végéről készített kézi metszetben látható volt a kolonizáció. A specifikus amplifikációhoz két primerrendszert használtunk, a REDECKER-féle (REDECKER 2000; REDECKER és mtsai. 2003) nrDNS SSU-ITS-LSU régiókra irányuló rendszert és

a WUBET-féle (WUBET és mtsai. 2006) ~1 kb hosszú nrDNS SSU szakaszra irányuló rendszert. A vizsgálatok során összesen 110 klónt szekvenáltunk, melyek ~70%-a volt megfelelő minőségű, AM-gomba szekvencia. Alacsony arányú, körülbelül 15%-nyi aspecifikus amplifikációt tapasztaltunk, ezek megoszlása viszont nem volt egyenletes: a bazális AM-gombacsoportokra tervezett primerek nagyobb arányban szaporították fel egyéb gombák DNS-szakaszait. Az amplifikációhoz

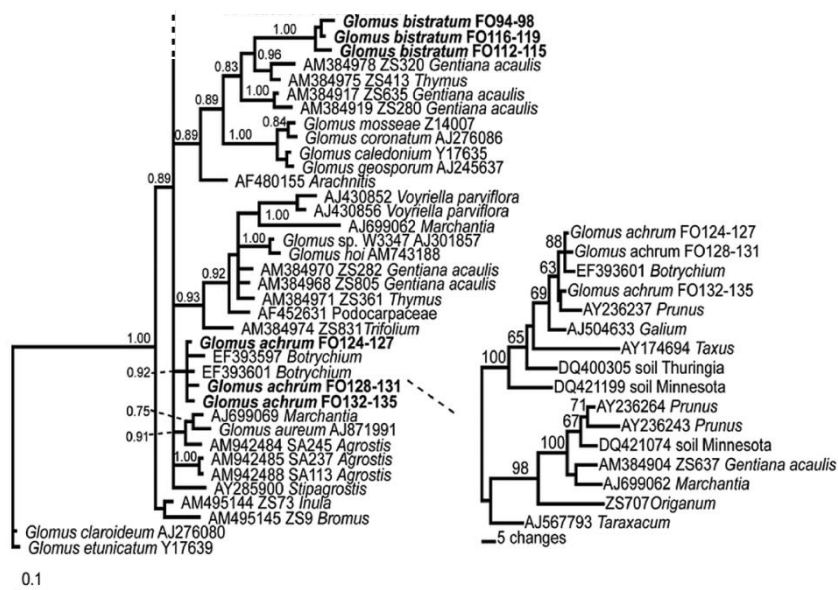
használt két primerrendszerrel kapott eredmények alapvetően nem mutattak eltérést. Mindkét esetben 5–6 AM-gomba filotípust (4. ábra) tudtunk kimutatni a sporofitonok gyökereiből, melyek döntő többsége az elemzések ide-

jén elfogadottan használt „*Glomus* A-csoportba” („*Glomus* group A” *sensu* SCHWARZOTT és mtsai. 2001) rendeződött (4. ábra).



4. ábra: A virginiai holdruta (*Botrychium virginianum*) sporofitont kolonizáló AM-gombaszekvenciák (vastagon) elrendeződése csoporton belül a részleges nrDNS SSU-szekvenciákból számított maximum-likelihood törzsfá alapján. A taxonnevek és az egyes csoportok megfelelnek az akkor érvényben lévő neveknek, és a „*Glomus* A-csoport” és alcsoportjai SCHWARZOTT és mtsai. (2001) elkülönítését követik. Az elágazásoknál feltüntetett első érték az ML-bootstrap a második a Bayes-alapú posteriorvalószínűség, %-ban, 70% alatt nem mutatva. Rövidítések: A.: *Acaulospora*, Ar.: *Archeospora*, D.: *Diversispora*, E.: *Entrophospora*, Ge.: *Geosiphon*, Gi.: *Gigaspora*, G.: *Glomus*, P.: *Pacispora*, P.: *Paraglomus*, S.: *Scutellospora*. Mércé: 0,05 várható változás/hely/ág. (KOVÁCS és mtsai. 2007, 2. ábra, módosításokkal)

Jellemző volt, hogy egy-egy DNS-kivonáshoz kiindulásként használt néhány milliméteres gyökérdarabból akár több különböző filotípus jelenlétét is ki lehetett mutatni. A filogenetikai elemzések során a filotípusok együtt rendeződtek más területek, különböző növényeiből származó, nyilvános adatbázisokban található hasonló AM-gomba szekvenciákkal (4. ábra). A RED-adatok segítségével meghatározott gombafajok jelenlétét is sikerült kimutatni – az egyik filotípus (BV-RED-1) konspecifikusnak mutatkozott a *Scutellospora gregaria* fajjal, vizsgálatunk idejében ez volt a faj első, természetes élőhelyről származó *in planta* kimutatása. Míg például a BV-RED-2 filotípus az elemzések idején legtöbbször csak *Glomus* sp. W3347 névvel hivatkozott taxonnal mutatott konspecifitást (4. ábra). Ez a csoport (akkor „*Glomus* group Ac”) gyakori, különböző élőhelyeken is megtalált taxonokat foglal magába (ÖPIK és mtsai. 2006). Több leszármazási vonal is a nagyon diverz és széles körben elterjedt, úgynevezett „grassland-group” (*sensu* ÖPIK és mtsai. 2006) csoportba rendeződött. Külön érdekesség, hogy a



5. ábra: A *Glomus achrum* ($\equiv$ *Dominikia achra*) és *Glomus bistratum* ($\equiv$ *Kamienskia bistrata*) AMF-fajok a leírásuk idején értelmezett Glomeraceae családbeli filogenetikai helyzetét bemutató, nrDNS-szekvenciák alapján, Bayes-alapú módszerekkel számított törzsfák részlete. Az elágazásoknál posterior valószínűségekkel. Amennyiben egy szekvencia *in planta* eredetű, GenBank azonosítóval kezdődik, és ezután található a gazdanövény neve. A kis törzsfák Neighbor-Joining algoritmussal, ITS-szakasz szekvenciáiból nyert törzsfák, bootstrap ismétlésekkel. (BLASZKOWSKI és mtsai. 2010, 15. ábra, módosított részlet)

származási vonalat (5. ábra). A faj spóráit azonban később, az élőhelyen gyűjtött talajmintákban nem találtuk meg.

Glomus achrum ($\equiv$ *Dominikia achra*) AM-gomba új fajként való leírása során (lásd lentebb), szintén a REDECKER-féle primerrendszerrel nyert szekvenciáinak elemzésekor igazoltuk, hogy az új faj a holdrutát kolonizáló BV-RED-4 filotípussal konspecifikus, és így azonosítottuk – utólag – ezt a le-

A virginiai holdrutát kolonizáló AM-képző gombák – az adott markerek által lehetővé tett elemzési szinten – nem voltak egyediek, nem bizonyultak specifikusnak, hiszen korábban, más területekről is kimutatták azokat és/vagy széles körben elterjedt, gyakori gombacsoportokat reprezentáltak(4–5. ábra). Ez alapján azt a megállapodást tehetjük, hogy a korábban általunk leírt egyedi, robusztus, fosszilis arbuszkulumstruktúrákra hasonlító AM-szerkezet (KOVÁCS és mtsai. 2003) alakulását, szerveződését nagy valószínűséggel az ősi növényi leágazást reprezentáló páfrány határozza meg.

Eredményeink világviszonylatban az első, páfrányokról származó, AM-képző gomba *in planta* molekuláris diverzitási adatai közé tartoznak. Ezek publikálásával szinte egy időben jelent meg két *Botrychium* fajt (*Botrychium crenulatum* és *Botrychium lanceolatum*) kolonizáló AM-képző gombák molekuláris vizsgálatának eredményei (WINTHER és FRIEDMAN 2007), mely esetben specifikus AM-képző gombacsoportokat azonosítottak a szerzők. Magyarországon ebben a vizsgálatban mi alkalmaztunk először molekuláris módszereket AM-képző gombák diverzitásának vizsgálatához, és ezek voltak az első publikált molekuláris diverzitási adatok a Kárpát-medence természetes élőhelyeiről származó AM-képző gombákra vonatkozóan.

5.2.2 Kiskunsági területek AM-képző gombáinak spóraelalapú vizsgálata

Másik hazai AM-képző gombaközösségre irányuló munkánk során három kiskunsági homokterület (bugaci ősbörökás, a fülöpházi homokpusztagyep és a tatárszentgyörgyi területek) AM-képző gombáinak spóra alapján történő vizsgálatát tűztük ki célul, és ezekhez a közönséges boróka (*Juniperus communis*) területenként 10–10 egyedének gyökerétől gyűjtött talajmintákból indultunk ki. A talajmintákat kétféle módon vizsgáltuk: közvetlenül és úgy is, hogy cserépkultúrában, ültetőközeges hígítás után lándzsás útifűvel, mint csapdanövénnel neveltük együtt és hat hónap elteltével vizsgáltuk ezekben a spórákat. A csapdanövényes vizsgálat fontos kiegészítője a közvetlen vizsgálatoknak (STUTZ és MORTON 1996), az útifű pedig egy jól használható, könnyen kolonizálódó csapdanövény, széles AM-gombaspektrummal. A két megközelítési módon vizsgált talajmintákból összesen 31 AM-gombataxon jelenlétét mutattuk ki (1. táblázat). A leggyakrabban előkerült faj a *Septoglomus constrictum* volt, mely a legtöbb esetben mind a terepi, mind a cserépkultúrákban csapdázott mintákban is kimutatható volt. Szintén a minták döntő többségében előfordultak a *Glomus microcarpum* és a *Diversispora*

arenaria spórái, az előző leginkább a terepi, még az utóbbi leginkább a csapdázott mintákból voltak kimutathatók. (**1. táblázat**).

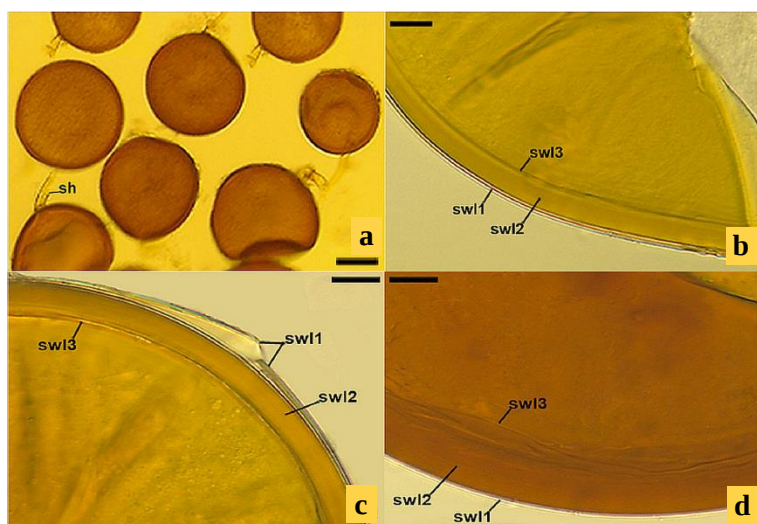
1. táblázat: Spóraalapú vizsgálatokkal kiskunsági homokterületekről kimutatott AM-képző gomba taxonok. Egyes területekről 10–10 boróka alól származtak a minták melyekből közvetlenül (“f” – field) és csapdanövényes (*Plantago lanceolata*) cserépkultúrában (“p”) való tartás után történt a spórák kimosása. (BALÁZS és mtsai. 2015, 1. táblázat, módosításokkal, a publikáláskor érvényes, használt taxonnevekkel.)

Mintavételi terület AMF taxon talajminta	Bugac										Fülöpháza										Tatárszentgyörgy									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Acaulospora</i> sp.																					p	f	p							
<i>Ambispora gerdemannii</i>				p	f	fp															p	fp				p				
<i>Archaeospora trappei</i>											p																			
<i>Cetranspora pellucida</i>																														
<i>Claroideoglossum claroideum</i>		f																												
<i>Claroideoglossum drummondii</i>		p																												
<i>Claroideoglossum lamellosum</i>																														
<i>Corymbiglossum corymbiforme</i>																					f									
<i>Diversispora arenaria</i>	p		p								p	p	fp	fp	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p
<i>Diversispora aurantia</i>	p																				p	p								p
<i>Diversispora eburnea</i>																														
<i>Diversispora epigaea</i>		f				f	f				f																			
<i>Diversispora gibbosa</i>																														
<i>Diversispora jakucsiae</i>																														
<i>Funneliformis caledonium</i>																														
<i>Funneliformis mosseae</i>																														
<i>Glomus aggregatum</i>		p		fp																										
<i>Glomus aureum</i>																														
<i>Glomus macrocarpum</i>		f																												
<i>Glomus microaggregatum</i>																														
<i>Glomus microcarpum</i>	fp		f																											
<i>Glomus pansihalos</i>																														
<i>Glomus</i> sp.																														
<i>Pacispora scintillans</i>																														
<i>Racocetra persica</i>	f										fp		fp	p																
<i>Rhizophagus fasciculatus</i>																														
<i>Rhizophagus intraradices</i>																														
<i>Sclerocystis sinuosa</i>																														
<i>Scutellospora dipurpurea</i>																														
<i>Scutellospora</i> sp.	p																													
<i>Septoglossum constrictum</i>	fp	f	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp	fp

Korábban TAKÁCS és BRATEK (2006) hat taxon jelenlétét közölte Magyarország három felszázaz nyílt homokgyepéről, közülük négy fajt Fülöpháza térségéből. Mind a négy faj (*Corymbiglossum corymbiforme*, *Glomus microcarpum*, *Septoglossum constrictum* és *Racocetra persica*) jelenlétét kimutattuk mi is a mintavételi területeinken. Hasonlóan TAKÁCS és BRATEK (2006) megállapításaihoz, a *Septoglossum constrictum* faj volt az egyik leggyakoribb, spóra alapján kimutatott AM-gomba. Érdekes, hogy sem korábban, sem a mi vizsgálataink során nem találtuk meg Fülöpházán a *Scutellospora dipurpurea* fajt, holott korábban előkerült Nagykáta, Domonyvölgy (TAKÁCS és BRATEK 2006) és Bugac (**1. táblázat**) területéről is. Összességében mind a hat korábban Magyarországról jelzett fajt megtaláltuk, és további 25, Magyarországra új taxon jelenlétét is kimutattuk hazai felszázaz homokterületekről.

5.2.2.1 Tudományra új AM-képző gombafaj

A spórák morfológiája alapján négy taxont nem lehetett faj szinten pontosan meghatározni, és ebből az egyik, melynek spórái két bugaci talajminta csapdanövényes cserepeiből kerültek izolálásra, már morfológiai alapon (**6. ábra**) is tudományra új fajnak ígérkezett.



6. ábra: A bugaci homokterületekről tudományra új fajként leírt *Diversispora jakucsiae* spóráinak anatómiai jellemzői. **(a)** Intakt spórák a kapcsolódó hifákkal **(b, c, d)** Az 1, 2, 3-as spórafalrétegek (sw1). Fedőanyagok: a: tejsav, b: PVLG, c–d: PVLG+Melzer-reagens. Mércék: a: 50 μ m, b–d: 10 μ m. (BALÁZS és mtsai. 2015, 2–5 ábra, módosításokkal)

A molekuláris filogenetikai vizsgálatokhoz a LEE-féle nrDNS SSU-szakaszra irányuló primerek (LEE és mtsai. 2008) és a KRÜGER-féle SSU-ITS-LSU primerrendszer (KRÜGER és mtsai. 2009) alkalmazásával nyert szekvenciákat használtuk fel. A vizsgálatok első szakaszában is feltételeztük, hogy a *Diversispora* nemzetség új tagját sikerülhetett izolálni,

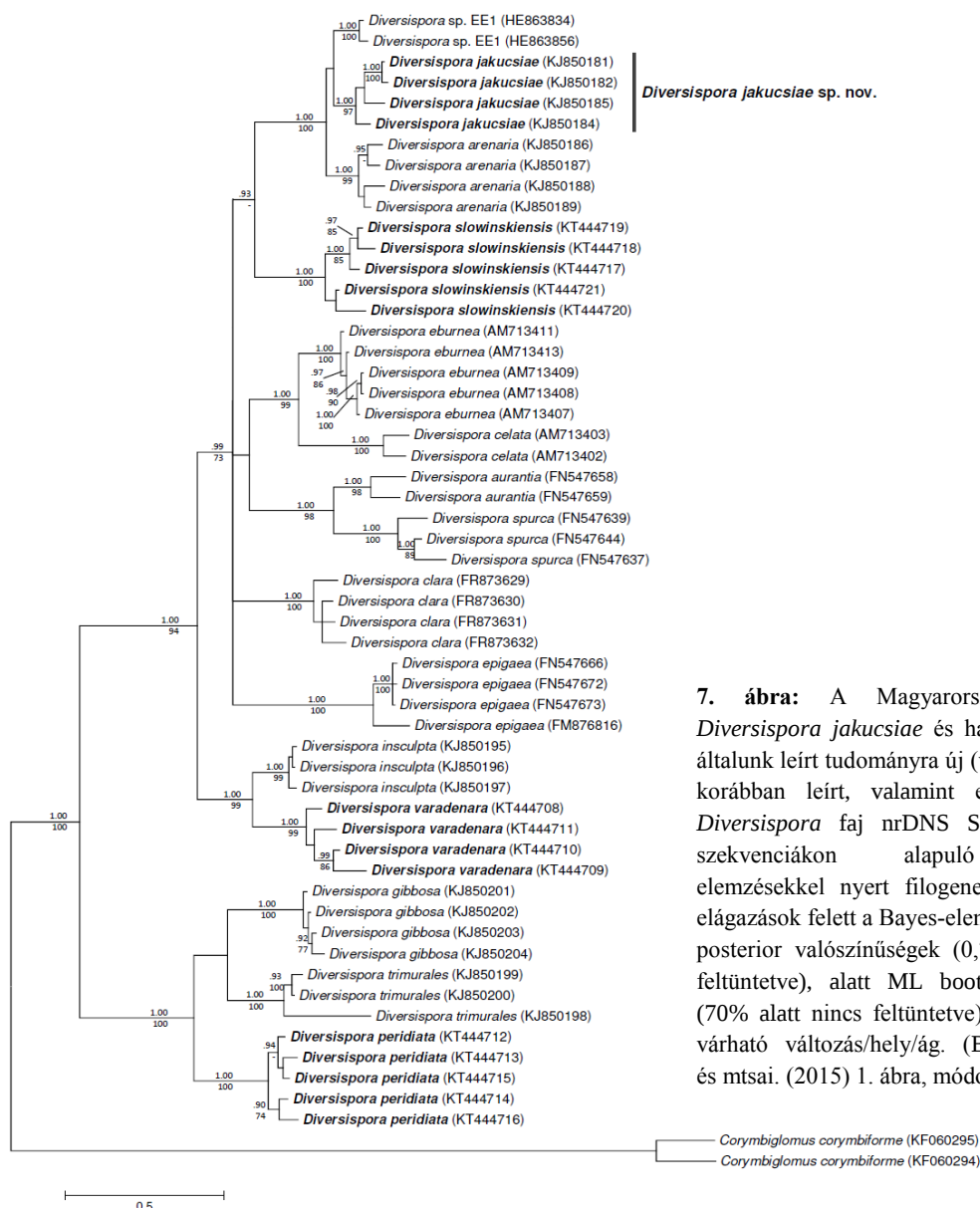
ezért további három, ebbe a nemzetségbe tartozó fajból is nyertünk a KRÜGER-féle primerekkel szekvenciákat, hogy minél teljesebbé tehesük az elemzésünket. A molekuláris filogenetikai elemzések eredményei egyértelműen igazolták, hogy az izolátumunk egy új fajt képvisel, testvércsoporti helyzetben egy AM-gomba inokulumból származó, tisztázatlan eredetű spórákból (*Diversispora* strain EE1 *sensu* THIÉRY és mtsai. 2012) nyert szekvenciákkal (**7. ábra**). Eredményeink azt is megerősítették, hogy az általunk is vizsgált három másik faj (*Diversispora arenaria*, *Diversispora gibbosa* és *Diversispora insculpta*) korábbi, nemzetségszintű átsorolása (OEHL és mtsai. 2011b) helyes döntés volt.

A Bugacról izolált tudományra új AM-képző gombafajt dr. Jakucs Erzsébetnek ajánlva írtuk le. A név leírása és diagnózisa az eredeti munkánkban (BALÁZS és mtsai. 2015) az alábbi módon szerepelt:

Taxonómia¹

Diversispora jakucsiae Błaszcz., Balázs & Kovács, sp. nov. Figs. yyy²
 MycoBank MB 808855

Diagnosis: Differs from *Diversispora arenaria* in the spore wall structure, the phenotypic characters of spore wall layers, and its phylogenetic position.



7. ábra: A Magyarországról leírt *Diversispora jakucsiae* és három további általunk leírt tudományra új (vastagon), 11 korábban leírt, valamint egy leíratlan *Diversispora* faj nrDNS SSU-ITS-LSU szekvenciákon alapuló Bayes-elemzésekkel nyert filogenetikai fa. Az elágazások felett a Bayes-elemzésből nyert posterior valószínűségek (0,7 alatt nincs feltüntetve), alatt ML bootstrap %-ban (70% alatt nincs feltüntetve). Mércse: 0,5 várható változás/hely/ág. (BLASZKOWSKI és mtsai. (2015) 1. ábra, módosításokkal).

Az új *Diversispora* faj a MaarjAM adatbázis (ÖPIK és mtsai. 2010, 2014) „VTX00054” nevű „virtuális taxonjába” tartozott minden kétséget kizáróan, mely csoport már az

¹ A taxonómia bemutatásakor az eredeti formájú *név leírása* és az eredeti diagnózis került a dolgozatba, abban a formában és nyelven, ahogy az közlésre került, mivel abból valójában csak ez az egy létezett. Az eredeti publikáció pontos irodalma lábjegyzetben kerül feltüntetésre. A folyóiratok követelményei formázásban eltérhetnek, ezt egységesítettem, és az eredeti leíráshoz tartozó ábrákhivatkozásokat töröltem. Az AM-képző gombok egyéb taxonjainál csak a neveket közlöm. Az eredeti publikáció pontos irodalma lábjegyzetben kerül feltüntetésre.

² Balázs, T. K. *, Błaszczowski, J. *, Chwat, G., Góralska, A., Gáspár, B. K., Lukács, A. F., Kovács, G. M. 2015. Spore-based study of arbuscular mycorrhizal fungi of semiarid sandy areas in Hungary, with *Diversispora jakucsiae* sp. nov. *Mycological Progress* **14**: 1021.

elemzéseinkkor számos *Diversispora* fajt és sokféle élőhelyről származó szekvenciákat tartalmazott. Ez alapján azonban nem szabad messzemenő következtetéseket levonni, mert az adatbázis „virtuális taxonjainak” alapját adó elemzések az SSU-régió alapulnak (lásd bevezetés és ÖPIK és mtsai. 2010, 2014), ez a szakasz azonban különösen a *Diversispora* nemzetségben nem alkalmas a fajsztintű elkülönítésre. Ezen túlmenően, az EE1 taxont leszámítva, az elemzések az új faj szekvenciái nem mutattak hasonlóságot környezeti mintákból származó AM-gombaszekvenciákkal.

5.2.3 AM-képző gombák molekuláris taxonómiája

Ahogy az a bevezetőben illusztrálásra került, az AM-gombák taxonómiáját számos tényező nehezíti. Azt általában jó eséllyel el tudja dönteni egy szakértő, ha egy izolátum, feltehetően egy új taxon képviselője, ám ezek megbízható rendszertani besorolása szinte lehetetlen molekuláris filogenetikai módszerek alkalmazása nélkül.

A homokterületek, homokdűnék speciális élőhelyek, a talaj vízmegtartó képessége nagyon rossz, tápanyagban is szegények (ezért például nagyobb valószínűséggel sporulálhatnak az itt előforduló AM-gombák), emellett kevésbé kutatottak is. Elsősorban az ilyen élőhelyek AM-képző gombáira, és a rokonfajokra fókuszáló taxonómiai kutatásokba a molekuláris filogenetikai vizsgálatok és elemzések elvégzésével kapcsolódunk be, és további 12 tudományra új faj és két új nemzetség (és ezekben öt új kombináció) leírásában vettünk részt. Ezen taxonokra leginkább a morfológiai módszerekkel nagyon nehezen jellemezhető „glomoid”, hialin spórák a jellemzők. A molekuláris filogenetikai vizsgálatok során alkalmazott módszerek sokat változtak, és például a KRÜGER-féle primerrendszerek elterjedése és az AM-képző gombák esetében ezek DNS-vonalkódként való meghonosodása miatt akár saját, korábban már vizsgált taxonjainkhoz is „visszanyúltunk” (lásd alább), újabb szakaszt, szakaszokat szekvenáltunk/elemeztünk. Szintén komoly változást hozott az AM-gombák taxonómiájában a bevezetésben már említett SCHÜSSLER és WALKER (2010) nagyléptékű revíziója, mellyel végre feloldottak régóta ismert, de különböző okokból meg nem oldott problémákat (például polifiletikus nemzetségek felbontása).

Az alábbiakban időrendben és a neveket közlő, hatékony és érvényes („effective” és „valid”) publikációk szerint haladva kerülnek felsorolásra azok a taxonok, melyek leírásában részt vettünk (a korábban részletesen bemutatott *Diversispora jakucsiae* itt nem kerül felsorolásra). Minden esetben, ha változott a nemzetségnév, az a név (bazioním) kerül megadásra, mely formában *először leírtuk a taxont*. Amennyiben az új nemzetséget is mi írtuk

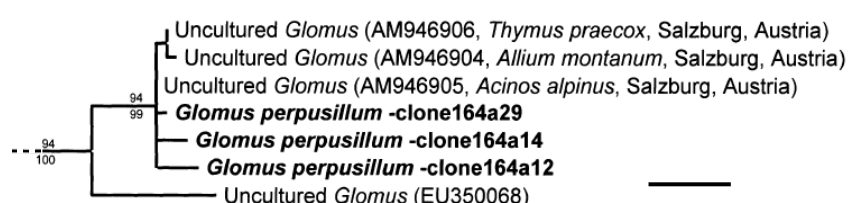
le, úgy a kombináció neve az eredeti fajnév alatt van, a kronológiai sorrend miatt előbb, mint a nemzetség leírása. Amennyiben más írta le az új kombinációt, úgy azok zárójelben szerepelnek. Az egyes taxonokkal kapcsolatos rövid eredmények bemutatásánál leginkább a molekuláris taxonómiai, filogenetikai elemzések kerülnek bemutatásra.

Tudományra új AM-képző gombafajok, nemzetségek, kombinációk

***Glomus perpusillum* Błaszk. & Kovács, sp. nov.¹**

***Kamienskia perpusilla* (Błaszk. & Kovács) Błaszk., Chwat & Kovács, comb. nov.²**

A faj eredeti molekuláris taxonómiai jellemzéséhez a rövid AM1-NS31 szakaszt használtuk, és mivel az egykori „*Glomus* A-csoportba” (*sensu* SCHWARZOTT és mtsai. 2001) rendeződtek a szekvenciáink, de nem kapcsolódtak az akkor már ismert három nagy csoport (a, b és c) egyikéhez és korábban leírt fajokhoz sem, ez a kis szakasz is nagy



8. ábra: A *Glomus perpusillum* (= *Kamienskia perpusilla*) leírásakor bemutatott maximum likelihood fa részlete, a tudományra új faj és *in planta* diverzitási vizsgálatokból származó szekvenciákkal. Az elágazások fölött ML-bootstrap, alatta Bayes-alapú elemzéskor számított posterior valószínűség. Mércse: 0,02 várható változás/hely/ág. (BŁASZKOWSKI és mtsai. 2009, 17. ábra, módosított részlet)

megbízhatósággal mutatta, hogy valóban új taxonról van szó. A molekuláris elemzésekben ausztriai, alpesi élőhelyekről származó AM-gomba

szekvenciákkal csoportosultak a szekvenciáink (**8. ábra**), miközben a leírt új faj izolálási helye a Földközi-tenger olaszországi partszakaszának egy dűnés élőhelye volt. (Az új nemzetségről lentebb lesz szó.)

***Glomus achrum* Błaszk., D. Redecker, Koegel, Schützek, Oehl & Kovács sp. nov.³**

***Dominikia achra* (Błaszk., D. Redecker, Koegel, Schützek, Oehl & Kovács) Błaszk., Chwat & Kovács comb. nov.²**

***Glomus bistratum* Błaszk., D. Redecker, Koegel, Symanczik, Oehl & Kovács sp. nov.³**

***Kamienskia bistrata* (Błaszk., D. Redecker, Koegel, Symanczik, Oehl & Kovács) Błaszk., Chwat & Kovács comb. nov.²**

Leírásukkor mindkét faj molekuláris taxonómiai vizsgálataihoz a REDECKER-féle rendszer egyik primerpárját alkalmaztuk, a szekvenciákból az SSU 3' végi szakasz szekven-

¹ Błaszkowski, J., Kovács, G. M., Balázs, T. 2009. *Glomus perpusillum*, a new arbuscular mycorrhizal fungus. *Mycologia* **101**: 247–255

² Błaszkowski, J., Chwat, G., Górala, A., Ryszka, P., Kovács, G. M. 2015. Two new genera, *Dominikia* and *Kamienskia*, and *D. disticha* sp. nov. in Glomeromycota. *Nova Hedwigia* **100**: 225–238.

³ Błaszkowski, J., Ryszka, P., Koegel, S., Wiemken, A., Oehl, F., Kovács, G. M., Redecker, D. 2009. *Glomus achrum* and *G. bistratum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Botany* **87**: 260–271.

ciáit a nagyobb léptékű filogenetikai elemzésre, míg az ITS régiót is tartalmazó szakaszt korábbi környezeti vizsgálatok eredményeivel való összevetésre tudtuk használni (5. ábra). Minkét új faj hasonló módon csoportosult az összes elemzésben, egyértelműen az akkor használatban lévő „*Glomus* A-csoportba” (*sensu* SCHWARZOTT és mtsai. 2001) rendeződtek. A lengyelországi Visztula-part tengerhez közeli dűnéiről származó *Glomus achrum* ($\equiv$ *Dominikia achra*) faj szekvenciáival több környezeti mintából származó szekvencia is csoportosult, például, ahogy korábban már említésre került, a virginiai holdruta sporofitonját kolonizáló egyik AMF-filotípus (BV-RED-4 *sensu* KOVÁCS és mtsai. 2007), hasonlóan Etiópából származó *Prunus* (WUBET és mtsai. 2004) és Németországból származó *Galium* fajok (RENKER és mtsai. 2003) AM-gomba vizsgálataiból származó szekvenciákhoz (5. ábra). Ezzel ellentétben a Földközi-tenger görög szakaszának dűnéiről származó *Glomus bistratum* ($\equiv$ *Kamienskia bistrata*) faj teljesen elkülönült minden, az elemzésekkor ismert AM-gombafajtól és adatbázisokban elérhető környezeti mintákból származó szekvenciától. (Az új nemzetségekről lentebb lesz szó.)

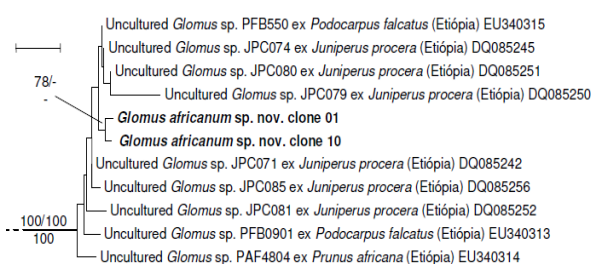
***Glomus africanum* Blaszk. & Kovács, sp. nov.¹**

(*Funneliformis africanum* (Blaszk. & Kovács) C. Walker & A. Schüßler, comb. nov.)

(*Septoglomus africanum* (Blaszk. & Kovács) Sieverd., G.A. Silva & Oehl, comb. nov.)

***Glomus iranikum* Blaszk., Kovács & Balázs, sp. nov.¹**

***Dominikia iranica* (Blaszk., Kovács & Balázs) Blaszk., Chwat & Kovács, comb. nov.²**



9. ábra: A *Glomus africanum* ($\equiv$ *Septoglomus africanum*) leírásakor bemutatott törzsfá részlete, a tudományra új faj és in planta diverzitási vizsgálatokból származó szekvenciákkal. Az elágazások fölött NJ/ML bootstrap, alatt a Bayes-alapú elemzéskor számított érték (70/70 ill. 90% alatt nincs feltüntetve) (BLASZKOWSKI és mtsai. 2010, 13. ábra, módosított részlet).

Leírásukkor mindkét faj molekuláris taxonómiai vizsgálataihoz a WUBET-féle primerrendszer első primerpárját kombináltuk a LEE-féle primerpárokkal, és az ezekkel nyert hosszabb SSU-szakaszt használtuk a filogenetikai vizsgálatokban. A filogenetikai elemzések alapján mindkét faj egyértelműen az egykori „*Glomus* A-

csoportba” rendeződött, és egyikük sem csoportosult korábban leírt AM-gomba fajokkal. A különböző afrikai (Egyiptom, Dél-Afrika) és európai (Bulgária, Lengyelország)

¹ Blaszkowski, J., Kovács, G. M., Balázs, K. T., Orłowska, E., Sadravi, M., Wubet, T., Buscot, F. 2010. *Glomus africanum* and *G. iranikum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycologia* **102**: 1450–1462.

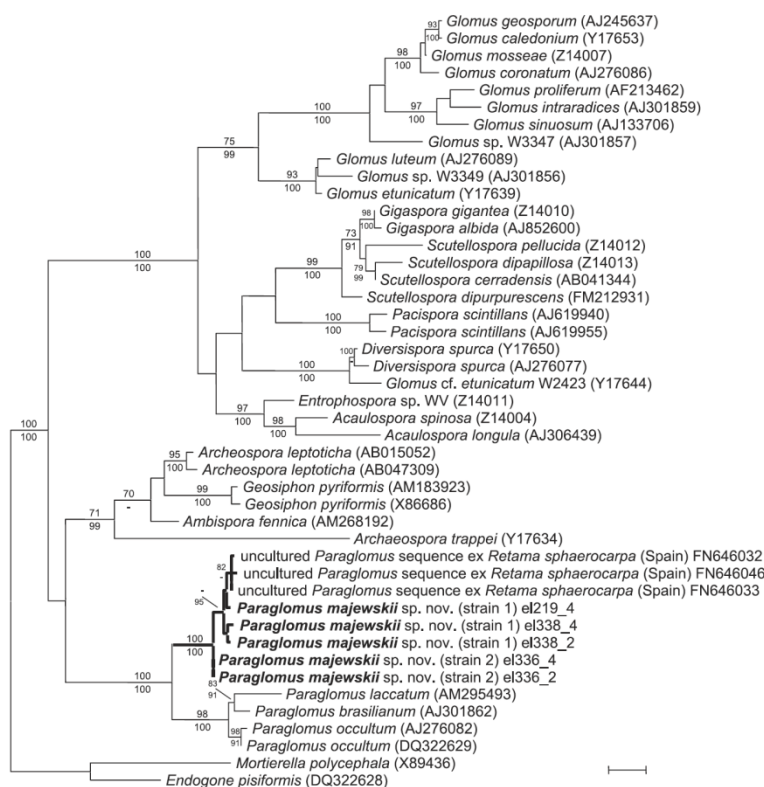
² Blaszkowski, J., Chwat, G., Górska, A., Ryska, P., Kovács, G. M. 2015. Two new genera, *Dominikia* and *Kamienskia*, and *D. disticha* sp. nov. in Glomeromycota. *Nova Hedwigia* **100**: 225–238.

tengerparti homokdűnékből származó *Glomus africanum* ($\equiv$ *Septoglomus africanum*) nagy hasonlóságot mutatott, és erősen támogatott kládot alkotott etiópiai területekről, különböző fafélékről származó környezeti AM-gombaszekvenciákkal (WUBET és mtsai. 2006, 2009). Az iráni talajmintákból csapdázott *Glomus iranicum* ($\equiv$ *Dominikia iranica*) faj az elemzések során nem mutatott konszpecifitás szintű hasonlóságot korábban publikált adatokkal. (Az általunk leírt új nemzetségről lentebb lesz szó.)

***Paraglomus majewskii* Błaszcz. & Kovács, sp. nov.¹**

A faj molekuláris taxonómiai vizsgálataihoz a részleges SSU-szekvenciákat szintén a WUBET- és LEE-féle rendszer kombinációjával, az LSU-gén szekvenciáit pedig a DA SILVA-féle nested PCR alkalmazásával nyertük. A szekvenciáink testvércsoportját képezték, de határozottan elkülönültek az ismert *Paraglomus* fajoktól (10. ábra). A molekuláris eredmények és a morfológiai vizsgálatok, illetve a *Paraglomus* nemzetség eredeti koncepciója (MORTON és REDECKER 2001) és diagnózisa is indokolhatta volna egy

új nemzetség elkülönítését, emellett azonban akkor nem sikerült kellőképp meggyőzően érvelnünk. A faj kisméretű, hialin spóráit több kontinens számos mintájában sikerült kimutatni. Az SSU-szekvenciaadatok környezeti mintákból származó szekvenciákkal mutattak hasonlóságot, például Spanyolország-



10. ábra: A *Paraglomus majewskii* AM-képző gombákban belüli filogenetikai helyzetét mutató, nrDNS SSU szekvenciákból számított ML-fa. A taxonnevek megfelelnek az akkor érvényben lévő neveknek. Az elágazások fölött ML bootstrap, alatt a Bayes-alapú elemzéskor számított posterior valószínűség (%; 70, ill. 90% alatt nincs feltüntetve). Mércse: 0,02 várható változás/hely/ág. (BŁASZKOWSKI és mtsai. 2012, 15. ábra, módosításokkal).

¹ Błaszczowski, J., Kovács, G. M., Gáspár, B. K., Balázs, T. K., Buscot, F., Ryszka, P. 2012. The arbuscular mycorrhizal *Paraglomus majewskii* sp. nov. represents a distinct basal lineage in Glomeromycota. *Mycologia* **104**: 148–156.

ból több növényfajról származó AMF-szekvenciákkal csoportosultak az adataink (10. ábra), például a korábban nem azonosított „Para-1” névvel kezelt csoporttal, melyet nehézfém szennyezett élőhelyeken mutattak ki (ALGUACIL és mtsai. 2011a, b). Az SSU-szekvenciáink egy körülbelül 500 bp hosszú szakaszán erős hasonlóságot találtunk Ecuadorból származó AMF-szekvenciákkal (HAUG és mtsai. 2010). Az LSU-szekvenciák egy lengyelországi spóramintából származó szekvenciával (TURNAU és mtsai. 2001) mutattak hasonlóságot. Ezek az eredmények is megerősítették, amit a számos helyről származó, nagyszámú talajminta is mutatott, miszerint a *Paraglomus majewskii* nagy valószínűséggel egy széles körben elterjedt faj.

Septoglomus fuscum Błaszk., Chwat & Kovács, Ryszka, **sp. nov.**¹

Septoglomus furcatum Błaszk., Chwat & Kovács, Ryszka, **sp. nov.**¹

A két új faj molekuláris taxonómiai vizsgálataihoz részleges SSU-, az ITS-régió és a részleges LSU-szekvenciákat nyertünk a LEE-féle, a REDECKER-féle és a DA SILVA-féle rendszerekkel. Két korábban leírt, a nemzetséghez (át)sorolt fajból is amplifikáltunk hiányzó lókuszokat, hogy teljesebbé tehesük a filogenetikai elemzésünket. A vizsgált fajok egyértelműen a *Septoglomus* nemzetségbe rendeződtek, elkülönültek a nemzetség ismert fajaitól. A különböző elemzésekben a brazíliai száraz erdőből származó mintából izolált *Septoglomus furcatum* jellemzően önállóan ágazott le, míg a dél-afrikai tengeri homokdűnékről származó *Septoglomus fuscum* a *Septoglomus xanthium* fajjal alkotott egy kládot. A szekvenciáink feltételezhető konspecifitásra utaló hasonlóságát nem találtunk környezeti mintákból származó szekvenciákkal.

Diversispora varaderana Błaszk., Chwat, Kovács & Góralska, **sp. nov.**²

Diversispora peridiata Błaszk., Chwat, Kovács & Góralska, **sp. nov.**²

Diversispora slowinskiensis Błaszk., Chwat, Kovács & Góralska, **sp. nov.**²

A három új faj molekuláris filogenetikai vizsgálataihoz a KRÜGER-féle primerrendszer segítségével nyertünk szekvenciákat, és hogy teljesebbé tegyük az elemzést, korábban leírt *Diversispora* fajokból is nyertünk szekvenciákat ugyanezzel a PCR-rendszerrel. Mindhárom faj kétséget kizáróan a *Diversispora* nemzetségbe tartozott és egyértelműen elkülönültek a nemzetség korábban leírt fajaitól (7. ábra). Egy kubai talajmintából ke-

¹ Błaszkowski, J., Chwat, G., Kovács, G. M., Gáspár, B. K., Ryszka, P., Orłowska, E., Pagano, M. C., Araújo, F. S., Wubet, T., Buscot, F. 2013. *Septoglomus fuscum* and *S. furcatum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycologia* **105**: 670–680.

² Błaszkowski, J., Furrázola, E., Chwat, G., Góralska, A., Lukács, A. F., Kovács, G. M. 2015. Three new arbuscular mycorrhizal *Diversispora* species in Glomeromycota. *Mycological Progress* **14**: 105.

rült izolálásra a *Diversispora varaderana* faj, melynek szekvenciái hasonlóságot mutattak Csehországból, hat különböző növényből származó AMF-szekvenciákkal és az Egyesült Királyságból származó AM-gombaspórákból nyert szekvenciákkal. Ezzel szemben a lengyelországi élőhelyekről izolált *Diversispora peridiata* és *Diversispora slowinskiensis* nem mutattak jelentős hasonlóságot semmilyen környezeti mintából származó szekvenciával.

Dominikia Błaszk., Chwat & Kovács, **gen. nov.**¹

Dominikia disticha Błaszk., Chwat & Kovács, **sp. nov.**³

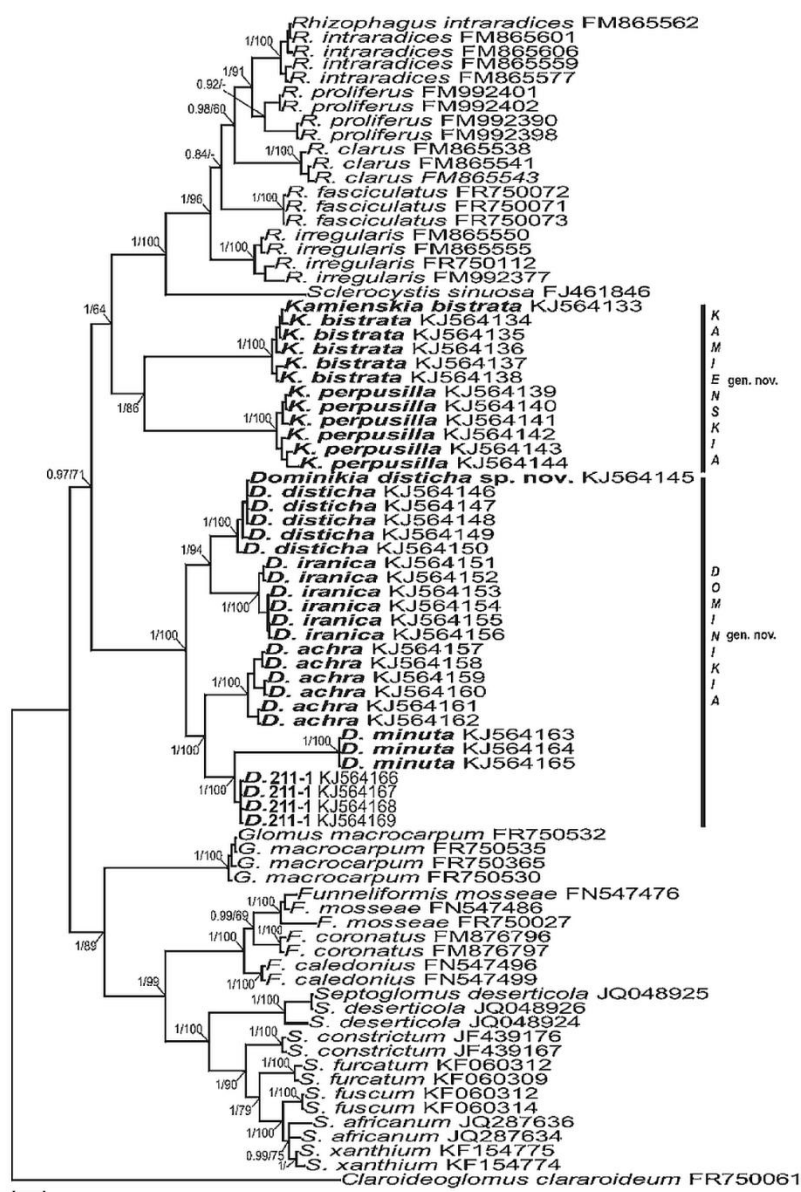
Dominikia minuta (Błaszk., Tadych & Madej) Błaszk., Chwat & Kovács, **comb. nov.**³
(további új kombinációk korábban listázva)

Kamienskia Błaszk., Chwat & Kovács, **gen. nov.**³

(új kombinációk korábban listázva)

A korábbi *Glomus* csoportot érintő nagyléptékű taxonómiai revíziók bizonytalan helyzetben, de az eredeti leírásoknak megfelelően a *Glomus* névvel hagytak glomoid spórájú taxonokat. Ezek ismételt vizsgálatához elegendő adat állt már össze, így a KRÜGER-féle primerrendszert használva öt korábban leírt és két új taxonnak ígérkező izolátum molekuláris filogenetikai vizsgálatát végeztük el (**11. ábra**). Az elemzések során kapott topológia alapján a taxonjaink két nagy, erősen támogatott kládot alkottak (**11. ábra**). Figyelembe véve a csoportok távolságait, a kialakult topológiát és a már korábban leírt nemzetségek kládjait, indokolt – és a már korábban leírt nemzetségek miatt szükséges – volt két új nemzetség (lengyel mikorrhiza-kutatók után ezek a *Kamienskia* és *Dominikia* nevet kapták) létrehozása, melyekbe az öt korábban leírt fajt soroltuk új kombinációkat hozva létre (**11. ábra**). Mindkét nemzetség diagnózisába bekerültek az elemzéshez használt illesztés egyedi, adott csoportra jellemző szekvenciamotívumai is. Az új fajként leírt dél-afrikai mintákból izolált *Dominikia disticha* szekvenciái az elemzésünkön nagyfokú hasonlóságot mutattak észak-amerikai (nem publikált) és ausztráliai (SHI és mtsai. 2012) környezeti mintákból származó szekvenciákkal.

¹ Błaszkowski, J., Chwat, G., Górska, A., Ryszka, P., Kovács, G. M. 2015. Two new genera, *Dominikia* and *Kamienskia*, and *D. disticha* sp. nov. in Glomeromycota. *Nova Hedwigia* **100**: 225–238.



11. ábra: A korábban leírt tudományra új AM-képző fajok és hasonló, kis, hialin spórás taxonok KRÜGER-féle primerrendszerrel nyert szekvenciáinak Bayes-alapú elemzéséből nyert filogramja. Ez mutatja a két tudományra új nemzetség, a *Dominikia* és a *Kamienskia*, és benne az új fajok valamint a korábban leírt, itt új kombinációként megjelenő taxonok helyzetét. Az elágazásoknál először a Bayes-alapú elemzésből számított poszterior valószínűség, majd az ML-bootsrap érték látható. Mércse: 0,1 várható változás/hely/ág. (BŁASZKOWSKI és mtsai. 2015, 1. ábra).

5.3 Sötét szeptált endofiton (DSE) gombák

A gyökérkolonizáló endofiton gombák közösségeinek vizsgálata során más módszereket is alkalmaznunk kell, mint az ECM-, vagy akár az AM-képzők esetében. Ennek egyik oka, hogy ezen gombák funkciói, ahogy arról a bevezetésben is szó volt, kevésbé ismertek, mint a mikorrhizáké, így például egyes taxonok *in planta* diverzitási vizsgálatokban történő kimutatása kevésbé informatív, illetve a gyökéren belüli struktúrák, bár jelenlétről árulkodhatnak, nem adnak olyan információt, mint például az ECM-morfotipizálások.

5.3.1 Kiskunsági homokterületek DSE-gombái

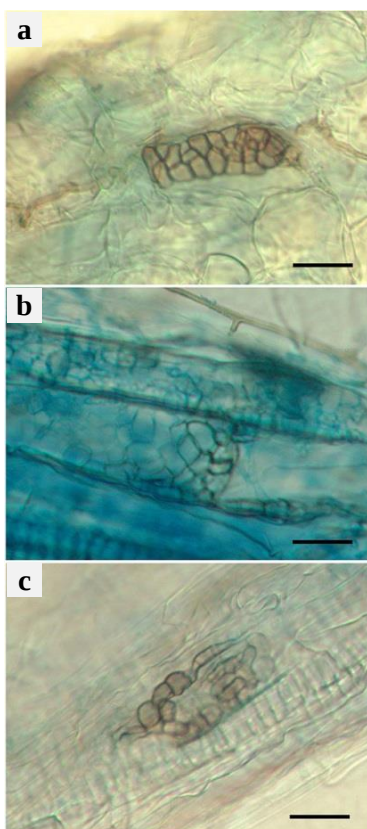
Korábbi munkáink során (KOVÁCS és BAGI 2001; KOVÁCS és SZIGETVÁRI 2002) mind a Kunfehértói holdrutás erdő, mind a fülöpházi homokpusztagyep esetében a vizsgált növényfajok többségében kimutattuk DSE gombák jelenlétét. Kiskunsági homokterületek DSE-gombaközösségeinek kompozicionális diverzitási vizsgálatán túl célunk volt, hogy azonosítsuk ezek generalistának tekinthető tagjait. Ennek érdekében a vizsgálatok során nyolc honosnak tekinthető (közönséges boróka (*Juniperus communis*), ékes napvirág (*Helianthemum ovatum*), heverő naprózsa (*Fumana procumbens*), fehér nyár (*Populus alba*), rozmaringlevelű fűz (*Salix rosmarinifolia*), közönséges csikófark (*Ephedra dystachia*), magyar csenkesz (*Festuca vaginata*), homoki árvalányhaj (*Stipa borysthena*), apró lucerna (*Medicago minima*)), valamint három inváziós (ürömlevelű parlagfű (*Ambrosia artemisiifolia*), selyemkóró (*Asclepias syriaca*) és a bálványfa (*Ailanthus altissima*)) növényfaj gyökereiből izoláltunk gombákat.

Egy sikeres inváziós növény, ha egyáltalán mutualista szimbiózist létesít, nem függhet specifikus partnertől, partnercsoporttól. Ezt megfordítva, *azt a munkahipotézist állítottuk fel, hogy azon endofitonok, melyek mind a honos, mind az adott területen inváziós növényeket kolonizálják, generalistának tekinthetők.* Ezen túl vizsgálni kívántuk a szezonaritást és területspecifitást, ezért a három mintavételi területen (bugaci, fülöpházi és tatárszentgyörgyi területek) három évszakban gyűjtöttünk borókaegyedekről gyökérmintát.

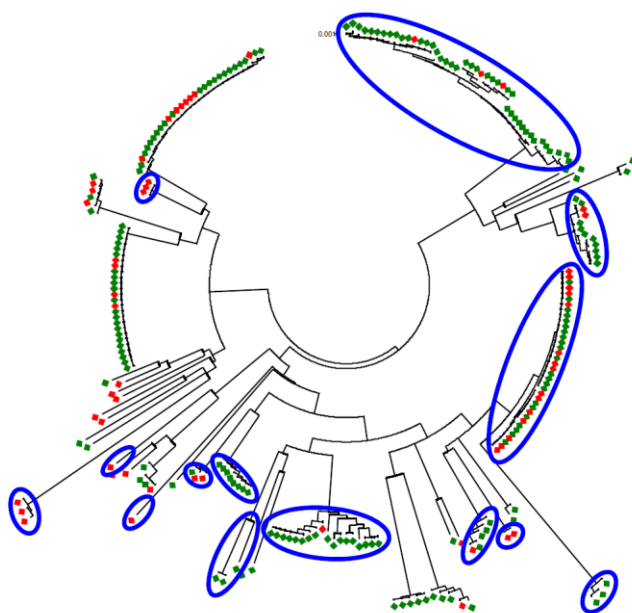
A fentiekben felsorolt 11 növényfaj gyökérmintáiból összesen 296 gombatörzset izoláltunk, ezek nrDNS ITS-szekvenciáinak elemzése alapján egy kivétellel mind tömlősgombának bizonyultak, és a filogenetikai analízisek alapján 41 csoportot tudtunk elkülöníteni (**12. ábra**). Ezen csoportokból reprezentánsokkal (összesen 59 törzs), zárt rendszerben, sterilen csíráztatott póréhagymákat inokuláltunk.

Azokat a törzseket, és ezáltal a reprezentált csoportokat tekintettük DSE-gombáknak, melyek nem okoztak látható kóros tüneteket a

növényeken, kolonizálták a gyökereket, és létrehozták a jellegzetes mikroszkleróciumokat (**13. ábra**). Ennek a tesztnek az eredményei alapján 14 csoportot



13. ábra: DSE-gombák gyökérkolonizációja a jellegzetes mikroszkleróciumokkal. (a) Selyemkóró (*Asclepias syriaca*) terepi mintájában, (b–c) póréhagyma (*Allium porrum*) gyökerében a (b) DSE-3 (*Rhizopycnis vagum*) és a (c) DSE-7 (*Darksidea alpha*) csoportok reprezentánsaival történt inokulálás után. Mérce: 20 µm. (KNAPP és mtsai. 2012, 1. ábra részlet, módosítással).



12. ábra: A kiskunsági területeken gyűjtött növények gyökereiről izolált gombatörzsek nrDNS ITS-szekvenciáiból számított illusztratív törzsfá. Az *in vitro* inokulációs teszt alapján a bekarikázott csoportokat tekintettük sötét szeptált endofiton (DSE) gombáknak. A színek a gazdanövényre utalnak: **zöld** a területeken honos növényeket, a **piros** az inváziós fajokat jelöli. (Ábra: Knapp G. Dániel)

tekintettünk DSE-gombának (**12. ábra**) – bár későbbi munkáink alapján az egyik csoport tagjairól igazolni tudtuk, hogy valójában két külön nemzetségbe tartoznak (lásd alább). A legtöbb csoportot kevés izolátum reprezentált, de több olyan csoport is volt, melyek nagyobb számban is előfordultak (**14. ábra**). Ezek közül a nagyobb DSE-csoportok mind honos, mind pedig inváziós fajokról is

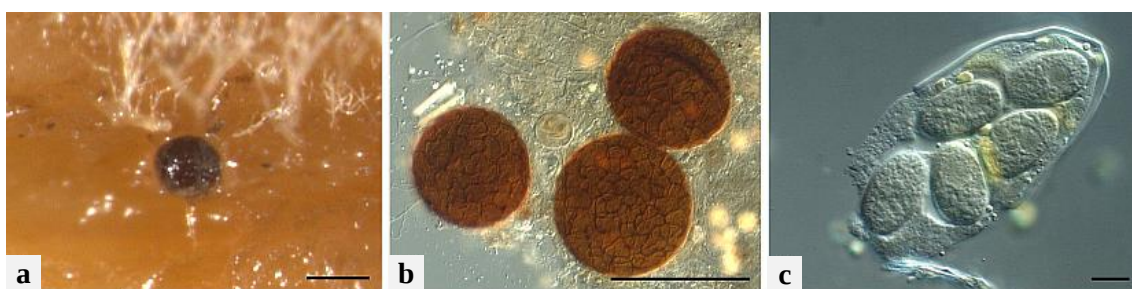
A 14 DSE-csoport közül a vizsgálatunkkor öt olyan volt, melyet a szekvenciáik (nrDNS ITS és LSU) alapján csak rend szinten tudtunk azonosítani, három ezek közül a Pleosporales, egy-egy pedig a Helotiales és Eurotiales csoportba tartoztak. A legalább nemzetség szinten azonosított DSE-csoportok (**2. táblázat**) között számos jól ismert gyökérendofiton taxon fordult elő, mint például a *Rhizopycnis vagum*, *Periconia macrospinos*a, *Curvularia* sp., *Microdochium bolley* vagy éppen a *Fusarium* nemzetség endofiton leszármazási vonalainak képviselői (**2. táblázat**). A *Curvularia* nemzetség a bevezetőben is említett, a hőforrások melletti szimbiotikus élőhely-adaptáció miatt (REDMAN és mtsai. 2002) is ismert.

Az általunk azonosított DSE-közösség, különösen ennek általánosan előforduló („core”) tagjai megegyeznek más földrajzi területek, kontinensek hasonló, száraz, félszáraz füves élőhelyeiről származó gyökérendofiton közösségek „core” tagjaival. A legtöbb hasonló vizsgálat észak-amerikai prérikről, füves területekről származik (pl. MANDYAM és JUMPPONEN 2005; PORRAS-ALFARO és mtsai. 2008; KHIDIR és mtsai. 2010; MANDYAM és mtsai. 2010), ahol a fent felsorolt kiskunsági területek fűféléinek gyökeréből izolált gyakori gombák, mint a *Rhizopycnis vagum*, *Periconia macrospinos*a, vagy épp a *Microdochium bolley* szintén gyakori gyökérkolonizálók. Az első vizsgálatainkkor csupán rend szintjén azonosított „DSE-7-es” csoport szintén egyértelműen ugyanannak a leszármazási vonalnak a képviselője, melyet észak-amerikai vizsgálatok nagyon gyakori, sokszor domináns endofitonjaként azonosítottak, „Pleosporales B”-nek nevezve azt. Eredményeik alapján KHIDIR és mtsai. (2010) felvetették azt a hipotézist, hogy az észak-amerikai (fél)száraz füves területek gyökérendofiton közösségeinek magját nagymértékben ugyanazok az endofitonok adják, ezek a „core member” taxonok, melyek ezekben az élőhelytípusokban megegyeznek. Saját eredményeink, és további területekről származó adatok alapján, ezt a hipotézist kiterjesztettük, miszerint száraz, félszáraz területek fűféléinek gyökérendofiton közösségeinek hasonlósága több kontinensre kiterjedően is megfigyelhető (KNAPP és mtsai 2012).

Magyarország területéről ezek a gyökérendofiton gombákra vonatkozó első eredmények. Világviszonylatban nem ismerünk olyan egyéb korábbi tanulmányt, ami vizsgálta volna inváziós növények endofiton közösségeit és összehasonlította volna azt ugyanazon területen honos növények gyökérendofitonjaival.

5.3.2 DSE-gombák taxonómiája

A Pleosporales rendbe tartozó, két nem azonosított DSE-csoportból (DSE-4 és DSE-7), továbbá az ismert *Periconia macrospinosa* izolátumokkal egy csoportba sorolt, de a későbbi vizsgálataink során ettől egyértelműen elkülönített, nem azonosított csoportból („DSE-8A”) az első vizsgálatkor összesen 22 izolátum állt rendelkezésünkre. Később, a diverz DSE-7 csoportból célzott izolálásokat végeztünk, hogy biztosabb alapokkal kezdjük meg a csoportok taxonómiai vizsgálatát, melynek során már összesen 40 izolátumot vizsgáltunk, ebből 34 a DSE-7, három a DSE-4 és kettő a DSE-8A csoportot reprezentálta. Célunk volt a csoportok polifázikus taxonómiai vizsgálata: a morfológiai, anatómiai vizsgálatok mellett többlókuszos filogenetikai vizsgálatokat végeztünk. Az izolátumok telepjellemzőit több táptalajon vizsgáltuk, az eredetileg az izoláláshoz is használt MMN-táptalaj mellett maláta kivonat agaron (MEA), míg a sporuláció – akár ivaros, akár ivartalan – indukcióját ezen kettő táptalajon túl további három tápközegen is vizsgáltuk, de egyik tápközegen sem tapasztaltunk sporulációt. Ezen túl a törzsek sporulációját MEA- és MMN-táptalajokon különböző kezelésekkel is próbáltuk indukálni (pl. izzó bonctűs égetés, többszörös UV-fényes megvilágítás, majd különböző hőmérsékleten való tárolás, kiszáritás), emellett a törzsek különböző autoklávozott növénydarabokra (pl. csalánszár, fenyőtűlevél, árpa- és rozsszár) is ráoltásra kerültek. Sporuláció csupán az egyik csoport izolátumainál (DSE-7), egy rendszerben, sterilizált csalánszáron volt megfigyelhető, a mikroszkópos vizsgálatok alapján fejlett, spórákkal

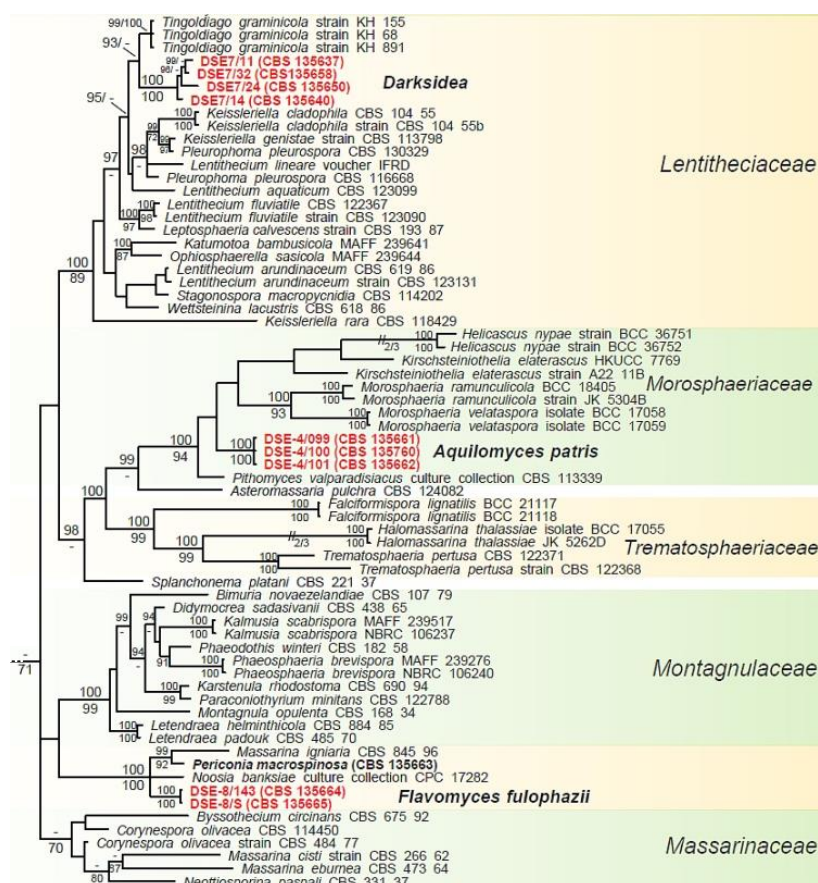


15. ábra: A *Darksidea zeta* DSE-faj által képzett **(a–b)** ivaros zárt termőtestek és **(c)** egy kifejlett tömlő, askospórákkal. Mércé: a, b: 200 μm , c: 10 μm . (KNAPP és mtsai. 2015, 5. ábra részlet, módosítással)

rendelkező askuszokat tartalmazó zárt termőtestek alakultak ki (**15. ábra**). Korábban DSE-gombáknál nem írtak le ivaros alakot, habár a *Phaeomollisia piceae* faj vizsgálatakor megfigyeltek termőtestnek látszó képleteket, de ezek sterilek voltak (GRÜNIG és mtsai. 2009). Az erdei ökoszisztémákra jellemző, Helotiales rendbe tartozó PAC-csoport genetikai vizsgálatakor azonosítottak olyan MAT-géneket, melyek a lehetséges

ivaros szaporodásra utaltak, hasonlóan a taxon populációgenetikai vizsgálatának eredményeihez (ZAFFARANO és mtsai. 2011). Egyértelmű, minden kétséget kizáró, ivaros termőtestképzésre a DSE-gombák körében ez az első példa, és mindeddig az egyetlen is, hiszen számtalan megismételt próbálkozás ellenére, nem sikerült az ivaros termőtestképzést újra indukálni. Mindamelllett nem feledkezhetünk meg arról, hogy ez egy mesterséges rendszerben elért eredmény, ami azt mindenesetre igazolja, hogy a termőtestképzés képessége megvan a vizsgált izolátumoknál, és mivel egy zárt rendszerbe egy izolátum került, a kialakult termőtest azt is mutatja, hogy a gomba homotallikus.

A molekuláris filogenetikai vizsgálatokban az nrDNS három szakasza (SSU egy része, teljes ITS és az LSU egy része) mellett az aktin (*ACT*), tubulin (*TUB*), calmodulin (*CAL*) és az elongációs faktor (*TEF*) szakaszait amplifikáltuk és szekvenáltuk a vizsgálatunkban felhasznált 34 izolátumunkból. A filogenetikai elemzéseket három „léptékben”, három adatsorral végeztük. Az egykori azonosítatlan DSE csoportok 2–4 izolátumát a Dothideomycetes csoport háromlókuszos (LSU, SSU, *TEF*) adatsorával



16. ábra: Az általunk leírt három tudományra új nemzetség Massariaceae (Dothideomycetes) csoportbeli filogenetikai helyzetét mutató Bayes-alapú elemzéssel nyert törzsfá részlete. Az elemzés három lókusz (nrDNS LSU, SSU és TEF) alapján készült. Az elágazások felett a Bayes-elemzésből nyert posterior valószínűségek, alatta ML-bootstrap %-ban (90, ill. 70% alatt nincs feltüntetve). Mércé: 0,2 várható változás/hely/ág. (KNAPP és mtsai. 2015, 1. ábra, részlet, módosítással).

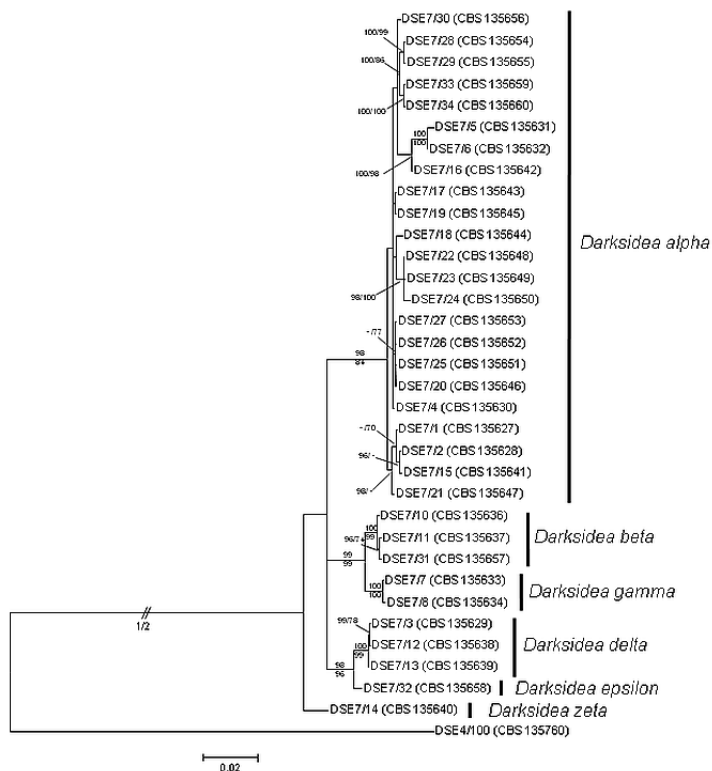
elemztük együtt (összesen 368 taxon, 2919 karakter), mely elemzések egyértelműen igazolták, hogy a csoportok a Pleosporales rend Massariaceae alrendjébe (16. ábra) tartoznak. A legnagyobb izolátumszámmal reprezentált DSE-7 csoport leszármazási vonalainak reprezentánsait vontuk be a Lentitheciaceae család, szintén három lókuszon (LSU, SSU, *TEF*) alapuló elemzésébe (31 taxon, 2539

karakter), melynek eredményei jól mutatták, hogy a csoport tagjai elkülönülnek, és kládjuk testvércsoportja a *Tingoldiagio* nemzetségnek. A harmadik elemzésben ennek a csoportnak a tagjait vontuk be, és a 6 partíciójú adatsort a nagyobb variabilitású lókuszok (ITS, *TEF*, *ACT*, *CAL*, *TUB*) szekvenciái, valamint az illesztett ITS-szekvenciákból kinyert „indel”-motívum adatsora alkotta. Az elemzésben (34 taxon, 3336 karakter) a vizsgált izolátumok hat elkülönülő, erősen támogatott kládot alkottak (17. ábra). Érdekes módon, habár a csoportra nagyfokú telepmorfológia-heterogenitás volt jellemző, amelyet azonban nem lehetett az egyes csoportokhoz egyértelműen kötni, sőt, a legnagyobb „létszámú” csoporton belül is nagyfokú heterogenitást láthattunk (18. ábra).

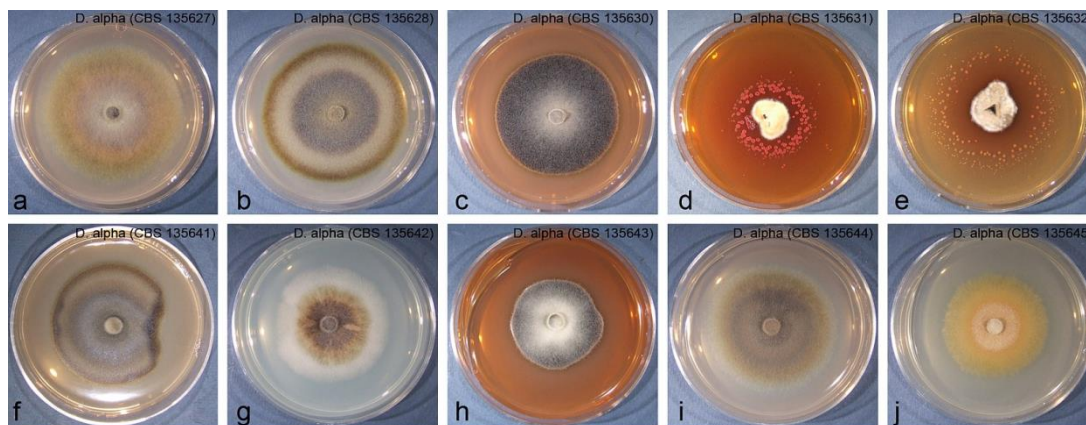
Ezek a leszármazási vonalak markánsan elkülönültek a relatíve jól feldolgozott Massarineae alrend ismert nemzetségeitől, így indokoltnak tűnt számunkra három új nemzetséget leírni.

Az egykori DSE-4-es csoport a Morosphaeriaceae családba tagozódott, új nemzetség nevét annak sötét telepéről kapta. Mivel semmiféle sporulációt nem sikerült előidézni, és bár jellegzetes a gomba növekedése izolátumként, a legbiztosabb az volt, hogy két lókuszán a legközelebbi, filogenetikai alapon leírt szomszédjának (*Morosphaeria*

ramunculicola) szekvenciáitól való eltérések adják a taxon diagnózist.



17. ábra: A *Darksidea* nemzetségben leírt hat tudományra új faj filogenetikai viszonyait bemutató Bayes-alapú elemzéssel nyert törzsfá. Az elemzés öt lókusz (nrDNS ITS, ACT, TUB, TEF, CAL) alapján készült. Az elágazások felett a Bayes-elemzésből nyert posterior valószínűségek, alatta az ML-bootstrap %-ban (90, ill. 70% alatt nincs feltüntetve). Mércé: 0,02 várható változás/hely/ág. (KNAPP és mtsai. 2015, 3. ábra, módosítással).



18. ábra: A *Darksidea apha* faj MMN-táptalajon növekedett 10 izolátumának telepmorfológiája. (KNAPP és mtsai. 2015, 3. ábra, részlet).

Taxonómia

Aquilomyces patris D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous, **gen. & sp. nov.** — MycoBank MB810756 (genus); MB810757 (species); Fig. yyy¹

...

Aquilomyces patris differs from its closest phylogenetic neighbour, *Morosphaeria ramunculicola* (BCC 18405) by unique fixed alleles in the LSU and SSU loci based on alignments of the separate loci deposited in TreeBASE as study S16626: LSU positions: 129 (T), 139 (A), 145 (C), 232 (T), 335 (C), 349 (C), 355 (A), 357 (T), 369 (A), 382 (T), 422 (G), 478 (G), 550 (T), 661 (C), 662 (T), 669 (T); SSU positions: 24 (C), 70 (T), 71 (C), 72 (C), 79 (C), 80 (T), 295 (G), 1002 (C), 1094 (C), 1123 (C).

Habár szekvenciakeresések alapján a fajt nem mutatták ki más élőhelyről, azóta a nemzetségnek egy újabb fajtát (*Aquilomyces rebunensis*) írták le Japánból, melyet vízbe merült faanyagról izolálták (TANAKA és mtsai. 2015). Ez az élőhely annyiban nem meglepő, hiszen a Morosphaeriaceae családba több taxon is tartozik, ami tengeri élőhelyekről származik (SUETRONG és mtsai. 2009).

Az egykori DSE-8 csoportba tartozó DSE-8A, és a *Periconia macrospinoso* (DSE-8B) bár szétváltak egymástól, de továbbra is egy kládba rendeződtek, ahová további taxonok (*Massarina igniaria*, *Noosia banksiae*) is csoportosultak (**16. ábra**). A csoport nem tartozott egyik ismert családba sem, így az izolátumok által a táptalajba kiválasztott sárga színanyag alapján leírt nemzetség *incertae sedis* pozícióban került a Massarineae alrenden belül. Hasonlóan az *Aquilomyces* nemzetséghez, ezen monotipikus nemzetség leírás-

¹ Knapp, D. G., Kovács, G. M., Zajta, E., Groenewald, J. Z., Crous, P. W. 2015. Dark septate endophytic pleosporalean genera from semiarid areas. *Persoonia* 35: 87–100.

sakor is egy ismert taxonnal (*Massarina igniaria*) való összevetés alapján, lókuszok közötti szekvenciakülönbségeket használtunk fel a diagnózishoz.

Taxonómia

Flavomyces fulophazii D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous, **gen. & sp. nov.** — MycoBank MB810758 (genus); MB810759 (species); Fig. yyy¹

...

Flavomyces fulophazii is a fungal root endophyte. *Flavomyces fulophazii* (CBS 135761) differs from its closest phylogenetic neighbour, *Massarina igniaria* (CBS 84596) (Fig. 1) by unique fixed alleles in the LSU and SSU loci based on alignments of the separate loci deposited in TreeBASE as study S16626: LSU positions: 38 (C), 48 (A), 65 (T), 74 (C), 78 (G), 84 (C), 146 (deletion), 147 (T), 174 (C), 435 (C), 456–481 (insertion), 490 (C), 624 (G), 630 (C), 658–672 (insertion), 860 (C), 862 (G), 864 (A); SSU positions: 22 (C), 26 (G), 34 (G), 39 (G), 71 (T), 294 (C), 408–834 (insertion), 890 (A), 971 (G), 1011 (C), 1028 (A), 1050 (G), 1081(A), 1082 (T), 1083 (A), 1084 (G), 1090 (G).

Hasonlóan az *Aquilomyces patris* fajhoz, szekvenciahasonlósági keresések alapján ezt a DSE-taxont sem mutatták eddig ki más élőhelyekről, és a nemzetség továbbra is monotipikus.

Az egykori DSE-7-es csoport esetében a filogenetikai elemzések eredményei alapján több fajt is elkülönítettünk az új nemzetségben, melyet a DSE-gombák nevéből kiindulva, egy filmeposzi áthallással a „sötét oldalon” állásra utalva neveztünk el. Ennek a nemzetségnek a tagjai képezték a termőtesteket, ráadásul ennek morfológiája jelentősen eltér a Lentitheciaceae családra jellemző, általában lencse alakú termőtestektől (ZHANG és mtsai. 2009), így a nemzetség diagnózisába már az ivaros alak anatómiai jellemzői is bekerülhettek. Emellett eddigi ismereteink alapján diagnosztikai értékű a célzott izolálások segítésére tervezett diagnosztikai PCR-primerpár, mely az ITS-régió egy kb. 300 bázispár hosszú szakaszát amplifikálja. A nemzetségen belül hat fajt írtunk le, ezek diagnózisához is szükséges volt szekvenciakülönbségeket használni az anatómiai jellemzők mellett.

¹ Knapp, D. G., Kovács, G. M., Zajta, E., Groenewald, J. Z., Crous, P. W. 2015. Dark septate endophytic pleosporalean genera from semiarid areas. *Persoonia* 35: 87–100.

Taxonómia

Darksidea D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous, **gen. nov.** — MycoBank MB810760; Fig. yyy¹

...

Type species. Darksidea alpha D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous, sp. nov.

Ascomata globose, brown; ostiole not seen; wall of 3–4 layers of brown textura angularis, surface of textura epidermoidea. Pseudoparaphyses intermingled among asci, hyaline, septate, hyphal, anastomosing. Asci bitunicate, clavate to ellipsoid, with weakly developed apical chamber, stipitate, 4–6-spored. Ascospores multiseriate in asci, hyaline, guttulate, aseptate, thick-walled, ellipsoid. The genus *Darksidea* contains root endophytic fungi associated almost exclusively with grasses in arid and semiarid areas. *Darksidea* isolates can be collected from surface-sterilised roots and can be cultured and maintained on general media. Using the primer pairs DSE7F / DSE7R (this study), a c. 300-bp-long partial ITS region of fungi belonging to the genus *Darksidea* can be amplified by PCR.

Darksidea alpha D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous, **sp. nov.** — MycoBank MB810761; Fig. yyy

...

Darksidea beta D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous, **sp. nov.** — MycoBank MB810762; Fig. yyy

...

Darksidea gamma D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous, **sp. nov.** — MycoBank MB810763; Fig. yyy

...

Darksidea delta D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous, **sp. nov.** — MycoBank MB810764; Fig. yyy

...

Darksidea epsilon D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous, **sp. nov.** — MycoBank MB810765; Fig. yyy

...

Darksidea zeta D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous, **sp. nov.** — MycoBank MB810766; Fig. yyy

Ahogy az a fentiekben említésre került, a *Darksidea* nemzetség széles körben elterjedt, gyakori DSE-gomba csoport (fél)száraz füves területeken. A nemzetségbe tartozó gyökérekolonizáló gombákat számos helyről izolálták korábban. A nagyobb földrajzi távolságok ellenére meglévő azonosságot nagyon hamar sikerült felfedeznünk. Az első *Darksidea* szekvencia (AY929107) 2005 márciusában került nyilvánosságra, az izolátum Utah államból (USA), egy nemzeti park félszáraz füves területéről, *Stipa hymenoides* gyökeréről származott (HAWKES és mtsai. 2006). Néhány hónappal később izoláltuk az első gyökérendofiton izolátumainkat, melyek közül a legelső blast-

¹ Knapp, D. G., Kovács, G. M., Zajta, E., Groenewald, J. Z., Crous, P. W. 2015. Dark septate endophytic pleosporalean genera from semiarid areas. *Persoonia* 35: 87–100.

kereséssel vizsgált ITS-szekvencia ezzel az USA-ból származó adattal mutatott legjobb egyezést: ez a törzsünk egy fülöpházi *Stipa borysthénica* gyökeréről izolált *Darksidea alpha* volt (D7/17).

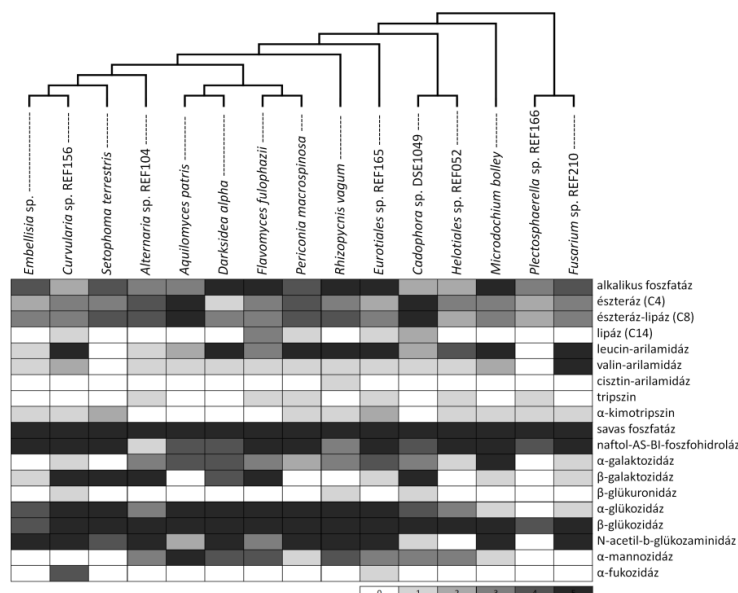
Észak-amerikai füves helyekről gyakran kimutatták (például GREEN és mtsai. 2008; PORRAS-ALFARO és mtsai. 2008; HERRERA és mtsai. 2011), és egyes élőhelyeken domináns gyökérendofitonként jellemezték ezt a leszármazási vonalat (HERRERA és mtsai. 2010). PORRAS-ALFARO és mtsai. (2008) három Pleosporales rendbe tartozó alcsoportot nevezett meg, ezek közül a „B” volt a *Darksidea* gombák által képzett csoport. Később KHIDIR és mtsai. (2010) szintén azonosítva ezt a jelentős csoportot, azt egy *Paraphaeosphaeria* fajnak „titulálták”, és ezt a hibás elképzelést mások is (például HERRERA és mtsai. 2010) átvették. Az a nemzetség viszont egyértelműen a Montagnulaceae családba tartozik (VERKLEY és mtsai. 2014), tehát más csoportba, mint ahova a *Darksidea* valójában illeszkedik. A nemzetség – szintén árvalányhaj gyökereiből – előkerült mongol füves területeken is (SU és mtsai. 2010). Véleményünk szerint a *Darksidea* az egyik meghatározó tagja a (fél)száraz füves élőhelyek jellemzően füveket kolonizáló DSE „core” közösségeinek.

5.3.3 DSE-csoportok funkcionális heterogenitása

A diverzitási, taxonómiai eredményekből is látható, hogy a DSE-gombák, *per definitionem*, nem jelentenek rendszertanilag egységes csoportot; ráadásul akár egy relatíve kis terület gyökérendofiton közösségét is sokféle tömlősgombacsoportba tartozó gomba alkothatja, kisebb skálán pedig akár egy növényegyed gyökereiből is számos különböző DSE-gombát lehet izolálni.

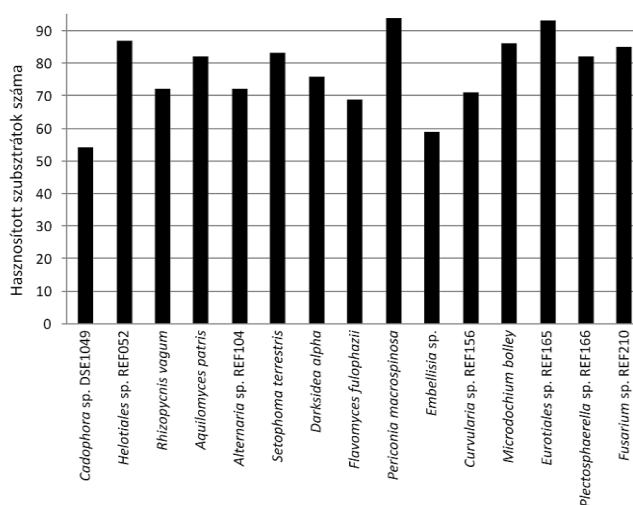
Vizsgálni szeretnénk volna, hogy a kiskunsági homokterületek taxonómiailag diverz DSE-gombái, funkcionális értelemben is különböznek-e, jellemzi-e őket valamiféle interspecifikus funkcionális heterogenitás. Ahogy azt a bevezetőben is tárgyaltuk, az endofiton gombáknak sokféle funkciójuk, stratégiájuk lehet. A DSE-gombák szaprotróf képességei különösen lényegesek lehetnek olyan tápanyagszegény élőhelyeken, mint például a kiskunsági félszáraz gyepek. Két teszt használatával vizsgáltuk ezt a kérdést. Az apiZYM szemi-kvantitatív enzimtesztet baktériumok vizsgálatához fejlesztették ki (HUMBLE és mtsai. 1977), mellyel 19 konstitutív enzim aktivitását színreakció alapján lehet becsülni. Korábban alkalmazták már gombák vizsgálatához, de azok sporuláló

taxonok voltak (TEKERE és mtsai. 2001). A BioLog cég által eredetileg azonosításra kidolgozott „FF MicroPlate” szénforráshasznosítási teszttel egyszerre 95 különböző szénforrás hasznosításának képességét lehet tesztelni (SINGH 2009).



19. ábra: A 15 DSE leszármazási vonal reprezentáns törzseinek api-ZYM teszttel meghatározott konstitutív enzim termelése. Az enzimikus aktivitás az árnyékolás intenzitásának erősödésével növekszik. A DSE-gombák filogenetikai viszonyait a nrDNS ITS- és LSU-szekvenciákból számított ML-törzsfá illusztrálja. (KNAPP és KOVÁCS 2016, 1. ábra, módosítással)

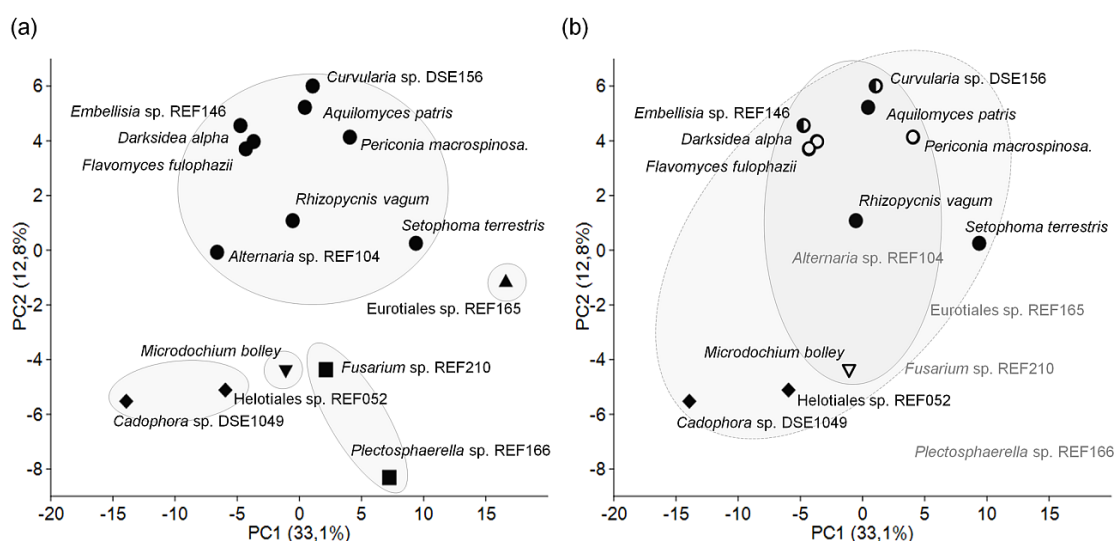
és minden enzim esetében legalább egy DSE mutatott aktivitást (**19. ábra**). A legtöbb gomba mutatott savas foszfatáz és valamilyen glükozidáz aktivitást, míg más enzimek esetében (cisztein-arilamidáz, α -fukozidáz, β -glükuronidáz) csak egy-két DSE-gomba mutatott aktivitást (**19. ábra**). A BioLog szénforrás-hasznosítási profilok is minden vizsgált DSE-esetében különböztek. A legtöbb szénforrást (94) a *Periconia macrospinoso*, a legkevésébbet (54) a *Cadophora* sp. törzsei hasznosították (**20. ábra**). Az összes szénforrást legalább egy DSE-gomba tudta hasznosítani. Korábbi munkák (CALDWELL és mtsai. 2000; MANDYAM és mtsai. 2010; LACERCAT-DIDIER és mtsai.



20. ábra: A Biolog-FF teszt 95 szénforrásából a vizsgált DSE-gombák által hasznosított szénforrások száma. (KNAPP és KOVÁCS 2016, 3. ábra, módosítással)

2016) néhány DSE-taxon limitált számú forráshasznosítási képességét és enzimeik aktivitását vizsgálta. Átfedő taxonok és források, illetve enzimek esetében ezek az eredmények összhangban voltak az általunk kapott eredményekkel, az általunk használt magas számú szénforrás és enzim azonban árnyalta a korábbi eredményeket. MANDYAM és mtsai. (2010) például öt extracelluláris enzim vizsgálata során azt találták, hogy a *Periconia macrospinoso* és a *Microdochium* sp. DSE-gombák termelik ezeket az enzimeket, míg a mi vizsgálataink során az adott enzimek termelődését kimutattuk, de a további adatok jelentős metabolikus különbséget mutattak a két taxon között. LACERCAT-DIDIER és mtsai. (2016) nemrég egy, a mi „*Helotiales* sp. REF052” törzsünkkel konspecifikus, nyárról származó izolátumról mutatta ki hét szénforrás hasznosításának képességét, melyeket a mi törzsünk is hasznosítani tudott.

A BioLog eredmények PCA-elemzése során a vizsgált gombák rendszertani csoportjai elkülönültek, de fő gazdakörönként (fűfélék, nem fűfélék, kevert gazdakörűek) jelentősen átfedtek (**21. ábra**). Ha ezen fő kategóriák alapján vizsgáltuk a hasznosított szénforrásokat, megállapíthattuk, hogy a fűfélék endofitonjai és a nem fűfélékre jellemző



21. ábra: A Biolog-FF teszt kategorizált értékeinek PCA-elemzése. **(a)** Rendszertani csoportok szerint jelölve és körberajzolva; kör: Pleosporales, rombusz: Helotiales, négyzet: Hypocreales, háromszög: Eurotiales, fordított háromszög: Xylariales. **(b)** Gazdanövények szerint (is) jelölve és körberajzolva. Üres alakzat: fűfélék, teli: nem fűfélék, félig teli: vegyes gazdakör. Bizonytalan gazdakörű taxonok jele nincs feltüntetve. (KNAPP és KOVÁCS 2016, 5. ábra)

endofitonok csoportjai külön-külön is a teljes szénforrás-repertoárt használni tudták. Ez, a nagyobb növénycsoportok gyökérendofiton csoportjait jellemző komplementáris enzimspektrum beleillik a „növény holobiont” (VANDENKOORNHUYSE és mtsai. 2015) elméletébe. A funkcionálisan is diverz DSE-közösség így még inkább fundamentális szerepet játszhat tápanyagszegény környezetekben, például a növényi elhalt anyagok visszaforgatásában (például „root turnover”), tápanyag-mobilizációban a gazdanövény részére.

5.4 Gyökérkolonizáló gombák *in planta* vizualizációja

Az előzőekben bemutatott kölcsönhatástípusokat (ECM-, AM-, DSE-kolonizáció) különböző gombacsoportok képezik, viszont sokszor, ahogy a bevezetőben is tárgyaltuk, akár egy növényegyed egyazon gyökérszakaszában is előfordulhatnak különböző kolonizációtípusok. Például az AM- és DSE-gombák együttes kolonizációja kimondottan gyakran előfordul, ahogy azt kiskunsági területeken is tapasztaltuk korábban (KOVÁCS és BAGI 2001; KOVÁCS és SZIGETVÁRI 2002). DNS-alapú molekuláris diverzitási vizsgálatok során sokszor felmerül az igény, hogy ne csak egy adott gomba (DNS-ének) jelenlétét mutassuk ki, hanem próbáljuk lokalizálni is az adott taxont. Egyes gombacsoportok, életképesség, metabolikus aktivitás szempontjából is informatív, tényleges kimutatása a gyökerekben fontos lehet a növény–gomba kapcsolat funkcionalitása szempontjából, vagy éppen a gyökeret kolonizáló különböző gombák (és akár kölcsönhatás típusok) kölcsönhatásainak jellemzéséhez. Bár léteznek gombaspecifikus vizualizációs lehetőségek, melyeket gombák növényen belüli kimutatására is használtak, például a WGA-kapcsolt fluorofóron alapuló mikroszkópiát, melyet DSE-vizsgálatokhoz is alkalmaztak (ANDRADE-LINARES és mtsai. 2011), ezek azonban általános, nem gombacsoport-specifikus módszerek.

Az általunk is vizsgált különböző kölcsönhatási típusok gombapartnereinek specifikus vizualizációjára a fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) technikáját választottuk. A FISH-módszert korábban használták már szabadon élő gombákra (BASCHIEN és mtsai. 2008, JONES és mtsai. 2011) vagy sejtmagok festéséhez AM-képző gombák gyökéren kívüli hifáiban (TROUVELOT és mtsai. 1999). A növényi szöveteken belüli struktúrák fluoreszcens vizualizációját nagyban nehezíti a növények jellegzetes autofluoreszcenciája. Annak érdekében, hogy ezzel a zavaró jelenséggel legkevésbé átfedő fluorofórokat válasszunk a vizsgálatainkhoz, összesen 15 különböző növekedési formát és rendszertani csoportot reprezentáló növényfaj gyökér-homogenátumán térképeztük fel a fluoreszcencia emissziós spektrumának jellemzőit. Az ezek alapján megfelelőnek ígérkező fluorofórokat kapcsoltattuk a hibridizációhoz szintetizáltatott oligonukleotid próbák 5' végéhez (**3. táblázat**). Mivel szerettük volna elérni, hogy fluoreszcens jel ne csak a sejtmagban legyen, továbbá a vizualizáció eredményei a gombák életképességével, metabolikus aktivitásával is összefüggésbe hozhatók legyenek, próbá-

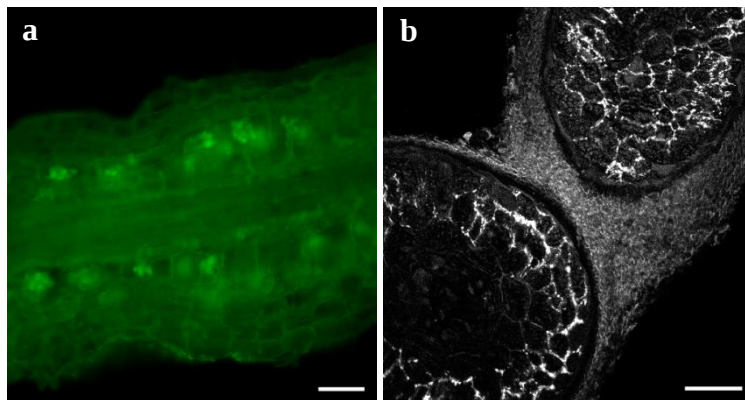
inkat a riboszómális RNS-hez történő hibridizációra terveztük. A különböző rRNS szakaszokra különböző specificitású próbákat készítettünk – bizonyos esetekben irodalomból ismert csoportspecifikus PCR-primerek alapján készítettünk (**3. táblázat**), vagy korábban használt és publikált általános eukarióta (BAKER és mtsai. 2003) vagy eufungi (BASCHIEN és mtsai. 2008) FISH-próbák voltak. Ezen kívül, az rRNS LSU-régió szekvenciái alapján terveztünk a *Rhizophagus intraradices* AM-képző gombára és egy *Cadophora* sp. izolátumunkra (DSE-1) specifikus FISH-próbákat (**3. táblázat**).

3. táblázat: A fluoreszcens *in situ* hibridizációs munka során használt különböző próbák szekvenciái és csatolt fluorofórok. (RhodR: Rhodamine Red-X, Flc: Fluorescein, A488: Alexa Fluor 488, A546: Alexa Fluor 546) (VÁGI és mtsai. 2012, 1. táblázat, módosítással)

Próba neve	Szekvencia és fluorofór	Célcsoport/taxon	Forrás
EUKb310	[RhodR] TCA GGC BCC YTC TCC G	eukarióták	BAKER és mtsai. (2003)
MY1574	[Flc] TCC TCG TTG AAG AGC	valódi gombák	BASCHIEN és mtsai. (2008)
AMF1	[Cy3] GTT TCC CGT AAG GCG CCG AA	AM	HELGASON és mtsai. (1998) (PCR primer)
Bas ITS4B	[A488] CAG GAG ACT TGT ACA CGG TCC AG	bazídiumos gombák	GARDES és BRUNS (1993) (PCR primer)
AMF_28G2	[A488] CCA TTA CGT CAA CAT CCT TAA CG	AM	DA SILVA és mtsai. (2006) (PCR primer)
GintrLSU01	[A488] CAT ACG GGC AAG TAC ACC CAA	<i>Rhizophagus intraradices</i> /AM/	saját tervezés
GintrLSU02	[A488] TTT CGG CAC CAG AGC AAC GAT	<i>Rhizophagus intraradices</i> /AM/	saját tervezés
GintrLSU822	[A488] AAC TCC TCA CGC TCC ACA GA	<i>Rhizophagus intraradices</i> /AM/	TROUVELOT és mtsai. (1999) (PCR primer)
CadoLSU01	[A546] GAG AGG AGC CAC ATT CCC AA	<i>Cadophora</i> sp. /DSE/	saját tervezés

A jelölés különböző lépéseinek optimalizációja (időtartam, hőmérséklet, koncentrációk stb.), amennyiben lehetőség volt rá, izolátumokon történt. Az *in planta* vizsgálatokat természetes és mesterségesen létrehozott mintákon is végeztük, ez utóbbi esetben kukorica gyökerét inokuláltuk DSE-gombával (*Cadophora* sp.), valamint AM-képző gomba (*Rhizophagus intraradices*) oltóanyagával, külön-külön és együtt is. Ez utóbbi minták szimultán jelöléséhez külön optimalizálni kellett az eljárást a kettős jelölés sikere érdekében. A tesztelt próbák általánosságban működtek a megfelelő cél-organizmusokkal. A vastag gyöker- és ektomikorrhiza-metszetek jól vizsgálhatók voltak mind epifluoreszcens, mind pedig konfokális lézer pásztázó mikroszkópia (CLSM) alkalmazásával. A korábbi eufungi FISH-próba megfelelően jelölte a gombákat mind szabad micéliumokon, mind gyökérben tesztelve. A bazídiumos gombák ITS-szakaszának specifikus PCR amplifikációjához általánosan használt, LSU 5' végébe kötő ITS4B-primer (GARDES és BRUNS 1993) kiválóan működött bazídiumos gombák által képzett ECM-struktúrák jelölésénél. Ebben az esetben az is megfigyelhető volt, hogy az ECM metabolikusan aktívabb „interface” részénél (Hartig-háló) jóval intenzívebb fluoreszcens jelet kaptunk (**22. ábra**). Hasonlóan jól működött az AM-gombák vizsgálatánál a saját

vizsgálatainkban is sokszor használt DA SILVA-féle (DA SILVA és mtsai. 2006) primerpár „28G2” tagja, láthatóvá téve például az ECM- és DSE-kapcsolatokat is kialakítani képes fehér nyár gyökerében az AM-gombakolonizációt (**22. ábra**).

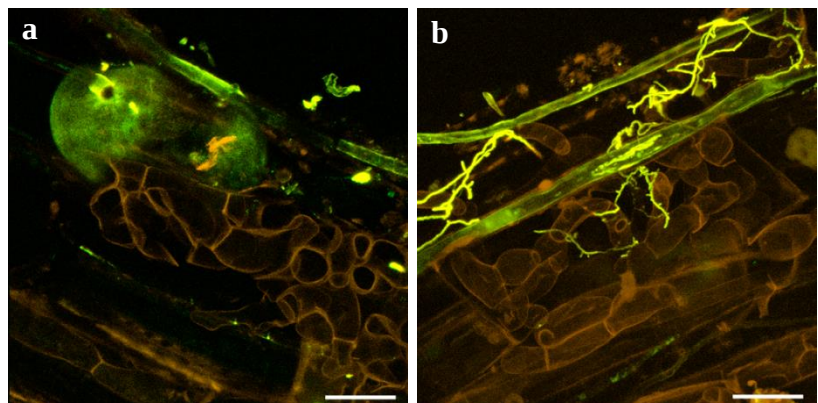


22. ábra: Különböző mikorrhizaképző gombák *in planta* fluoreszcens vizualizációja. **(a)** *Populus alba* gyökerét kolonizáló AM-képző gomba AMF_28G2_af488 próbával jelölve. Mérete: 10 µm **(b)** *Salix rosmarinifolia* ECM-metszet Bas_ITS4B_af488 próbával jelölve (CLSM kép). Mérete: 100 µm. (VÁGI és mtsai. 2012, 1b, 2d ábrák, módosításokkal)

A *Rhizophagus intraradices* fajra specifikus korábbi PCR-primer és az általunk tervezett FISH-próbák szintén megfelelően jelölték az AM-gomba hifáit (**23. ábra**). A DSE-gombára tervezett próba szintén megfelelően működött, és ezt az Alexa Fluor 546-al kapcsolt próbát együtt alkalmazva az általunk tervezett

Rhizophagus intraradices specifikus, Alexa Fluor 488 kapcsolt GintrLSU01 próbával, egyazon gyökérdarabban szimultán specifikusan tudtunk megjeleníteni DSE- és AM-kolonizációt (**23. ábra**).

Eredményeink igazolták, hogy az rRNS FISH megfelelően adaptálható gombák *in planta* specifikus vizualizációjára, sikerült közös és gyakori, különböző kölcsönhatási típusokat létrehozó gyökérekolonizáló gombákat szimultán differenciáltan jelölnünk. Habár GFP-kapcsolt proteinek expresszálo transzformált gombák segítségével korábban is történt specifikus szimultán vizualizációja proteineknek és/vagy törzseknek (LORANG és mtsai. 2001), az általunk adaptált FISH-módszer alkalmas természetes minták vizsgálatára is. A rRNS-gének, különösen az LSU D1/D2 szakasza alkalmasnak bizonyult specifikus FISH-próbák tervezésére, és ez a szakasz, taxonómiai feloldóképessége miatt, több gyökérekolonizáló gombacsoportban is alkalmas lehet a specifikus próbák fejlesztéséhez.



23. ábra: **(a–b)** AM-képző gomba (zöld, *Rhizophagus intraradices*) és DSE-gomba (pirosas-sárga, *Cadophora* sp.) együttes kolonizációjának megjelenítése *Zea mays* gyökerében. Az AM jelöléséhez az GintrLSU01_af488, a DSE jelöléséhez a CadoLSU01_af546 próbákat használtuk. CLSM képek. Mérete: 100 µm (VÁGI és mtsai. 2012, 2a, b ábrák, módosításokkal)

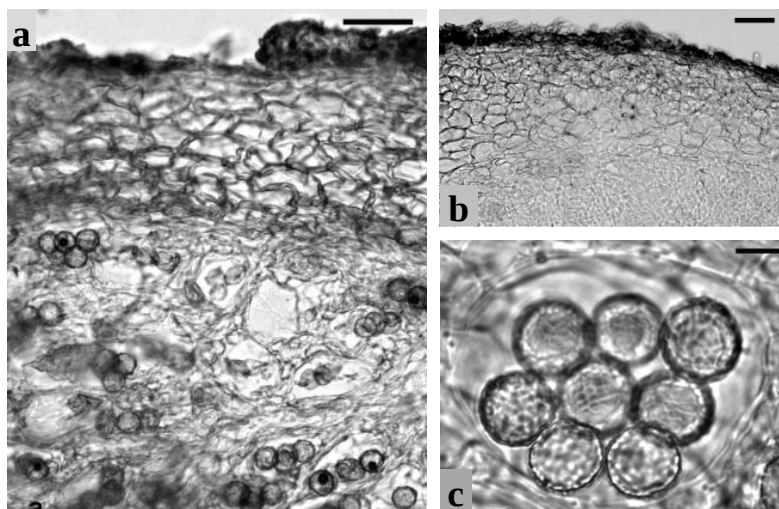
5.5 Sivatagi szarvasgombák és rokon taxonok

Ahogy a korábbiakban láthattuk, egy adott élőhely, partnernövény vagy rendszertani csoport gyökérkolonizáló gombáinak diverzitását megismerni több módszer alkalmazásával is lehetséges, és vizsgálhatjuk úgy is, hogy a gombák termőtesteinek gyűjtéseiből származnak adataink. Bár valójában ezek, az akár szabad szemmel is észrevehető, háromdimenziós szerveződési formák a gombák életciklusának arányaiban egy (nagyon) rövid szakaszban jelennek csak meg, a termőtestet képző csoportoknál többek között a taxonómiai vizsgálatoknak egészen a legutóbbi évekig az egyedüli kiindulási és vonatkoztatási pontjainak számítottak, de az igazán *jó taxonómiának* a mai napig a termőtest-alapú vizsgálatokat tartják. Az ilyen vizsgálatokat egyebek mellett nehezítheti az is, ha maguk a termőtestek is rejtve vannak, mint például a föld alatti termőtestet képző gombáknál. Ez a fajta termőtestképzés szelekciós előnyt jelenthet: ahogy a bevezetőben is részleteztük, a száraz, félszáraz területekhez való alkalmazkodás egyik megnyilvánulása lehet a termőtestek föld alatt képzése, és erre az egyik legjobb példát a sivatagi szarvasgombák jelentik.

5.5.1 Spanyolországi sivatagi szarvasgombák revíziója

A legismertebb és legnagyobb sivatagi szarvasgomba-csoport, a *Terfezia* nemzetség vizsgálatára kiváló lehetőséget biztosított a madridi botanikus kert (RJB – Real Jardín Botánico) herbáriumának gombagyűjteménye (MA-Fungi), hiszen tudni lehetett, hogy a gyűjtemény 110 Spanyolországból származó *Terfezia* példányának alapos vizsgálata, gyűjteményi revíziója nem történt meg. A vizsgálatok során először az ismert fajok leírásait és határozó kulcsait „szem előtt tartva” a példányok részletes mikroszkópos vizsgálatát végeztem el, majd ezt követte kiválasztott példányok molekuláris feldolgozása, mely során először 71 példány ITS-szekvenciáját, majd ezek alapján kiválasztott példányok LSU-szekvenciáját határoztuk meg. A molekuláris filogenetikai eredmények tükrében értelmeztem a korábbi morfo-anatómiai jellemzéseket, illetve végeztünk további anatómiai vizsgálatokat is. Ez a módszer segíthet abban, hogy a korábbi fajleírásokra, határozásokra alkalmazott karakterek hatékonyságát ellenőrizzük, és esetleges új jellemzőkről a későbbi molekuláris adatok eldönthetik, hogy filogenetikai értelemben informatívak-e, továbbá a molekuláris alapon kirajzolódó csoportokat újra ellenőrizhet-

jük, hogy találunk-e olyan közös anatómiai/morfológiai jellemzőt, amely fölött korábban elsiklottunk.



24. ábra: A *Terfezia alsheikhii* tudományra új sivatagi szarvasgomba faj anatómiai jellegzetességei. **(a)** Termőtest keresztmetszet részlete a pseudoparenchimatikus perídium az aszkusokat is tartalmazó belső állomány. **(b)** Perídium és szubperidiális réteg metszete. **(c)** Aszkusz, 8 retikulált aszkospórával. Mére: a, b: 50 μ m, c: 10 μ m. (KOVÁCS és mtsai. 2011, 5. ábra, részletek, módosításokkal)

A gyűjtemény *Terfezia* példányai négy néven voltak deponálva (*Terfezia arenaria*, *Terfezia claveryi*, *Terfezia leptoderma* és *Terfezia olbiensis*), és néhány fiatal vagy rossz állapotban lévő, félrehatározott példányt leszámítva csak négy esetben volt rossz az azonosítás. Ezen négy esetben a példányok retikulált spórája

lehetett a félrevezető – a spanyolországi *Terfezia* fajok közül egyedül a *Terfezia claveryi* retikulált spórájú, és ezen a néven volt mind a négy gyűjtés deponálva. Három példánynak azonban a termőtestet borító perídiumrétege (ennek szerkezete egy nagyon fontos bélyeg) pseudoparenchimatikus („sejtes”) szerveződésű volt (**24. ábra**), ami a spóramintázatával (**24. ábra**) együtt egy teljesen új kombináció, hiszen a *Terfezia claveryi* perídiuma plektenhimatikus („hifális”) szerveződésű.

Az LSU-szekvenciák reprezentánsait elemzésbe vonva a csészegombák családján belül vizsgáltuk a nemzetség helyzetét, és az eredmények megerősítették a korábbi, kevés szekvencián alapuló eredményeket (LÆSSØE és HANSEN 2007), miszerint a *Terfezia* nemzetség a *Peziza depressa-Ruhlandiella* kiscsoportba tartozik.

Az általunk kinyert nrDNS ITS- és LSU-szekvencián alapuló molekuláris filogenetikai vizsgálatok, melyekbe a GenBank-ból származó adatokat is bevontunk, megerősítették, hogy az egyedi anatómiai jellemzők valóban egy új fajhoz tartoznak, melyet (a taxon leírása óta sajnos már elhunyt) Abdulmagid M. Alsheikh tiszteletére neveztünk el, aki nek a nagyon részletes és maximálisan megbízható monografikus munkája a *Terfezia sensu lato* csoport feldolgozásáról (ALSHEIKH 1994) egy nélkülözhetetlen és folyamatos segítség a sivatagi szarvasgombákon végzett taxonómiai munkákhoz.

Taxonómia

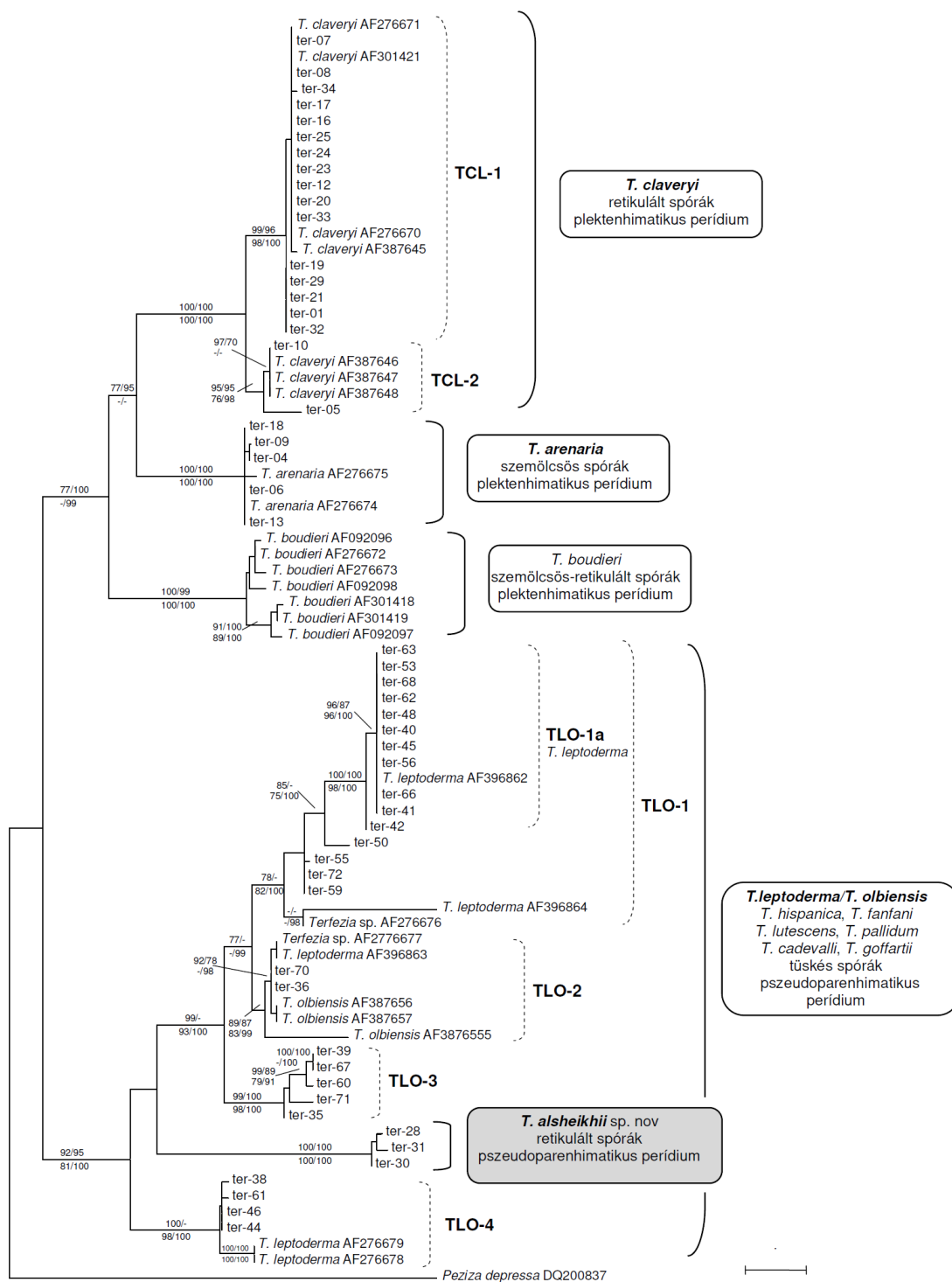
Terfezia alsheikhii Kovács, M.P. Martín & Calonge **sp. nov.** Fig. yyy¹
MycoBank MB519343

Ascomata hypogaea, 1–4 cm lata. Peridium 100–180 mm crassum, in ascomatibus immaturis stratis duobus: stratum exterius compactum, brunneolum per microscopium luce transmissa, manifeste pseudoparenchymatum; stratum duo partim cellulis oblongis, partim cellulis globosis; in ascomatibus maturis strato tertio, prosenchymato. Asci globosi vel subglobosi, 40–60 × 65–80 µm, plerumque 8-spori. Ascosporae globosae, (15–)16–18(–20) µm latae, irregulariter reticulatae, in sporis junioribus reticulum incompletum.

A faj további példányai már előkerültek Spanyolországból (BORDALLO és mtsai. 2013), és az sem nem zárható ki, hogy a madridi gyűjteményhez hasonlóan máskor is *Terfezia claveryi* fajként határoztak meg valójában *Terfezia alsheikhii* példányokat.

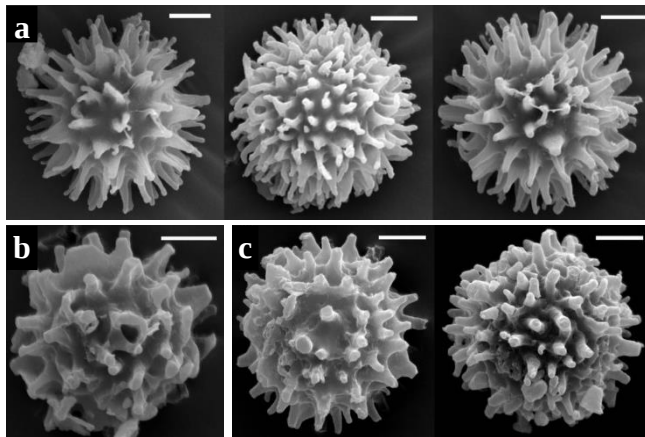
A gyűjteményben előforduló *Terfezia arenaria* (szemölcsös spóra, plektenhimatikus köpeny) és *Terfezia claveryi* fajok jól azonosíthatók voltak, és példányaik az ITS-alapú molekuláris elemzésekben is erősen támogatott, elkülönülő kládokat alkottak (**25. ábra**). A *Terfezia claveryi* két határozottan elkülönülő csoportba rendeződött, de semmiféle specifikus anatómiai és/vagy élőhelyi jellemzőt nem lehetett a csoportokhoz rendelni. A *Terfezia arenaria*-*Terfezia claveryi* kládokkal alkotottak egy monofiletikus csoportot a *Terfezia boudieri* faj szekvenciái (ez a faj jellemzően nem él a spanyolországi élőhelyeken). Érdekes, hogy mindhárom taxonra a plektenhimatikus perídium jellemző, míg a nemzetségen belüli másik nagy kládba olyan taxonok rendeződtek, melyekre a pszeudoparenhimatikus perídiumszerveződés a jellemző (**25. ábra**).

¹ Kovács, G. M., Balázs, T. K., Calonge, F. D. Martín, M. P.: 2011. The diversity of *Terfezia* desert truffles: new species and a highly variable species complex with intrasporocarpic nrDNA ITS heterogeneity. *Mycologia* **103**: 841–853.



25. ábra: *Terfezia* fajok nrDNA ITS alapján számított ML-törzsfája, a madridi herbáriumi revízió során nyert és az elemzésekkor nyilvános adatbázisokban elérhető szekvenciákkal. Az elágazások feletti első érték az ML, második a maximális parsimónia elvén számolt, az elágazás alatti első az NJ bootstrap érték, a második a Bayes-módszerrel számított posterior valószínűség. A bootstrap értékek 70% a PP 90% alatt nincs feltüntetve. Mércé: 0,02 várható változás/hely/ág. (KOVÁCS és mtsai. 2011a, 2. ábra, módosításokkal)

Az utóbbi kládba csoportosultak a tüskés spórájú *Terfezia* fajok, és az elemzéseink is mutatták, hogy ezen fajok esetében kevésbé „rendezett” a taxonómiai helyzet (**25. ábra**). Vannak olyan értelmezések, ahol a *Terfezia leptoderma* és *Terfezia olbiensis* fajokat külön fajnak tekintetik (JANEX-FAVRE és mtsai. 1988; ALSHEIKH 1994; MONTECCHI



26. ábra: Aszkospórák a tüskés spórájú *Terfezia* fajcsoportból. **(a)** *Terfezia leptoderma* (TLO-1a, ter41) **(b)** *Terfezia olbiensis* s.l. (TLO-3, ter35) **(c)** *Terfezia olbiensis* s.l. (TLO-4, ter52). Az a és c spórák ugyanabból a termőtestből származnak. Mérete: 5 μ m. (KOVÁCS és mtsai. 2011a, 3. ábra, részletek, módosításokkal)

és SARASINI 2000), de elterjedt az az értelmezés, mely szerint ez a két név szinonim (FOGEL 1980; ALVAREZ és mtsai. 1993). A filogenetikai elemzések során ezek a mintáink négy nagy csoportba rendeződtek, és a négy klád közé ékelődött az új fajként leírt *Terfezia alsheikhii* (**25. ábra**). Felmerül megoldásként, hogy amennyiben ezt a négy csoportot egy-egy fajnak tekintjük, akkor fel-

oldható a probléma. Ezzel egy jelentős gond van: a csoport nem csupán molekuláris elemzések alapján, de morfológiai szempontból is nagyon heterogén. A kulcsok által adott elkülönítés nem igazán használható, biztonsággal nem dönthető el, melyik klád reprezentálja a már meglévő neveket. Ez különösen bonyolulttá válik a csoport nevezéktani történetének fényében, ugyanis a két előzőleg említett név mellett további hat taxont írtak le korábban, melyek morfológiai alapon ebbe a csoportba tartoztak, így összesen nyolc nevünk volt (**25. ábra**). A legtöbb szerző ezt a hat nevet szinonimnak tekintti, négy esetében indirekt forrásokra (CALONGE és mtsai. 1985; ALSHEIKH 1994) támaszkodva feltételezték, hogy a típusanyagok elvesztek, de valójában megalapozott taxonómiai és nevezéktani oka nem volt annak, hogy ne kezeljék létező, elkülönülő fajoknak őket. Az általunk TLO-1a csoportba rendeződött példányok anatómiai vizsgálatkor minden esetben feltűnt, hogy ezeknél a példányoknál duzzadt, gömbölyded sejtek is megfigyelhetők a perídiumban, és ilyet csak ebben a csoportban találtuk. ALSHEIKH (1994) vizsgálni tudta a *Terfezia leptoderma* faj típusanyagát, és megjegyezte, hogy a fajra jellemzőek az ilyen sejtek a perídium belső rétegében. Ezek alapján ezt a csoportot tekintettük *Terfezia leptoderma* fajnak, a többit viszont szerencsésebb *Terfezia olbiensis* fajkomplexxként kezelni, szem előtt tartva, hogy a csoport nagy valószínűséggel több, korábban már leírt fajt is magába foglal. Azóta minden józan taxonómiai és nevezéktani megfontolás ellenére sikerült ebbe a csoportba további neveket „generálni”.

DÍEZ és mtsai. (2002) korábbi munkájukban felvetették, hogy *Terfezia* fajokra jellemző lehet gazdanövényeik és élőhelyeik talajviszonyai. Bár sokszor hiányosak voltak a gyűjtőhelyi adatok, ilyen tiszta tendencia nem rajzolódott ki a vizsgálatunk során. Egyedül a TLO-1 csoportban találtuk, hogy csak *Cistus/Helianthemum* és *Quercus* növények és feltehetően savanyú talaj jellemezték az élőhelyeket. Előfordultak még olyan csoportok, ahol ezek a gazdanövények, vagy éppen a *Pinus* fajok domináltak, de minden esetben voltak kivételek is az adott kládban.

4. táblázat: Termőtesten belüli ITS-heterogenitás mértéke a *Terfezia olbiensis* fajkomplexben.

Minta sorszám <i>Terfezia olbiensis</i> komplex	TLO csoport	ITS haplotípusok száma	Két ITS haplotípus maximális különböző karakterszám
ter-43	TLO-3	6	5
ter-52	TLO-4	3	2
ter-54	TLO-3	2	2
ter-57	TLO-3	7	12
ter-58	TLO-3	5	4
ter-64	TLO-3	6	7
ter-65	TLO-3	3	9
ter-69	TLO-2	2	1

A *T. olbiensis*/*T. leptoderma* ITS-szekvenciáinak kromatogramjai közül több esetben látszott olyan „hiba” ami heterogén ITS-re, több haplotípusra utalt (dupla csúcs, vagy egy ponttól „downstream” elcsúszó eltolódott „leolvasás”). A TLO-2 és a TLO-4 csoportban egy-egy ilyen minta volt, míg a TLO-3-as csoport 11 példányából hat volt ilyen. Ezekből amplifikáció után klónoztuk az ITS-szakaszt, és mintánként 12 klón szekvenciáját határoztuk meg. Különböző számú (2–7) ITS-haplotípust azonosítottunk a különböző mintákban, és egy-egy mintában az egyes haplotípusok maximális különbségében is jelentős eltérést találtunk: volt olyan termőtest, melyben akár 12 karakterben is különbözhetett két ITS-haplotípus (**4. táblázat**). Korábban egy másik *Terfezia* fajban is találtak egy hifán belül két haplotípust, ahol ezt heterokariózissal magyarázták. Esetünkben ennek a lehetőségét a hét eltérő változat nehezen teszi elképzelhetővé. Az nrDNS-szakaszoknak, különösen az ITS-régióknak a fajon és mintán/genomon/termőtesten belüli heterogenitása ismert más gombáknál is, és nem kizárt, hogy nem is ritka a gombák körében (SIMON és WEISS 2008).

5.5.2 Egyéb területek sivatagi szarvasgombái

5.5.2.1 Dél-Afrika és Ausztrália sivatagi szarvasgombái

Terfezia fajokat nem csak a Mediterrán régió, Észak-Afrika, és a Közel-Kelet sivatagos, félszáraz területeiről, de más hasonló élőhelyekről, például Dél-Afrikából is leírtak korábban, ahol hasonlóan az észak-afrikai és közel-keleti régiókhoz vagy épp ausztrál területekhez, a sivatagi szarvasgombák nagy szerepet játszottak, játszanak az ott élő őslakosok életében (TRAPPE és mtsai. 2008a, b). A Kalahári-sivatagból a *Terfezia pfeilii* és a *Terfezia austroafricanus* fajokat ismerték. Az előzőről korábban molekuláris taxonómiai módszereket is alkalmazva, bizonyították, hogy az valójában nem *Terfezia* faj, ezért leírták a *Kalaharituber* nemzetséget (FERDMAN és mtsai. 2005). A másik faj taxonómiai revíziója során nem csupán ezt a taxont vizsgáltuk, de más dél-afrikai és ausztrál sivatagi szarvasgombát is bevontunk az összehasonlító morfológiai és molekuláris filogenetikai vizsgálatokba. Az ausztrál területekről négy, korábban már ismert faj (*Elderia arenivaga*, *Mycoclelandia arenacea*, *Mycoclelandia bulundari*, *Redellomyces westraliensis*) esetében a molekuláris filogenetikai vizsgálatok megerősítették azok taxonómiai helyzetét. Egy gyűjtés reprezentált egy olyan ismeretlen szarvasgombát, melynek termőtest-anatómiája is mutatott egyedi jellemzőket, és az nrDNS LSU-szekvenciákon alapuló molekuláris filogenetikai vizsgálatok megerősítették, hogy elkülönülő leszármazási vonalat képvisel, így egy új nemzetséget (utalva a földrajzi régióra, ahol a gyűjtés történt) és fajt írtunk le a Pezizaceae családban:

Taxonómia

***Ulurua nonparaphysata* Trappe, Claridge & Kovács, gen. & sp. nov.¹**

MycoBank MB 513072, MB 513073

Ascomata usque ad 4 cm lata, sulcata, globosa vel turbinata, tomentosa, brunnea. Gleba venis labyrinthinis, vacuis vel hymeniis opponentibus repletis. Sporae hyalinae, late ellipsoideae vel subglobosae, 12–15 × 10–12 µm, verrucis minutis ornatae. Asci in hymenio innati, amyloidei, sporis octo. Paraphyses destitutae. Peridium glebaque cellulismulto inflatis.

Két, nem meghatározott példány esetében jellegzetesen retikulált spórákat láthattunk (27. ábra) ellipszoid aszkuszokban, és ez a jellegzetes morfológia megerősítette a molekuláris filogenetikai eredményeinket, melyek szerint a *Mattiolomyces* nemzetség egy

¹ Trappe, J. M., Kovács, G. M., Claridge, A. W. 2010. Comparative taxonomy of desert truffles of the Australian Outback and African Kalahari. *Mycological Progress* 9: 131–143.

új tagját sikerült azonosítanunk. Annak a sokáig monotipikus nemzetségnek, mely legismertebb és leggyakoribb faja a hazánkban, különösen a Duna–Tisza-közi homokos, elegyes akácosokban gyakori homoki szarvasgomba (*Mattirolomyces terfezioides*). Az ausztrál fajt az aboriginál Ngaatjatjarra nyelvjárásban ezekre (vagy hasonló) gombákra használt szó alapján neveztük el.

Taxonómia

***Mattirolomyces mulpu* Kovács, Trappe & Claridge, sp. nov.¹**

Mycobank MB 513071

Ascomata 3–7 cm lata, turbinata, rugosa. Peridium caespitibus hypharum agglutinarum. Gleba venis irregularibus. Sporae hyalinae, globosae, (13–) 19–21 (–26) μm , reticulo irregulari 2–4 μm alto. Asci in hymenio inordinato, nonamyloidei, 8-spori. Paraphyses hyalinae, 2–4 μm latae. Peridium glebaque cellulis multo inflatis.

A dél-afrikai területekről származó *Eremiomyces echinulatus* és *Kalaharituber pfeilii* szekvenciáit korábbi publikációkból vontuk be a filogenetikai elemzésbe. A *Terfezia austroafricana* faj spórái szintén jellegzetesen retikuláltak (27. ábra), nem véletlen, hogy már anatómiai alapon korábban a *Terfezia* nemzetség akkor éppen alnemzetségeként értelmezett *Mattirolomyces* csoportjába helyezték (MARASAS és TRAPPE 1973). A faj izotípusából nyert szekvenciák az elemzés során egyértelművé tették, hogy ez a faj is a *Mattirolomyces* nemzetségbe tartozik (28. ábra), ezért új kombinációt kellett közölni. Történt azonban egy olyan technikai hiba, aminek jelentős nevezéktani súlya volt. A kefélenyomat utáni javítás során pont a név leírásába került hiba, és az a következő formában került nyomtatásra:

Taxonómia

***Mattirolomyces westraliensis* (Trappe & Marasas) Kovács, Trappe & Claridge, comb. nov.²**

$\equiv$ *Terfezia austroafricana* Trappe & Marasas in Marasas & Trappe, Bothalia 11: 140–141. 1973.

Mycobank MB 513074

Már a bazionímből is világosan látszik, hogy az új kombináció neve nem lehet a nyomtatásba került név. Ezt a nevet a kéziratban bárhol el lehetett volna következmények nélkül rontani, kivéve itt, ezen a helyen, ami valójában a név érvényes publikálásának,

¹ Trappe, J. M., Kovács, G. M., Claridge, A. W. 2010. Comparative taxonomy of desert truffles of the Australian Outback and African Kalahari. *Mycological Progress* 9: 131–143.

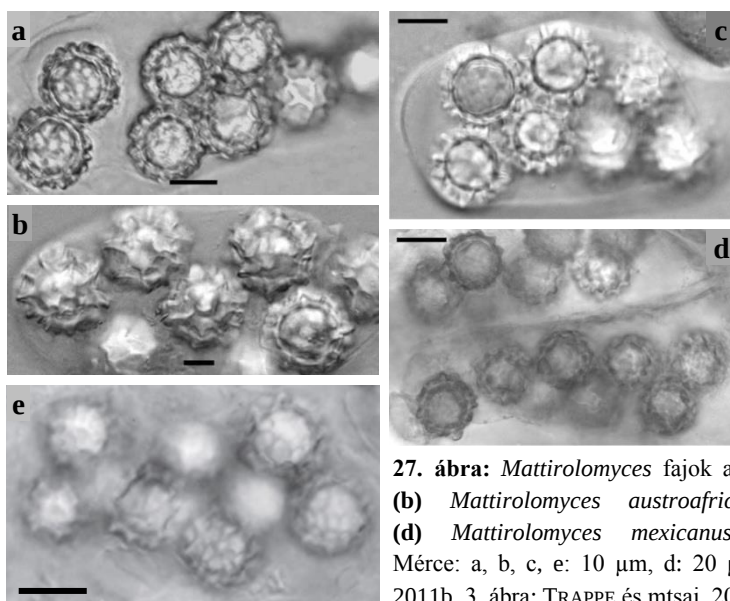
² Trappe, J. M., Kovács, G. M., Claridge, A. W. 2010. Comparative taxonomy of desert truffles of the Australian Outback and African Kalahari. *Mycological Progress* 9: 131–143.

megszületésének a „pillanata”. Természetesen az *Mattirolomyces westraliensis* név érvénytelen, egy rövid közlemény formájában (TRAPPE és mtsai. 2010b) (nevezéktani szabályozások okán akkor még nem lehetett volna más formában korrigálni) megszületett immár az érvényes neve az új kombinációnak:

Mattirolomyces austroafricanus (Trappe & Marasas) Kovács, Trappe & Claridge, **comb. nov.**¹

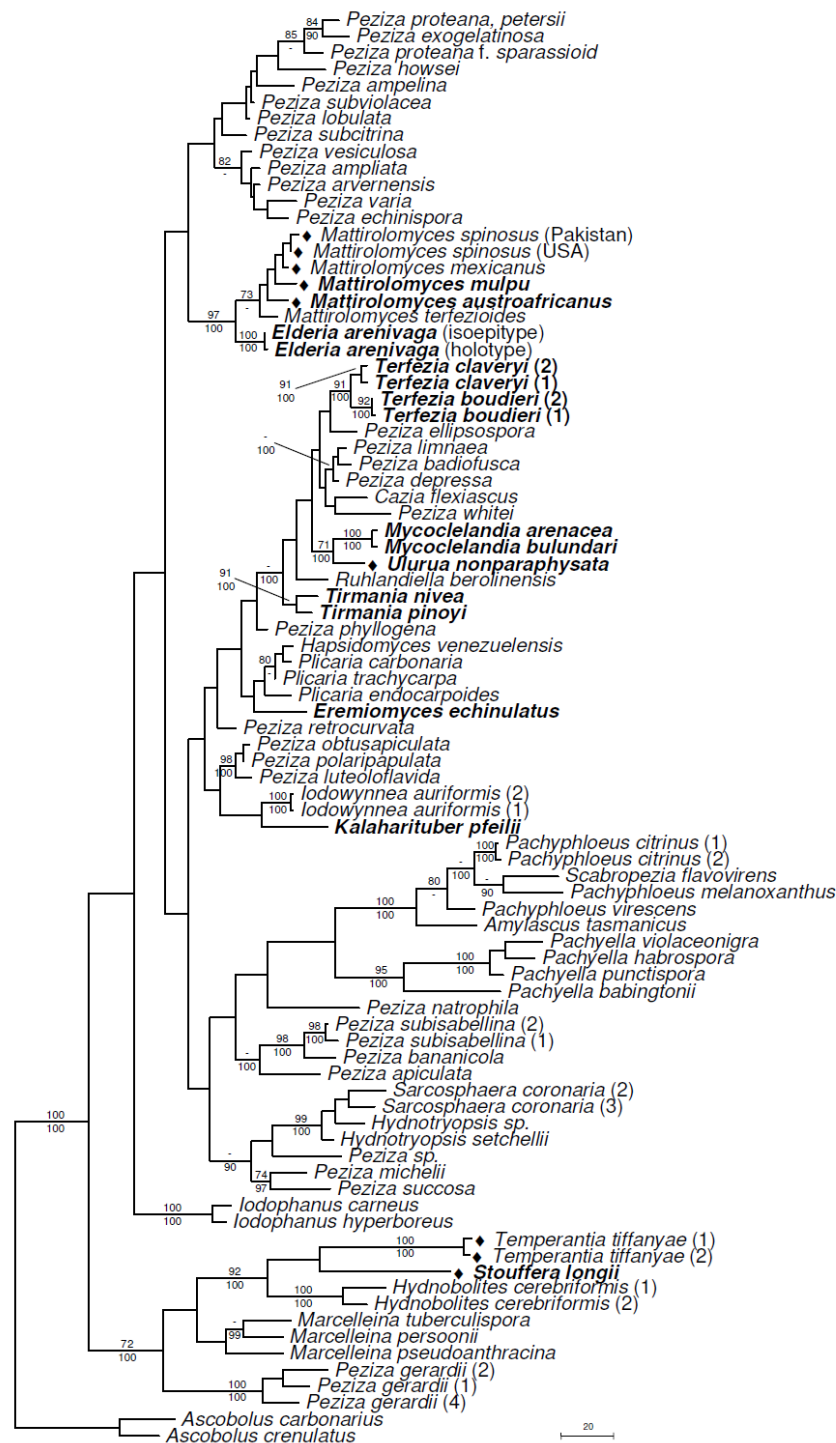
≡ *Terfezia austroafricana* Trappe & Marasas in Marasas & Trappe, Bothalia 11: 140–141. 1973.

Az egyéb eredmények mellett ezzel kimutattuk a korábban monotipikus, csupán Európából ismert *Mattirolomyces* nemzetség jelenlétét a déli féltekén, két különböző kontinensen is. A molekuláris filogenetikai vizsgálatok során a *Redellomyces westraliensis* fajon kívül, mely a Tuberaceae családba tartozik, az összes sivatagi szarvasgomba a csészegombák családjába (Pezizaceae) rendeződött.



27. ábra: *Mattirolomyces* fajok aszkospórái. (a) *Mattirolomyces mulpu* (b) *Mattirolomyces austroafricana* (c) *Mattirolomyces spinosus* (d) *Mattirolomyces mexicanus* (e) *Mattirolomyces terfezioides*. Mércé: a, b, c, e: 10 µm, d: 20 µm. (KOVÁCS és mtsai. 2009, 2. ábra; 2011b, 3. ábra; TRAPPE és mtsai. 2010, 3. ábra; részletek, módosításokkal)

¹ Trappe, J. M., Kovács, G. M., Claridge, A. W. 2010. Validation of the new combination *Mattirolomyces austroafricanus*. *Mycological Progress* 9: 145.

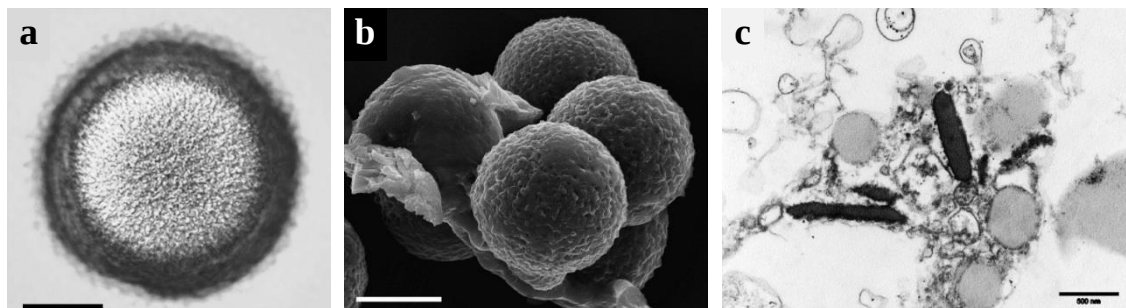


28. ábra: Egyike a 375 leginkább parszimónus törzsfának, mely a sivatagi szarvasgomba fajok (vastagon) filogenetikai helyzetét mutatja a Pezizaceae családban. A fán szereplő általunk leírt taxonokat ♦ jelzi. További szekvenciák LÆSSØE és HANSEN (2007) és TRAPPE és mtsai. (2010a) munkáiból. Az elágazások felett a parszimónia-bootstrap, alatta a Bayes-alapú számítások posterior valószínűségei, 70% illetve 95% alatt nem mutatva. Mércé: 20 változás. (KOVÁCS és mtsai. 2011b, 1. ábra, módosításokkal)

5.5.2.2 Észak-amerikai *Terfezia* és rokon fajok

Észak-Amerikában három szarvasgombafajt (*Terfezia gigantea*, *Terfezia longii*, *Terfezia spinosa*) írtak le korábban a *Terfezia* nemzetségbe tartozóként, ezek közül csak egy, a *Terfezia longii* származott bizonyosan sivatagból, eddigi egyetlen ismert lelőhelye Új-Mexikó egyik nagy sivataga. Mivel a *Terfezia spinosa* egyik lelőhelye Nevada (sajnos pontosabb megjelölés nélkül), ebben az esetben sem zárható ki a sivatagi élőhely, bár a faj több lelőhelye (például folyópartok) még száraznak sem tekinthetők. A fajokból a lehető legtöbb elérhető gyűjteményi példányt megkértük vizsgálatra, a részletes anatómiai jellemzés mellett a molekuláris filogenetikai vizsgálatokhoz a nrDNS SSU-, ITS- és LSU-szakaszait használtuk.

Az egykori *Terfezia gigantea* faj az Asa Gray diszjunkcióként (kelet észak-amerikai és kelet-ázsiai elterjedés) is ismert érdekes biogeográfiai jelenségére példa: a fajt eredetileg Japánban írta le Sanshi Imai (IMAI 1933), ahol rendszeresen gyűjtik, és az Appalache-hegység régiójából számos helyről is előkerült. Japánból 11 gyűjtés, míg az USA területéről 9 gyűjtés mintáit tudtuk vizsgálni, köztük friss mintákat is, melyek transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) vizsgálata fontos adatokkal egészítette ki a munkánkat. A pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) és TEM-eredmények egyértelművé tették, hogy



29. ábra: Az *Imaia gigantea* anatómiai jellemzői. Aszkospóra (a) fénymikroszkópos és (b) pásztázó elektronmikroszkópos képe. Mércé: a,b: 20 μ m. (c) Hengeres, megnyúlt Woronin-testek egy degradálódó hifában (TEM-kép). (KOVÁCS és mtsai. 2008, 8, 9, 11. ábra, módosításokkal)

a korábban leírt apró tüskék, melyek fénymikroszkóppal látszanak (**29. ábra**), feltehetően a spórát borító vastag „kocsonyás” réteg kiszáradása okozta „műtermék”, de biztosan nem a spórák másodlagos falának vastagodása okozta valós ornamentáció (**29. ábra**). A molekuláris filogenetikai elemzések egyértelműek mutatták, hogy a faj nem tartozik a *Terfezia* nemzetségbe. Az elemzésekben ez az új taxon „felbontotta” a korábban feltételezetten a „hosszú ágak vonzása” (long branch attraction, LBA) jelenség miatt együtt rendeződő *Leucangium carthusianum*-*Fischerula subcaulis* taxonpárt (O’DONNELL és mtsai. 1997; LÆSSØE és HANSEN 2007). Ezen korábbi eredmények miatt ezt a két fajt a

Pezizales csoporton belül *incertae sedis* pozícióban állónak is tekintették családszinten (O'DONNELL és mtsai. 1997), de az SSU-szekvenciák elemzésekor mintáink a *Leucangium carthusianum* fajjal testvércsoporti helyzetben, a *Fischerula subcaulis* pedig máshol leágazva, de szintén nagyon erős támogatottsággal a Morchellaceae családba rendeződtek, megerősítve ezt a korábban is meglévő álláspontot (LÆSSØE és HANSEN 2007). A családpozíciót számos egyéb jellemző is alátámasztotta. Már az amplifikációnál látszott, hogy a taxon ITS-régiója jóval hosszabb (kb. 900 bázispár), mint a *Terfezia* fajoké (kb. 600 bázispár), a Morchellaceae fajoknál gyakran találkozhatunk ilyen hosszú, vagy akár hosszabb ITS-régiókkal. A gomba hosszúkás alakú Woronin-teste (29. ábra) és a szeptum pórusok szerveződése mind a Morchellaceae család jellegzetességeit mutatták (KIMBROUGH 1994). Az aszkospórákban számos (több mint négy) sejtmagot mutattunk ki, ami szintén jellemző ebben a családban. A *Lecuangium carthusianum* faj részletes ultrastrukturális vizsgálatai során hasonló jellemzőket találtak (LI 1997), ami összhangban van a két taxon filogenetikai csoportosulásával. Eredményeink alapján indokoltnak tartottuk a faj számára egy új nemzetség elkülönítését, melyet az eredeti taxon leírójáról neveztünk el.

Taxonómia

Imaia Trappe and Kovács, **gen. nov.**¹

MycoBank number: MB512081

A *Terfeziis* sporis grandissimis (35–) 42–62 (–69) µm episporam includentibus, epispora amorpha 2–5 µm crassa, canales minutos, sinuosos continenti, et ordinibus DNA divergentibus differt. Species typica: *Terfezia gigantea* Imai.

...

Imaia gigantea (Imai) Trappe & Kovács, **comb. nov.** Figs. yyy

Basionym: *Terfezia gigantea* Imai, Proc. Imp. Acad. Japan 9: 184. 1933

= *Picoa pachyascus* M. Lange, Mycologia 48: 877. 1956.

A *Picoa pachyascus* fajról már TRAPPE és SUNDBERG (1977) megállapította, hogy a *Terfezia gigantea* egy fiatal példánya alapján írhatta le LANGE (1956), és ezt az előbbi típusanyagából nyert ITS-szekvenciák is teljes mértékben megerősítették. A különböző gyűjtésekből származó egyedek vizsgálata során nem találtunk semmilyen egyértelmű anatómiai különbséget a japán és az észak-amerikai példányok között, bár az nrDNA különböző szakaszain jelentősebb különbségek is mutatkoztak a két terület példányainak szekvenciái között (például ITS1: 4,11%; ITS2: 6,25%). Ettől függetlenül nem tar-

¹ Kovács, G. M., Trappe, J. M., Alsheikh, A. M., Bóka, K., Elliott, T. F. 2008. *Imaia*, a new truffle genus to accommodate *Terfezia gigantea*. *Mycologia* **100**: 930–939.

tottuk megalapozottnak egy külön észak-amerikai fajt elkülöníteni. Több növényfaj esetében, melyeknél korábban Asa Gray diszjunkciót feltételeztek, később kimutatták, hogy valójában nem monofiletikusak (lásd WEN 1999). Számos hasonló elterjedésű gomba ismert (lásd például WU és MUELLER 1997), és később, biogeográfiai elemzések volt, hogy támogatták, vagy épp megkérdőjelezték a diszjunkt gyűjtések példányainak konspecifikusságát (WU és mtsai. 2000; MUELLER és mtsai. 2001). Habár csábító lehet faji szinten elkülöníteni a két területen előforduló gombákat, ezt mi nem tartottuk indokoltnak, természetesen ez a döntés a későbbiekben ez felülíródhat. Egy esetleges új név megjelenésének azonban komoly jelentősége lehet, hiszen az *Imaia gigantea* termőestek ehetők, és egyre nagyobb érdeklődéssel gyűjtik is őket étkezési célokra az észak-amerikai lelőhelyeken.

A molekuláris filogenetikai elemzések során a másik két korábbi *Terfezia* nemzetségbe sorolt faj a Pezizaceae családba rendeződött (**28. ábra**), de egyértelműen elkülönültek a *Terfezia* nemzetséget is magába foglaló leszármazási vonaltól. A *Terfezia longii* a csoport bazális részén, minden ismert nemzetségtől és korábban kijelölt leszármazási vonaltól elkülönülten ágazott le (**28. ábra**), számára egy új nemzetség elkülönítése volt indokolt. GILKEY (1947) a faj leírásakor azt, a példány két gyűjtője közül W. H. LONG után nevezte el; a fajt a másik gyűjtő, D. J. STOUFFER tiszteletére elnevezett új nemzetségbe soroltuk át.

Taxonómia

***Stouffera* Kovács and Trappe gen. nov.¹**

Mycobank MB519284

A *Terfezia* ac *Mattirolomyces* excipulo verrucoso, papillulis rotundatis in pagi sporarum inter parietes reticuli et ordinibus DNA differt.

...

***Stouffera longii* (Gilkey) Kovács and Trappe comb. nov.** Figs. yyy

≡ *Terfezia longii* Gilkey, Mycologia 39: 448. 1947.

≡ *Tuber argentinum* var. *pamparum* Speg., Anal. Mus. Nac. B Aires

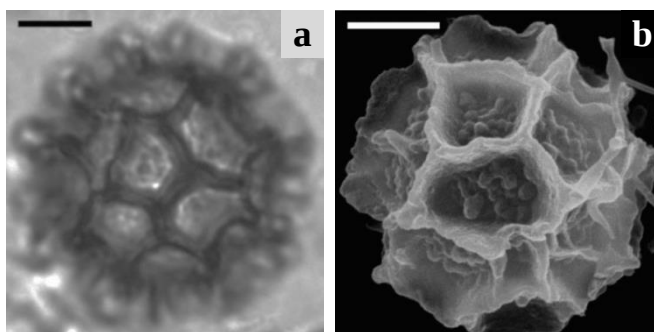
Ser. 3, 12: 423. 1909.

Mycobank MB519285

A fajnak nagyon jellegzetes, egyedi spóramintázata figyelhető meg, ezt korábban is leírták már (GILKEY 1947), igaz a SEM-vizsgálatok mutatták meg pontosan a mintázatot, melyet csak megfelelő festés és 1000-szeres nagyítás mellett lehet fénymikroszkópban megfigyelni (**30. ábra**). Gilkey feljegyzéseket írt a *Tuber argentinum* var. *pampa-*

¹ Kovács, G. M., Trappe, J. M., Alsheikh, A. M., Hansen, K., Healy, R. A., Vági, P. 2011. *Terfezia* disappears from the American truffle mycota as two new genera and *Mattirolomyces* species emerge. *Mycologia* **103**: 831–840.

rum herbáriumi anyagára, hogy véleménye szerint ez a *Terfezia longii* példánya. Habár nem sikerült szekvenciaadatokat nyernünk ebből az anyagból, a SEM megerősítette a jellegzetes és nagyon egyedi spóraornamentáció meglétét



30. ábra: A *Stouffera longii* jellegzetes aszkospórájának (a) fénymikroszkópos és (b) pásztázó elektronmikroszkópos képe. Mércé: a–b: 5 µm. (KOVÁCS és mtsai. 2011b, 3. ábra, részlet, módosításokkal)

ennél az anyagnál is (**30. ábra**). Többek között ez a jellemző, pontosabban ennek hiánya, tartotta GILKEY-t (1947) vissza attól, hogy *Terfezia longii*-ként kezelje a *Terfezia spinosa* Louisiana területéről, egy folyó mellől gyűjtött első példányait. Ezen kívül ez utóbbi faj gyűjteménybe kerültek még példányok Nevadából, Mexikóból, sőt Pakisztánból, Lahore mellől is. A molekuláris filogenetikai vizsgálatok egyértelműen megmutatták, hogy GILKEY-nek igaza volt, ezek nem csak a *Terfezia*, de a *Stouffera* nemzetségtől is elkülönülnek, és valójában a *Mattirolomyces* nemzetség egy újabb faját képviselik (**27, 28. ábra**).

Egy korábban Mexikó területén gyűjtött, pontosan nem azonosított anyag, szintén mutatott hasonlóságokat ezekkel a szarvasgombákkal, és ezért bevontuk az elemzésünkbe. Mind a morfológiai jellemzők (**27. ábra**), mind a molekuláris filogenetikai vizsgálatok megerősítették, hogy egy új *Mattirolomyces* fajt sikerült azonosítanunk.

Taxonómia

Mattirolomyces spinosus (Harkn.) Kovács, Trappe & Alsheikh **comb. nov.**¹
Figs. yyy

≡ *Terfezia spinosa* Harkn., Proc. Calif. Acad. Sci., Ser. 3, 1: 277. 1899.

MycoBank MB519282

Mattirolomyces mexicanus Kovács, Trappe & Alsheikh **sp. nov.** Figs. yyy
MycoBank MB519283

A *Mattirolomycetibus* ceteris ornamento sporarum grosse verrucoso-reticulato verrucis conicis interdum latis quam altis, 1–4(–5) 3 (0.5)1.5–3(–4) µm, saepe lineis vel cristis usque ad 3 µm altis connexis et ascis sporis 4–7(–8) differt.

¹ Kovács, G. M., Trappe, J. M., Alsheikh, A. M., Hansen, K., Healy, R. A., Vági, P. 2011. *Terfezia* disappears from the American truffle mycota as two new genera and *Mattirolomyces* species emerge. *Mycologia* 103: 831–840.

Ezzel a *Mattirolomyces* nemzetség jelenlétét egy újabb kontinensről igazoltuk, a nemzetségbe tartozó fajok száma pedig ötre emelkedett. Nevezéktani szempontból azonban nem ezek voltak az első *Mattirolomyces* fajok Észak-Amerikában, mivel HEALY (2003) mikroszkopikus jellemzők, és részletes ultrastruktúrális vizsgálatok során korábban leírta a *Mattirolomyces tiffanyae* fajt Iowában gyűjtött szarvasgombák alapján. Számos olyan bélyeggel is bírt a gomba (pl. spóraornamentáció), ami különbözik a *Mattirolomyces*-típusú spóradíszítettségétől (27. ábra), de az akkor még monotipikus nemzetség nem adhatott elegendő támpontot a leírónak. A molekuláris filogenetikai elemzéseink egyértelműen igazolták, hogy ez a gomba nem tartozik a *Mattirolomyces* nemzetségbe, sőt elkülönül minden egyéb nemzetségtől és leszármazási vonaltól a Pezizaceae családban (28. ábra). A faj számára egy új nemzetséget írtunk le, nevében annak a kutatónak személyiségére utalva, akiről korábban a fajt elnevezték.

Taxonómia

Temperantia K. Hansen, Healy & Kovács **gen. nov.**¹

Mycobank MB519286

Peridium constans ex textura intricata. Gleba a peridio non separabilis, solida, marsupiiis fertilibus et venis in sicco cremicoloribus. Asci sporis 1–4, paraphyses carentes. Sporae hyalinae, uniguttulatae, globosae, e verrucato porcatae. A *Hydnobolites* ac *Mattirolomycete* ordinibus DNA differt.

...

Temperantia tiffanyae (Healy) K. Hansen, Healy and Kovács **comb. nov.**

Figs. yyy

≡ *Mattirolomyces tiffanyae* Healy, Mycologia 95:766. 2003.

Mycobank MB519308

A *Temperantia* a *Stouffera* szekvenciákkal rendeződött együtt egy elkülönülő, hosszú leágazásba, és a két taxon kládja monofiletikus csoportot alkotott a *Hydnobolites* nemzetséggel (28. ábra). Habár kellő óvatossággal kell ezt a csoportosulást kezelni, hiszen nem zárható ki, hogy csupán LBA-műtermék, a *Temperantia* számos morfológiai hasonlóságot is mutat a *Hydnobolites* fajokkal.

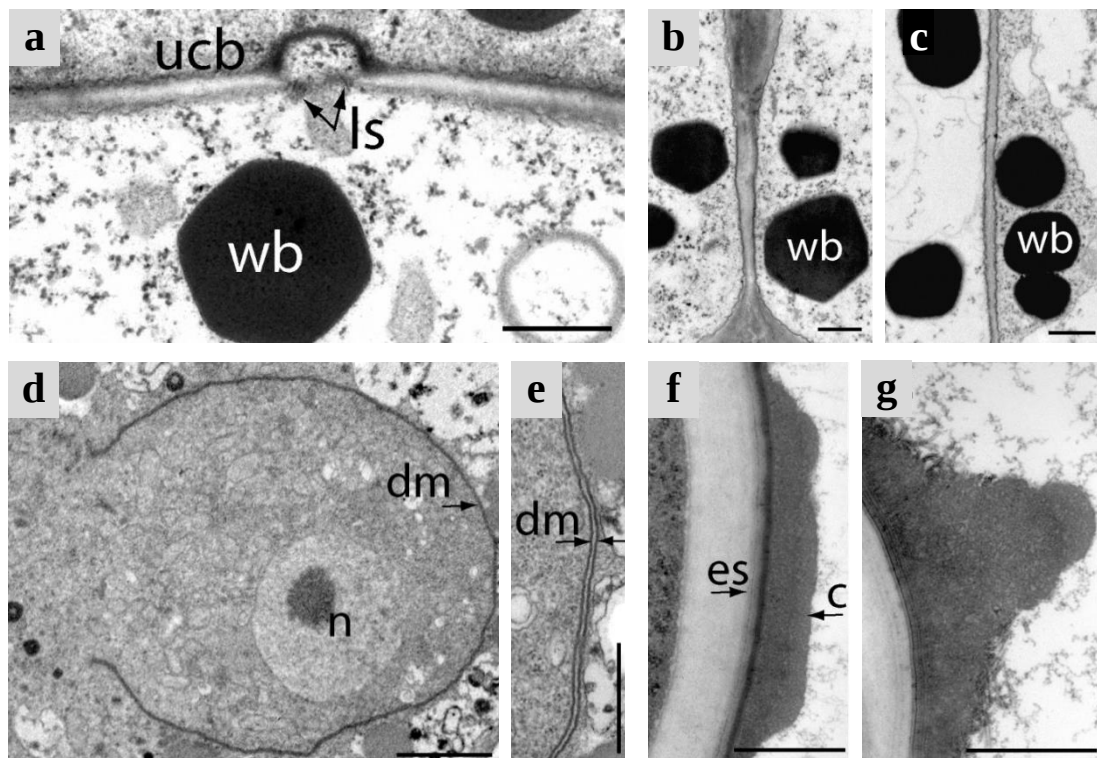
¹ Kovács, G. M., Trappe, J. M., Alsheikh, A. M., Hansen, K., Healy, R. A., Vági, P. 2011. *Terfezia* disappears from the American truffle mycota as two new genera and *Mattirolomyces* species emerge. *Mycologia* 103: 831–840.

5.5.3 A *Mattirolomyces terfezioides* vizsgálatai

5.5.3.1 Ultrastruktúra

Az ultrastruktúra-jellemzők fontos rendszertani információkkal bírnak a csészegombák körében (KIMBROUGH 1994), ahogy például az az *Imaia gigantea* család szintű besorolásánál is látható volt. A *Mattirolomyces/Elderia* leszármazási vonal úgy tűnik, hogy nem illeszkedik a korábban elkülönített „finom skálás” *Pezizaceae* vonalakba (sensu HANSEN és mtsai. 2005). A *Mattirolomyces (Temperantia) tiffanyae* faj eredeti leírásában nagy hangsúlyt kapott a részletes ultrastruktúra-vizsgálat, viszont a faj téves taxonómiai besorolása miatt valójában nem a *Mattirolomyces* nemzetségről adott ilyen jellegű információt.

A nemzetség típusfaja és – a korábban részletezett új fajleírások és átsorolások előtt – egyedüli képviselője az a *Mattirolomyces terfezioides*, amely hazánkban homoki szarvasgombaként ismert, és homoki elegyes akácosok gyakori, nagy tömegben gyűjtött gombája. A szarvasgomba nagy mennyiségben képez rendszeresen termőtesteket az általunk vizsgált virginiai holdruta élőhelyén, a Kunfehértói holdrutás erdőben is. Az itt



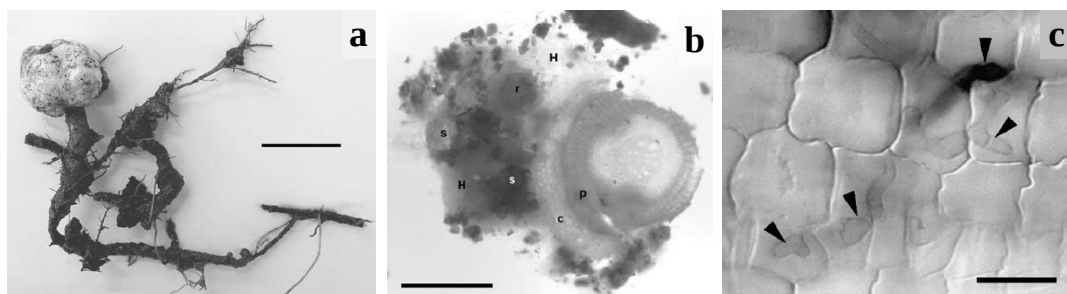
31. ábra: A homoki szarvasgomba (*Mattirolomyces terfezioides*) ultrastrukturális jellemzői. (a) Nem-aszkogén hifa, szeptumpórus unikonvex sávval (ucb), lemezes struktúrával (ls) és hatszögletű Woronin-testtel (wb). (Mérce 200 nm) (b–c) Nem-aszkogén hifák különböző alakú Woronin-testei (Mérce: b: 500 nm, c: 250 nm). (d) Aszkospóra iniciális és ennek (e) lehatároló dupla membránja (Mérce: d: 2 μ m, e: 500 nm; n: sejtmag, dm: határoló membrán). (f) Másodlagos spórafalfejlődés késői stádiuma és (g) mintázat tüskéjének fejlődése. (Mérce: f, g: 500 nm; es: epispora, c: sapkaanyag, másodlagos fal) (HEALY és KOVÁCS 2010, 3, 10, 11, 13, 14, 24, 25. ábrák, módosítással)

gyűjtött, különböző fejlődési állapotban lévő termőtestekből megfelelően fixált és előkészített anyagokon vizsgálni tudtuk az ultrastrukturális jellemzőket. Általánosságban megállapítottuk, hogy a Pezizaceae családra jellemzőket (például az aszkogén és nem-aszkogén hifák szeptumpórusainak szerveződése) tudtuk azonosítani az *Mattirolomyces terfezioides* termőtestek TEM-vizsgálatai során (**31. ábra**). A homoki szarvasgomba spórafelődésének kezdete kettős membránnal történő lehatárolódással indul (**31. ábra**), ami előfordul más Pezizaceae fajoknál is (például *Ascodesmis* (MIMS és mtsai. (1990)), viszont a sivatagi gombák egyes *Terfezia* fajainál a lehatárolódás egyrétegű membránnal kezdődik, és csak ezután épül ki a második membránréteg (JANEX-FAVRE és PARGUEY-LEDUC 1985; JANEX-FAVRE és mtsai. 1988). A homoki szarvasgomba fejlődő spórafalán, a másodlagos vastagodás közben, az ornamentáción megjelenik egy sapkaszerű elkülönülő réteg (**31. ábra**). Ez hasonló szerveződésű, mint ahogy számos más Pezizaceae taxonnál leírták (*Hydnobolites* (KIMBOROUGH és mtsai. 1991), *Pachyphloeus* fajok (BÓKA és mtsai. 1992), nyolc *Peziza* faj (DYBY és KIMBOROUGH 1987)), viszont más, mint a *Terfezia* fajokban, ahol ez az elkülönülő réteg nem csak az ornamentáció csúcsát, de az egész másodlagos spórafalat borította (JANEX-FAVRE és PARGUEY-LEDUC 1985; JANEX-FAVRE és mtsai. 1988). A korábban *Mattirolomyces* nemzetségbe tartozó *Temperantia tiffanyae* fajnál viszont szerkezetében teljesen más, tubuláris szerveződésű ez a sapkaszerű réteg (HEALY 2003). A nem-aszkogén hifák pórusainál sokszor jelentős számban fordultak elő Woronin-testek, ezek között azonban többnek szögletes az alakja (**31. ábra**), ilyen formájú Woronin-testet, habár más tömlősgombánál előfordul (lásd CURRY és KIMBROUGH 1983; KIMBROUGH 1994), a Pezizaceae családból nem írtak le korábban. Annak ellenére, hogy nincs pontos ismeretünk arról, hogy az egyes ultrastrukturális jellemzők milyen rendszertani szinten használható karakterek a csészegombáknál, eredményeink összhangban vannak azzal, hogy a *Mattirolomyces* nemzetség korábbi *Terfezia* nemzetségbe való sorolása nem volt helyes, és hogy a *Temperantia* nemzetség ezen bélyegek alapján is markáns különbségeket mutat a *Mattirolomyces terfezioides* fajtól, támogatva ezzel a fentebb bemutatott nemzetségszintű szétválasztást.

5.5.3.2 Gazdanövények, szklerócium, lelőhelyek

A *Mattirolomyces terfezioides* hifáira jellemző egyedi ultrastrukturális bélyegeinek együttese jelentős segítség lehetett volna a homoki szarvasgomba természetes partnernövényeinek azonosítása során. Annak ellenére, hogy a szarvasgombákat általában mikorrhizaképzőknek tekintjük, és például a sivatagi szarvasgombafajok (*Terfezia*) kö-

zül is vannak olyanok, melyekkel beoltanak növényeket, így hozva létre termőterületeket (MORTE és ANDRINO 2014; HONRUBIA és mtsai. 2014), a homoki szarvasgomba táplálkozási stratégiájával és esetleges partnernövényeivel kapcsolatban számos kérdés felmerült korábban is, köztük az is, hogy a faj mikorrhizaképzőnek tekinthető-e (KOVÁCS és mtsai. 2003). A Kunfehértói holdrutás erdő mikorrhizáltsági státuszvizsgálatakor a gyökerek fénymikroszkópos vizsgálata alapján vizsgáltuk a szarvasgomba potenciális partnereit (KOVÁCS és BAGI 2001). Ennek pontosabb vizsgálatához a faj nrDNA ITS-szakaszára tervezett fajspecifikus diagnosztikai PCR segítségével vizsgáltuk a holdrutás erdőben a homoki szarvasgomba termőtestek környékén előforduló növények gyökereit. Négy fásszárú (*Celtis occidentalis*, *Crataegus monogyna*, *Ligustrum vulgare*,



32. ábra: A homoki szarvasgomba (*Mattirolomyces terfezioides*) (a) hifatömörödései gyökerek körül és egy fiatal termőtest (Mérce: 2 cm). (b) Egy hifatömörödés kézi keresztmetszete, gyökérrel együtt (Mérce: 0,5 mm). H hifa tömörödés, s: homokszemcsék, r: egy vékonyabb gyökér, c: elsődleges kéreg maradéka, p: periderma. (c) A gomba gyenge kolonizációját sejtető hifák a *Viola cyanea* gyökerében (Mérce: 20 µm) (KOVÁCS és mtsai. 2007, 1, 3, 6. ábra, módosításokkal)

Robinia pseudoacacia) és három lágyszárú (*Muscari racemosum*, *Salvia glutinosa*, *Viola cyanea*) növény gyökerének mintáiból kaptunk pozitív PCR-eredményt, és szintelenítéses, festékes vizsgálatok során mindegyik növény gyökerében találtunk a *Mattirolomyces terfezioides* kolonizációjára utaló struktúrákat (32. ábra). Sajnos azonban hiába került fixálásra és TEM-vizsgálat előkészítésére sok gyökérminta, ezek egyikében sem találtunk olyan részeket, melyeket biztosan a *Mattirolomyces terfezioides* kolonizált volna. A gyűjtések során érdekes, talajt is magába záró hifatömörödések találtunk (32. ábra), ezek kisebb-nagyobb méretűek voltak, de minden esetben növények gyökerét is magukba zárták, azokon alakultak ki (32. ábra). Feltehetően ezekre a képletekre utaltak korábbi magyarországi gyűjtések beszámolóí során is, mint „rooting stalk” (KIRÁLY és BRATEK 1992). A fenti fajok közül az ostorfa, a galagonya, az akác és az ibolya gyökerein találtunk ilyen képleteket. Érdekes módon, a termőtestek minden esetben kapcsolódtak ilyen képletekhez. Emiatt ezeket a faj szkleróciumának tekinthetjük, hasonlóan a kucsmagombáknál megfigyeltekhez (BUSCOT 1987, 1994; BUSCOT és ROUX 1987), ahol a szkleróciumként értelmezett hifa-aggregátumok szintén gyökereken

fejlődtek. A hasonlóságok mellett alapvető különbségek is vannak; a kucsmagombák képeznek szkleróciumot tiszta tenyészetben is (például BUSCOT 1993; VOLK és LEONARD 1989), míg ilyen a homoki szarvasgombánál nem figyeltünk meg, és a hifatömörödések szerveződésében is mutatkoztak különbségek. Nincs arról tudomásunk, hogy a korábban bemutatott többi *Mattirolomyces* faj esetében találtak-e hasonló képleteket a termőtestek alatt. A képletről azonban könnyen leválnak a termőtestek, így ha nem kiássák azokat, csak „felveszik”, mikor eléri a felszínt az érés során, ez könnyen elkerülheti a gyűjtők figyelmét. Egyéb sivatagi szarvasgombák esetében AWAMEH és ALSHEIKH (1979) tett említést hasonló termőtesthez kapcsolódó képletekről, melyet „nombril-navel” megnevezéssel illettek.

A fent bemutatott széles gazdakör, különösen azt szem előtt tartva, hogy ezen növények mindegyike AM-képző, tovább erősítette azt az elképzelést, hogy a *Mattirolomyces terfezioides* nem tekinthető mikorrhizaképzőnek. Ha ez így van, akkor ez nagy valószínűséggel a nemzetség többi fajára is igaz lehet. Az ektomikorrhizas életmód filogenetikai áttekintése során TEDERSOO és mtsai. (2010) bizonytalan, de inkább nemleges véleményt formáltak, miszerint a *Mattirolomyces/Elderia* nagy valószínűséggel a *Peziza* sensu stricto csoportba rendeződik a csészegombák családján belül, mely csoportban nem ismert ECM-képző gomba.

A faj lelőhelyei sem mikorrhizas életformára utalnak. Már MATTIROLLO (1887), a faj leírásakor is beszámolt arról, hogy a fajt mezőgazdasági művelés alatt álló földeken (például spárgatermesztő területen) is rendszeresen gyűjtik. Gyakran előkerül városi környezetben is, például a *Terfezia* fajok madridi gyűjteményének revíziójakor említett negyedik, *Terfezia claveryi*-ként tévesen határozott példányról megállapítottuk, hogy valójában a homoki szarvasgomba egy termőteste, melyet Madrid belterületén a Retiro körzetben gyűjtöttek (nem derül ki, hogy a parkban vagy máshol). Ez jelenleg a faj legnyugatibb lelőhelye. Hiába lehetett már mikroszkopikus jellemzők alapján (a spórák speciális retikuláltsága, aszkuszának alakja) sejteni, hogy nem a *Terfezia* nemzetségbe tartozik, a földrajzi régió miatt feltehetően nem is gondolta senki, hogy nem *Terfezia* fajt gyűjtött. A faj legkeletibb lelőhelye szintén egy városhoz köthető: Pekingben gyűjtöttek egy példányt (erről régóta lehetett „sejteni”, hogy valójában *Mattirolomyces terfezioides*), majd később Peking környéki tartományokból is előkerültek további példányok. Az ezeket megerősítő molekuláris taxonómiai vizsgálatot nemrég publikálták (WANG és mtsai. 2017).

5.6 Molekuláris taxonómiai és filogenetikai módszerek fejlesztése

5.6.1 A gombák DNS-vonalkódja

Egy rendszeresen felmerülő igény, hogy miként lehet gyorsan, hatékonyan és nagy biztonsággal azonosítani fajokat, köztük gombafajokat is, lehetőleg úgy is, hogy nem kell az adott csoport tapasztalt szakértőjévé válni és/vagy akkor is, ha az adott élőlényből csak minimális, másfajta azonosítást lehetővé nem tevő minta áll rendelkezésünkre. Természetesen ez nem választható el teljesen a fajfogalmak és fajfelismerési kritériumok mikológiai problémáitól (lásd TAYLOR és mtsai. 2000 áttekintése), azonban fontos hangsúlyozni, hogy ebben a megközelítésben egy merőben gyakorlati, technikai kérdésről van szó. Ez az alapvető igény, együtt a DNS-alapú molekuláris technikák fejlődésével indította el a DNS-vonalkód („DNA barcode”) kezdeményezést (HEBERT és mtsai. 2003). A kezdeti cél, hogy minden élőlénycsoportra érvényesen találjunk egy fajok azonosítására alkalmas univerzális DNS-régiót, nem meglepő módon, meghiúsult. Az élővilág DNS-vonalkódjaira fókuszáló kezdeményezésen ’The Consortium for the Barcode of Life’ (CBOL) belül elkülönülnek a nagyobb élőlénycsoportok DNS-vonalkódját vizsgáló kutatóegyettesek. A gombák faj szintű azonosítását lehetővé tevő vonalkód megtalálására alakult konzorcium kutatási stratégiája az volt, hogy a biztos alapokon nyugvó elemzésekhez pontosan azonosított anyagokból származó, megfelelő reprezentációval bíró (egy fajt legalább két példány/gyűjtés, egy nemzetséget lehetőleg több mint egy faj képviseljen) mintasorból nyert adatokat gyűjtsön (SCHOCH és mtsai. 2012). A vizsgálatok során az nrDNA SSU, ITS és LSU szakaszai, továbbá az RPB1-lókusz összehasonlító elemzése volt a cél.

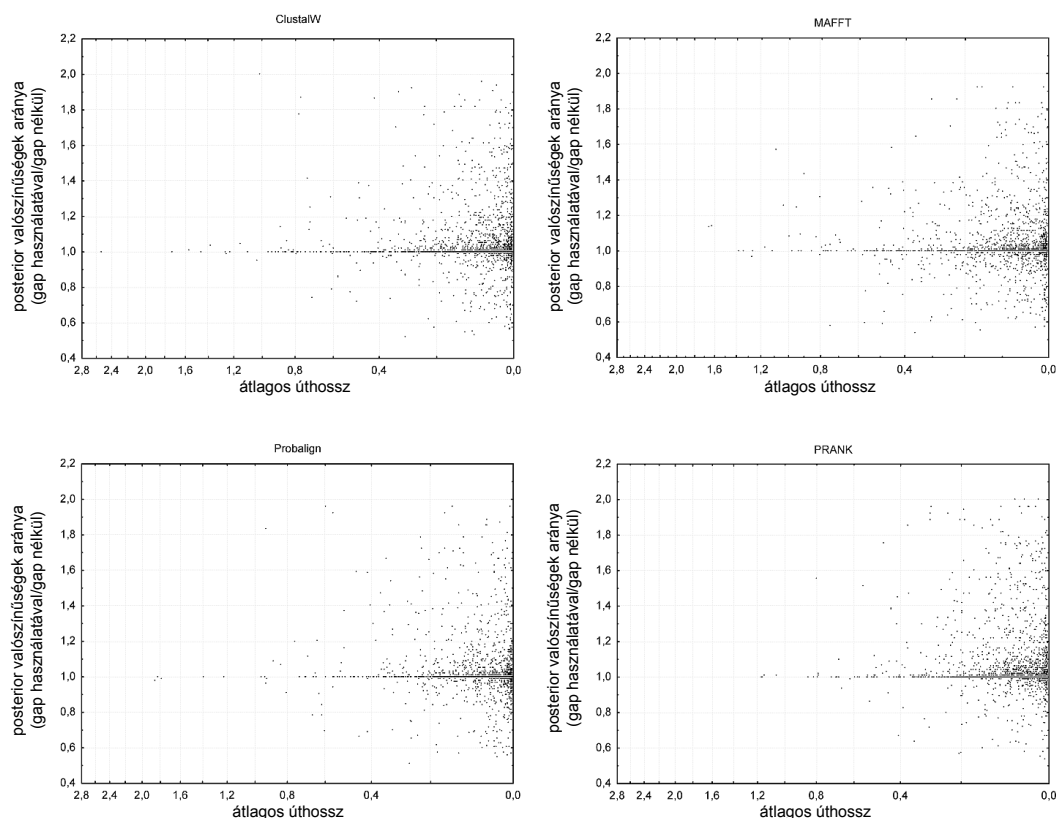
Az előzőekben bemutatott sivatagi szarvasgombákon végzett taxonómiai munkáink alapján csatlakoztunk a gombák DNS-vonalkódjának kidolgozásához: a revideált madridi gyűjteményből öt *Terfezia* faj (*Terfezia alsheikhii*, *Terfezia arenaria*, *Terfezia claveryi*, *Terfezia leptoderma*, *Terfezia olbiensis*) bizonyosan az adott taxonhoz tartozó példányaiból szekvenáltuk meg a célrégiókat. A „helyes azonosítási valószínűség” (PCI) és az úgynevezett „barcode-gap” lókuszonkénti és kombinált lókuszonként történő analízisei az összes adatra és a nagyobb gombacsoportokra külön-külön is elkészül-

tek. A gombacsoportok között jelentős különbségek adódtak, és a kalkulált paraméterek tág tartományban mozogtak, hasonlóan az egyes lókuszok amplifikálhatóságához. A Pezizomycotina csoportban, ahová a mi adataink is tartoztak, az RPB1 jobbnak bizonyult, mint az ITS, ezután következett az LSU, és hasonlóan a legtöbb csoporthoz az SSU mutatta a legrosszabb értékeket. Összességében is hasonló volt az eredmény, az RPB1 kis mértékben megelőzte az ITS-szekvenciákat. Az amplifikálhatóságban azonban az ITS-szakasz minden csoport esetében messzemenően felülmúlta az RPB1-szakaszt. Ráadásul, ahogy ezt a *Terfezia* fajoknál is tapasztaltuk, a sikeres amplifikálhatóság is jóval nagyobb kihívás az RPB1-szakasz esetében, mint a robusztus ITS PCR-nél. Ezek olyan mértékű és jelentőségű előnyök, melyek a fent említett gyakorlati szempontokat szem előtt tartva, meghaladják azt a minimális hátrányt, amit az esetleges kissé rosszabb felbontás jelent. Mindezek alapján a konzorcium a gombák hivatalos vonalkódjának az nrDNS ITS-szakaszát javasolta, és ezt később jóvá is hagyták.

Természetesen, ez nem jelenti azt, hogy az ITS-szakasz vonalkódként való használata problémamentes, és például minden gombacsoportban valóban alkalmas a fajok elkülönítésére (KISS 2012). Az egyik korlát az ITS-régió genomon/mintán belüli nem is ritka heterogenitása, mely, ahogy a korábbiakban bemutatásra került, például az elemzésbe vont *Terfezia* nemzetség egyik kládjában is jelentős mértékű volt. Ebben a helyzetben valójában nem jelölhető ki egy olyan fajhoz rendelhető szekvencia, ami megfelelne a vonalkóddal kapcsolatos elvárásoknak. Vannak olyan gombacsoportok, ahol az ITS nem alkalmas a fajok elkülönítésére, mint például a *Fusarium* nemzetség (O'DONNELL és mtsai. 2010) vagy egyes *Aspergillus* és *Penicillium* csoportok esetében (lásd PETERSON 2012). Az ITS-régió DNS-vonalkódként való alkalmazása az obligát biotróf növénypatogén lisztharmatgombák (Erysiphales) esetében több szempontból is problémás lehet (KISS 2012), egyes csoportjaiknál kimutattuk a mintán belüli heterogenitást (KOVÁCS és mtsai. 2011c), ami nem olyan mértékű, mint a sivatagi szarvasgombák vizsgálatánál kimutatott heterogenitás, mégis gondot jelenthet, hiszen a lisztharmatgombák között vannak olyan „jó fajok”, melyek ITS-szekvenciái között csupán 1–2 karakter különbség mutatkozik. Mint minden módszernek, így az nrDNS ITS DNS-vonalkódként való alkalmazásának is megvannak tehát a korlátai, amiket nem szabad figyelmen kívül hagynunk annak alkalmazásakor, vagy az ezen alapuló eredmények interpretálásakor.

5.6.2 Indel-motívumok az nrDNS ITS-alapú filogenetikai elemzésekben

A gombák nrDNS ITS-szekvenciái nem csupán DNS-vonalkódként használhatók, de már a korai munkákban is használták azokat molekuláris filogenetikai elemzésekben. Általánosan elterjedt az a vélemény, hogy az ITS szekvenciák, heterogenitásuk miatt a gombák esetében leginkább nemzetségeken belül, (közel-) rokon fajok filogenetikai elemzésekor használhatók. Illesztéseik a gyakori – és sokszor jelentős – hosszkülönbségek miatt gyakran tartalmaznak „gap”-eket, melyek inzerciók/deléción (indel) események „lenyomatai”. Ezek az események valós evolúciós változások, így ignorálásuk a filogenetikai elemzésekben fontos információvesztést eredményezhet. A fehér szarvasgombák korábban bemutatott ECM-vizsgálati eredményeinél is látható volt, hogy az ITS-szekvenciák illesztésében megjelenő „gap” motívumok akár monofiletikus csoportokhoz is rendelhetők, mint „shared” karakterek, tovább erősítve az adott csoportok megbízhatóságát. Természetesen, az illesztésekre, és ezáltal az elemzések eredményeire,



33. ábra: Az 115 nrDNS ITS-adatsorból az indel-motívumokkal és azok nélkül számított filogenetikai fák kongruens elágazásaihoz tartozó posterior valószínűségek arányai az elágazások „mélységének” (az elágazáshoz tartozó átlagos úthossz) függvényében, a négy különböző alignment-készítő algoritmus esetén. Az átlagos úthosszt logaritmikus skálán, fordítva ábrázoltuk, a filogenetikai fák megszokott ábrázolása miatt. (NAGY és mtsai. 2012, Supplement 2-es ábra, módosítással)

óriási hatással bíró sokszoros illesztési algoritmusok/programok (és ezek beállításai), jelentősen különböznek a „gapek” kezelésében is.

Több, mint száz, gombák körében korábban filogenetikai elemzésekhez használt és publikált ITS-adatsor újraelemzésével arra kerestük a választ, ha az adatsorok négy gyakran használt illesztőprogrammal (algoritmussal) kerülnek illesztésre, és filogenetikai vizsgálatok készülnek úgy, hogy az indel-motívumok nem kerülnek az elemzésbe, és úgy is, hogy ezeket „simple-coding” algoritmussal (SIMMONS és mtsai. 2001) binárisan kódolva bevonjuk az elemzésbe, javulni fog-e az elemzésekkel kapott filogenetikai fák elágazásainak támogatottsága (Bayes-elemzést használva, a poszterior valószínűség (PP) értéke). Vizsgáltuk továbbá, hogy a „bizonytalanul” illesztett régiók algoritmikus és reprodukálható, tehát egyedül elfogadható, eltávolítása az illesztésekből, miként befolyásolja az eredményeket. Mivel az ITS-régióval kapcsolatosan általánosan elterjedt a fentebb említett nézet, miszerint a közeli rokon taxonok filogenetikai vizsgálatára korlátozódik a megbízható alkalmazási lehetősége, különösen érdekes a „gapek” elemzésbe vonásának a mélyebb elágazások támogatottságára gyakorolt hatása. A 115 adatsor leghosszabb illesztéseit (ahogy az várható is volt) a PRANK (LÖYTYNOJA és GOLDMAN 2005) eredményezte, ezt követte a Probalin, a MAFFT-X-INS-I (KATO és TOH 2008) és a legrövidebb hosszúságú illesztéseket a ClustalW (THOMPSON és mtsai. 2002) program eredményezte. Az elágazások támogattságainak számos különböző elemzése mind hasonló eredményre vezettek: általánosságban megállapíthattuk, hogy megfelelő, szofisztikált algoritmusok/programok alkalmazása esetén az indelmotívumok elemzésbe vonása növelte az elágazások támogattságát, tehát a filogenetikai eredmények megbízhatóságát, és ez különösen jelentős arányú elágazásra volt igaz a „fában” a mélyebb elágazások felé haladva. Ezt jól mutatja az egyes adatsorokból nyert filogenetikai fák egymásnak megfeleltethető elágazásainak indelekkel és indelek nélkül kapott PP támogattságainak aránya (**33. ábra**). Az indel motívumok megfelelő kezelése nem csupán az ITS-alapú filogenetikai számításokat, de akár az ITS-alapú DNS-vonalkód fajazonosítási hatékonyságát is növelhetné. Annak ellenére, hogy már nem csupán a Bayes-program, de például a RAxML is képes vegyes (nukleotid+bináris) adatsorok elemzésére, sajnálatos módon a gombák ITS-szekvenciáinak (és akár más lókuszainak) az indel-események megfelelő kódolása után felfedhető „rejtőzködő” lehetősége nincs kihasználva, rutinszerűen alkalmazott lépésént nem terjedt el a (filogenetikai) elemzésekben.

6. Konklúzió, kitekintés

Amennyiben szeretnénk feltárni a gombák sokféleségét, felmerül a kérdés, hogy *hol* érdemes gombákat keresni. A kevésbé vizsgált területek és gombacsoportok alapvetően sok újdonságot adhatnak. A gyökérkolonizáló nem patogén gombák változatosságára irányuló munkáink során számos Magyarországra új taxont tudtunk kimutatni, és kiskunsági homokterületekről összesen kilenc tudományra új fajt és három tudományra új nemzetséget írtunk le. Más földrajzi régiók, kontinensek homokterületeinek, homokdűnéinek AM-képző gombáira és ezek rokonfajaira fókuszáló taxonómiai kutatások során összesen 12 tudományra új faj és két új nemzetség (és ezekben öt új kombináció) leírásában vettünk részt. A terepi gyűjtéseken alapuló munkák mellett legalább ekkora jelentőségű a meglévő gyűjtemények, a már leírt taxonok alapos, polifázikus, molekuláris filogenetikai módszereket is alkalmazó ellenőrzései, revíziói. Sivatagi szarvasgombák és rokon taxonok gyűjteményi, korábban leírt, jellemzett fajok revíziói során három tudományra új nemzetség, és megfelelő kombinációk leírása vált indokolttá. Részletelesen nem vizsgált vagy félrehatározott gyűjteményi anyagokból további egy tudományra új nemzetséget és összesen négy tudományra új fajt írtunk le. A gyűjteményi feldolgozások „hatására” eltűnt a *Terfezia* nemzetség(név) Észak-Amerikából, és valójában minden, a tág értelemben vett mediterrán és közel-keleti régió kívüli területről, ahonnan korábban ismert volt. Egy nemzetség(név) viszont óriási területeket „hódított” meg a taxonómiai munkánk eredményeképp, hiszen a korábban monotipikus *Mattirolomyces* nemzetségbe, a kiskunsági elegyes akácokban gyakori homoki szarvasgombán kívül további négy faj került, különböző kontinensekről, élőhelyekről, köztük sivatagokból is.

Az, hogy a gyűjtemények ilyen mennyiségben tartalmazhatnak újdonságot vagy éppen hibát, különösen megkérdőjelezhetővé teszi azt a nevezéktani törekvést, hogy DNS-szekvenciaadatok elegendőek legyenek fajok, taxonok leírásához, ezek típusanyagok lehessenek. A dolgozatban bemutatott taxonómiai munkák során is több esetben azonosítottunk korábban ökológiai, molekuláris diverzitási munkákból, akár sajátunkból is ismert leszármazási vonalakat. Az AM-képző gombák körében végzett munkáink során, amikor több, nem átfedő lókuszt is vizsgáltunk, előfordult, hogy független, különböző élőhelyeken folyt vizsgálatokban kimutatott csoportokról derült ki, hogy konspecifikusak a leírt új fajjal. Mikor végre sikerült az „*egy gomba, egy név*” törekvés-

sel az egyik jelentős gombataxonómiai problémát megoldani, nehéz elképzelni, milyen következményekkel járna, ha elfogadnák az előterjesztést.

Egyebek mellett azért is, mert tovább erősíti azt a gyakori félreértést, ami a molekuláris taxonómiai módszerek kizárólagos lehetőségeit sugallja, és háttérbe szoríthatja a valóban elengedhetetlen „organismal knowledge” szerepét. A munkáink során is számos esetben, a bennük rejlő potenciál mellett, a molekuláris módszerek korlátai is kiderültek, mint például egy sokkópiás lókuszt polimorfizmusa esetén. Eredményeink illusztrálták azt is, hogy morfológiai karakterek vagy éppen ultrastrukturális jellemzők milyen mértékben segíthetik a filogenetikai elemzések értelmezését. De az ellenkezőjét is tapasztalhattuk, mikor hiába a morfológiai változatosság, mint például egyes gyökérendofiton taxonoknál, ha ez nem köthető az aktuálisan egyedüli megbízható csoportosítást adó molekuláris filogenetikai eredményekhez. Hasonlóan az AM-képző gombák taxonómiájához, ahol viszont sokszor a megfelelő morfológiai, anatómiai jellemzők hiánya miatt, mint például a kis „glomoid” spórás taxonoknál, elengedhetetlen a polifázikus megközelítés. A megfelelő, adott kérdéshez és csoporthoz alkalmas lókuszt kiválasztása és a megfelelő elemzések használata azonban alapvető jelentőségű, és még ha praktikus kényszer is befolyásolja sokszor a döntéseket, a módszerek korlátainak ismerete nélkülözhetetlen az eredmények megfelelő értékeléséhez.

Kutatásaink legfőbb hosszú távú célja, hogy megpróbáljuk akár csak részben megérteni, milyen szerepük lehet a nem patogén gyökérkolonizáló gombáknak félszáraz, száraz területeken, hogyan adaptálódhattak ezekhez az extrém élőhelyekhez. Ez utóbbi valószínű, hogy nem is nagyon bonyolult, hiszen eredményeink igazolták, hogy csak a csészegombák családján (Pezizaceae) belül legalább négy leszármazási vonalon jelentek meg sivatagi szarvasgombák.

Célunk alapvetővé tette, teszi, hogy folyamatosan keressük arra is a választ, milyen különböző interakciók, milyen különböző gombák fordulhatnak elő ilyen élőhelyeken. Bár a kompozicionális diverzitási vizsgálatok sok mindenre rávilágítottak, például, hogy száraz füves területek gyökérendofiton közösségei hasonlóak, ugyanazok a gyakori, „core” tagjaik, az is egyértelmű, hogy bár elengedhetetlenek a pontosan azonosított taxonok, fajok, és magunk is kimutattuk például a DSE-gombacsoportok komplementáris interspecifikus funkcionális heterogenitását, valószínűleg *nem* ezen, de biztosan *nem csak ezen* a diverzitási szinten jelentkezik a funkcionális sokszínűség. Emellett, nem feledkezhettünk meg arról sem, hogy egy növényegyed gyökerét is számos különböző

gomba kolonizálhatja, sőt különböző kölcsönhatástípusok, akár ugyanazon gyökérszcaszban is előfordulnak, ahogy azt megfelelő, specifikus *in planta* vizualizációs módszerrel is igazolni lehet.

Ennek a változatosságnak, komplexitásnak figyelembe vétele, a holobiont-szemlélet és ennek meghonosodása, elterjedése nem csupán növénybiológiai, de a növényasszociált, például gyökérkolonizáló gombák szerepének megértésében is alapvető jelentőségű, kulcsfontosságú. Erre szeretnénk törekedni a félszáraz, száraz területekhez kapcsolódó mikocentrikus, funkcionális szempontból egyre hangsúlyosabban a gyökérendofitonokra fókuszáló kutatásaink során, eredményeink értelmezésekor.

7. A legfontosabb eredmények rövid összefoglalása

A jelen dolgozatban bemutatott kutatások elsősorban a félszáraz, száraz területeken élő és ezekkel közeli rokonságban álló, nem patogén gyökérkolonizáló gombák rejtőzködő diverzitásának feltárására, valamint vizsgálati lehetőségeinek fejlesztésére irányultak.

Mikocentrikus vizsgálataink az eltérő interakció-típusokban résztvevő, különböző gombacsoportok diverzitására irányultak, és a kompozicionális diverzitásvizsgálatok során törekedtünk a felmerülő taxonómiai kérdések tisztázására. Különböző vizsgálati lehetőségeket alkalmazva, akár fejlesztve azokat, három kölcsönhatási típusra és az ezeket létrehozó gombákra, és a növényasszociált sivatagi szarvasgombákra és rokonsoportjaira fókuszáltunk.

7.1 Ektomikorrhizák, ECM-képző gombák

Az ECM-képző gombáknak a kolonizált gyökérvégekből kiinduló vizsgálata az egyedüli eljárás, melynek alkalmazása esetén az eredményeink arról is információt adnak, hogy milyen növényrel áll kapcsolatban egy-egy gombataxon. Az ektomikorrhizák morfoanatómiai jellemzői akár taxonspecifikusak is lehetnek, árulkodhatnak esetleg funkcionális különbségekről, és például az ECM-mintákon alapuló molekuláris diverzitási vizsgálatoknál segíthetik a feldolgozás előtti mintaszűrést vagy a vizsgálni tervezett ECM-képző gombacsoport mikorrhizáinak összegyűjtését. Három különböző nemzetség ECM-szintű vizsgálata során minden esetben a nrDNA ITS-szakasz szekvenciáinak meghatározásával és elemzésével azonosítottuk a gombapartnereket.

7.1.1 A *Tuber rapaeodorum* fajcsoport ektomikorrhizái

A döntő többségében alföldi erdőkből származó „kis fehér” szarvasgombák (*Ascomycota*, *Tuber* nemzetség, *Tuber rapaeodorum* fajcsoport, (/puberulum, /maculatum lezármazási vonalak *sensu* BONITO és mtsai. 2010) ektomikorrhizáiból nyert szekvenciák és a fajcsoport adatbázisokban elérhető adataival együtt végzett filogenetikai elemzésekben az ECM-mintáinkat képző gombák öt csoportba rendeződtek, melyek közül elemzéseink alapján hármat tekinthetünk fajsztinten azonosítottak. Az ECM-

anatómiájukban nagyon hasonló csoportok nrDNS ITS-szekvenciáikban jelentősen különböztek. Kimutattuk, hogy a fajcsoport nagyobb kládjait az ITS1-szakasz jelentős méretbeli különbsége jellemezte, és ez az illesztések után egy jellegzetes, a csoportokhoz köthető indel-mintázatot eredményezett.

7.1.2 A *Tomentella* nemzetség ektomikorrhizái

Molekuláris filogenetikai elemzéseinkben a leginkább alföldi erdőkből származó magyarországi tomentelloid szekvenciákat egészítettük ki hazai bükkösökből származó tomentelloid ECM-szekvenciákkal, így az összes magyarországi tomentelloid ECM-mintából származó ITS-szekvenciát elemeztük együtt, hasonló, adatbázisokban elérhető *Tomentella* (Basidiomycota) nrDNS ITS-szekvenciákkal. Elemzéseink alapján kimutattuk, hogy ezek összesen 18 kládba rendeződtek, mely csoportokra, ellentétben a kis fehér szarvasgombákkal és a susulykákkal, markánsan különböző ECM-anatómia is jellemző. Eredményeinknek megfelelően, a csoportok közül összességében 15 kládot fajszinten azonosítottunk tekinthetünk, melyek közül csak egynek volt termőtest alapú előfordulási adata Magyarországról. A 18 klád közül háromban fordultak elő mind bükkösökből, mind pedig alföldi erdőkből származó tomentelloid ECM-minták. Kilenc csoportba csak alföldi erdőkből, míg hat csoportba csak bükkösökből származó tomentelloid taxonok rendeződtek. Elemzésünkkel fajszinten azonosítottunk öt korábban azonosítatlan tomentelloidként leírt morfortípust. A nemzetségben belüli tisztázatlan filogenetikai viszonyokat azonban az ITS-szekvenciák indel-karakterjeinek elemzésbe vonásával sem lehetett feloldani.

7.1.3 Az *Inocybe* nemzetség ektomikorrhizái

A szintén bazídiumos gombák közé tartozó, bonyolult taxonómiájú susulyka (*Inocybe*) nemzetség fülöpházi félszáraz homokterületen gyűjtött, ECM-képző növényekről származó mintáiból kapott szekvenciákat elemeztük együtt adatbázisokból származó szekvenciákkal. Megállapítottuk, hogy a fülöpházi minták hét *Inocybe* taxont képviselnek, melyek közül öt esetében fajszinten azonosítottuk a gombapartneret. Ezek közül három fajnak ez az első dokumentált magyarországi előfordulása. Annak ellenére, hogy az egyes *Inocybe* csoportok határozottan elkülönültek egymástól a filogenetikai elemzésekben, morfortípusaik anatómiája nagyon hasonló volt. Két *Inocybe* fajt is kimutattunk a területre betelepített, behurcolt *Pinus nigra* gyökerein, ezek közül az egyiket két honos növényfajon (*Populus alba* és *Salix rosmarinifolia*) is megtaláltuk, mely mutatja,

hogy a területen invazívnak is tekinthető fenyőfaj szimbiózist képes kialakítani a terület honos növényeinek ECM-képző gombáival is.

7.2 Arbuszkuláris mikorrhiza, AM-képző gombák

AM-képző gombákat többféle módszerrel vizsgálhatjuk. Egyes növények gyökerének vizsgálata a kolonizációról adhat támpontot, azonban a gyökéren belüli kolonizációs jellemzők leginkább funkcionális információt adhatnak, de nem használhatók AM-képző gombák azonosítására. A növények gyökereiből molekuláris módszerekkel vizsgálhatjuk az AM-képző gombák *in planta* diverzitását. Talajmintákból kiindulva, a gombák ivartalan spóráinak kimosása, válogatása, spóraalapú határozása alapján is képet kaphatunk egy-egy élőhely AM-képző gombaközösségéről.

7.2.1 A virginiai holdruta AM-képző gombáinak *in planta* diverzitása

A *Botrychium virginianum* sporofiton AM-képző gombáinak *in planta* diverzitási vizsgálataihoz a páfrány unikális hazai élőhelyén, a Kunfehértói holdrutás erdőben, több egyedről gyűjtött gyökérmintákból indultunk ki. A REDECKER-féle (REDECKER 2000; REDECKER és mtsai. 2003) és a WUBET-féle (WUBET és mtsai. 2006) primerrendszereket használtuk és mindkét esetben 5–6 AM-képző gombafilotípust mutattunk ki a sporofitonok gyökereiből, melyek többsége az elemzések idején „*Glomus* A csoportnak” nevezett (*sensu* SCHWARZOTT és mtsai. 2001) kládba tartozott. A holdrutát kolonizáló AM-képző gombák – az adott markerek által lehetővé tett elemzési szinten – nem voltak egyediek, nem bizonyultak specifikusnak, más területekről is kimutatták azokat, és/vagy széles körben elterjedt, gyakori AM-képző gombacsoportokat reprezentáltak. Ez alapján megállapítottuk, hogy a korábban általunk leírt (KOVÁCS és mtsai. 2003) egyedi, robusztus, fosszilis arbuszkulum-struktúrákra (STUBBLEFIELD és mtsai. 1987) hasonlító AM-anatómiát, szerveződést nagy valószínűséggel az ősi növényi leágazást reprezentáló páfrány határozza meg.

Világviszonylatban az elsők között közöltünk páfrányokról származó, AM-képző gomba *in planta* molekuláris diverzitási adatokat. Ezen vizsgálat során, Magyarországon először alkalmaztunk molekuláris módszereket AM-képző gombák diverzitásának vizsgálatához, és ezek voltak az első ilyen jellegű publikált adatok AM-képző gombákról a Kárpát-medence természetes élőhelyeiről.

7.2.2 Kiskunsági területek AM-képző gombáinak spóraalapú vizsgálata

Három mintavételi helyről (bugaci ősbórókás, fülöpházi homokpusztagyep, tatárszentgyörgyi területek) származó talajmintákból spóravizsgálatok alapján jellemeztük az AM-képző gombaközösség összetételét. A vizsgálatokkal összesen 31, gyakoriságukban jelentősen különböző AM-képző gombafaj jelenlétét mutattuk ki. Mivel a Magyarországról korábban ismert mind a hat fajt megtaláltuk, eredményeink 25 faj esetében az első hazai előfordulási adatot jelentetik. Már morfológiai alapon is tudományra új fajnak ígérkezett egy izolátum, és ezt a részletes anatómiai jellemzésén túl, a LEE-féle (LEE és mtsai. 2008) és a KRÜGER-féle primerrendszer (KRÜGER és mtsai. 2009) alkalmazásával nyert szekvenciák molekuláris filogenetikai elemzése is megerősítették. A filogenetikai elemzésekhez a nyilvános adatbázisokból származó adatokon túl, a nemzetség három további fajából is nyertünk átfedő szekvenciákat. A Bugacról izolált, tudományra új AM-képző gombafajt

Diversispora jakucsiae Blaszcz., Balázs & Kovács
néven írtuk le.

7.2.3 AM-képző gombák molekuláris taxonómiája

A homokterületek, homokdűnék speciális élőhelyek, tápanyagban is szegények és a talaj vízmegtartó képessége nagyon rossz. Elsősorban az ilyen élőhelyek AM-képző gombáira és ezek rokonfajaira fókuszáló taxonómiai kutatásokba bekapcsolódva, a legtöbb esetben „glomoid”, hialin spórás izolátumok molekuláris filogenetikai vizsgálatát végeztük. Különböző primerrendszerekkel, különböző nrDNA-szakaszokat vizsgáltunk és elemeztünk, majd annak elterjedése után, a KRÜGER-féle primerrendszerrel (KRÜGER és mtsai. 2009) a korábban leírt fajokat is újravizsgáltuk. A szekvenált lókuszok alapján minden esetben vizsgáltuk, hogy molekuláris diverzitási munkákban kimutatták-e korábban a taxont, ezzel is információt szerezve a faj az elterjedési, élőhelyi jellemzőiről. Ezen munkák során összesen 12 tudományra új faj és két új nemzetség (és ezekben öt új kombináció) leírásában vettünk részt.

Az alábbiakban a fajok neveinek publikálásának sorrendje szerint haladva kerülnek felsorolásra a taxonok. Minden esetben, ha változott a nemzetségnév, az a név (bazioním) szerepel előbb, melyet a faj leírásakor használtunk. Amennyiben az új nemzetséget is mi írtuk le, úgy a kombináció neve az eredeti faj neve (bazioním) alatt előbb szerepel, mint külön a nemzetség neve. Más kutatók által leírt kombinációk zárójelben vannak feltüntetve.

Glomus perpusillum Błaszk. & Kovács

Kamienskia perpusilla (Błaszk. & Kovács) Błaszk., Chwat & Kovács

Glomus achrum Błaszk., D. Redecker, Koegel, Schützek, Oehl & Kovács

Dominikia achra (Błaszk., D. Redecker, Koegel, Schützek, Oehl & Kovács)
Błaszk., Chwat & Kovács

Glomus bistratum Błaszk., D. Redecker, Koegel, Symanczik, Oehl & Kovács

Kamienskia bistrata (Błaszk., D. Redecker, Koegel, Symanczik, Oehl & Kovács) Błaszk., Chwat & Kovács

Glomus africanum Błaszk. & Kovács

(*Funneliformis africanum* (Błaszk. & Kovács) C. Walker & A. Schüßler)

(*Septoglomus africanum* (Błaszk. & Kovács) Sieverd., G.A. Silva & Oehl)

Glomus iranikum Błaszk., Kovács & Balázs

Dominikia iranica (Błaszk., Kovács & Balázs) Błaszk., Chwat & Kovács

Paraglomus majewskii Błaszk. & Kovács

Septoglomus fuscum Błaszk., Chwat & Kovács, Ryszka

Septoglomus furcatum Błaszk., Chwat & Kovács, Ryszka

Diversispora varaderana Błaszk., Chwat, Kovács & Góralska

Diversispora peridiata Błaszk., Chwat, Kovács & Góralska

Diversispora slowinskiensis Błaszk., Chwat, Kovács & Góralska

Dominikia Błaszk., Chwat & Kovács

Dominikia disticha Błaszk., Chwat & Kovács

Dominikia minuta (Błaszk., Tadych & Madej) Błaszk., Chwat & Kovács

(további új kombinációkat lásd feljebb)

Kamienskia Błaszk., Chwat & Kovács

(új kombinációkat lásd feljebb)

7.3 Sötét szeptált endofiton (DSE) gombák

A növények gyökereit a különböző mikorrhizaképző gombák mellett endofiton gombák is kolonizálják. Széles körben elterjedtek és különösen erős abiotikus stressz jellemezte élőhelyeken gyakoriak a leginkább tömlősgombák közé tartozó gyökérendofitonok, melyek között el szokták különíteni a melanizált hifájú, úgynevezett sötét szeptált endofiton (DSE) formacsoportot (JUMPPONEN és TRAPPE 1998; RODRIGUEZ és mtsai. 2009).

7.3.1 Kiskunsági homokterületek DSE-gombái

Kiskunsági homokterületek DSE-gombaközösségeinek kompozicionális diverzitási vizsgálata során nyolc honosnak tekinthető és három inváziós növényfaj gyökereiből izoláltunk összesen 296 gombatörzset. Ezek nrDNA ITS-szekvenciáinak elemzése alapján egy kivétellel mind tömlősgombának bizonyultak, és a filogenetikai analízisek alapján 41 csoportot különítettünk el. Ezen csoportok reprezentánsait egy inokulációs rendszerben vizsgáltuk, és azokat a törzseket és reprezentált csoportjaikat tekintettük DSE-gombáknak, melyek nem okoztak látható kóros tüneteket az inokulált növényeken, kolonizálták a gyökereket, és létrehozták a jellegzetes mikroszkleróciumokat. Ezek alapján 14 csoportról igazoltuk, hogy DSE-gombának tekinthetők, egy csoportról pedig később igazoltuk, hogy valójában két külön nemzetséget reprezentál. A DSE-csoportok közül a vizsgálatunkkor öt olyan volt, melyet csak rend szinten tudtunk azonosítani, míg a legalább nemzetség szinten azonosított DSE-csoportok között számos jól ismert gyökérendofiton taxon előfordulását igazoltuk, mint például a *Rhizopycnis vagum*, *Periconia macrospinosa*, *Curvularia* sp., *Microdochium bolley* vagy éppen a *Fusarium* nemzetség endofiton leszármazási vonalainak képviselőit.

Egy sikeres inváziós növény, ha egyáltalán mutualista szimbiózist létesít, nem függhet specifikus partnertől, partnerscsoporttól. Ezt megfordítva, *azt a munkahipotézist állítottuk fel, hogy azon endofitonok, melyek mind a honos, mind az adott területen inváziós növényeket kolonizálják, generalistának tekinthetők.* Összevetéseink alapján megállapítottuk, hogy a vizsgált területeken gyakori DSE-csoportok mind honos, mind inváziós fajokról is előkerültek, így azok generalistának tekinthetők, és rájuk sem területspecifitás, sem szezonális nem jellemző. Világviszonylatban sem ismertünk olyan egyéb korábbi tanulmányt, ami vizsgálta volna inváziós növények endofiton közösségeit, és összehasonlította volna azt a területen honos növények gyökérendofitonjaival. Ezek voltak Magyarország területéről az első gyökérendofitonokra vonatkozó eredmények.

Az általunk azonosított DSE-közösség, különösen ennek általánosan előforduló („core”) tagjai megegyeznek más földrajzi területek, kontinensek hasonló, száraz, félszáraz füves élőhelyeiről származó gyökérendofiton közösségek „core” tagjaival. Az észak-amerikai területekre megfogalmazott korábbi hipotézist (KHIDIR és mtsai. 2010) saját eredményeink, és további területekről származó adatok alapján kiterjesztettük: száraz, félszáraz

területek fűféléinek gyökérendofiton közösségeinek hasonlósága több kontinensre kiterjedően is megfigyelhető.

7.3.2 DSE-gombák taxonómiája

A Pleosporales rendbe tartozó, három nem azonosított DSE-csoportot további izolátumokkal egészítettük ki, és összesen 40 izolátum polifázikus taxonómiai vizsgálatát végeztük el. A morfológiai, anatómiai és a sporulációs vizsgálatokat többlókuszos filogenetikai elemzésekkel egészítettük ki. Ez utóbbi számításokhoz meghatároztuk az nrDNS három szakasza (SSU egy része, teljes ITS és az LSU egy része) mellett az aktin (*ACT*), tubulin (*TUB*), calmodulin (*CAL*) és az elongációs faktor (*TEF*) szekvenciáit. Egy osztály-, egy család- és nemzetségszintű elemzésünk egyértelműen alátámasztotta, hogy mindhárom csoport elkülönül a Massarineae alrend ismert nemzetségeitől. Leírásuk időpontjában tudományra új monotipikus nemzetségként írtunk le egy-egy tudományra új fajjal két nemzetséget:

Aquilomyces patris D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous

Flavomyces fulophazii D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous

Az izolátumok növekedési jellemzői alapján is a legváltozatosabb csoport elemzése alapján a tudományra új nemzetségben hat tudományra új fajt is leírtunk:

Darksidea D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous

Darksidea alpha D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous

Darksidea beta D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous

Darksidea gamma D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous

Darksidea delta D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous

Darksidea epsilon D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous

Darksidea zeta D.G. Knapp, Kovács, J.Z. Groenew. & Crous

Ez a nemzetség széles körben elterjedt, nem csak a vizsgálati területeinken gyakori DSE-gombacsoport. A *Darksidea* nemzetség izolátumainál sikerült ivaros sporulációt indukálni, fejlett, spórákkal rendelkező aszkuszkokat tartalmazó zárt termőtestek alakultak ki. Minden kétséget kizáró, ivaros termőtestképzésre a DSE-gombák körében ez az első és mindeddig az egyetlen példa, hiszen számtalan megismételt próbálkozás ellenére sem sikerült az ivaros termőtestképzést újra indukálni.

7.3.3 DSE-csoportok funkcionális heterogenitása

A DSE-gombák nem jelentenek rendszertanilag egységes csoportot, és a kiskunsági homokterületek 15 különböző DSE-taxonja funkcionális értelemben is heterogén volt. Reprezentatív törzsek konstitutív enzimtermelésének és szénforrás-hasznosításának vizsgálatával jelentős interspecifikus funkcionális heterogenitást mutattunk ki. Az elemzések során a gombák rendszertani csoportjaik alapján elkülönültek, de fő gazdakörönként jelentősen átfedtek. Ezen fő kategóriák alapján vizsgálva a hasznosított szénforrásokat, megállapíthattuk, hogy a fűfélék endofitonjai és a nem fűfélékre jellemző endofitonok csoportjai külön-külön is a teljes szénforrás-repertoárt használni tudták. Ez, a nagyobb növénycsoportok gyökérendofiton csoportjainál kimutatott komplementáris enzimspektrum beleillik a „növényi holobiont” (VANDENKOORNHUYSE és mtsai 2015) elméletbe. A DSE-közösségben jellemző funkcionális diverzitás különös szereppel bírhat tápanyagszegény előhelyeken.

7.4 Gyökérkolonizáló gombák *in planta* vizualizációja

Az általunk is vizsgált különböző kölcsönhatástípusokat (ECM-, AM-, DSE-kolonizáció) más-más gombacsoportok képezik, viszont sokszor akár egy növényegyed egyazon gyökérszakaszán is előfordulhatnak különböző kolonizáció típusok. Sok vizsgálatnál merülhet fel igény arra, hogy lokalizálni tudjunk egy-egy adott taxont, a gyökereken belüli specifikus vizualizációhoz az RNS fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) technikát adaptáltuk. A riboszomális RNS-ekre hibridizáló próbák használatával értük el, hogy ne csak a sejtmagban kapjunk fluoreszcens jelet, és a vizualizáció eredményei a gombák életképességével, metabolikus aktivitásával is összefüggésbe hozhatók legyenek. A szakirodalomból ismert próbák mellett, általánosan használt, csoportspecifikus PCR-primerek alapján kialakított és magunk tervezte próbákat is használtunk. Természetes és mesterségesen létrehozott mintákon is alkalmazni tudtuk ezeket ECM-, AM- és DSE-kolonizációk vizualizációjára. A különböző fluorofórokkal kapcsolt próbák segítségével sikerült gyökérben szimultán és specifikusan megjeleníteni endofiton és AM-képző gomba együttes kolonizációját. Munkánk során sikerült először nem transzformált, különböző gombacsoportokat specifikusan, és akár két különböző csoportot szimultán módon is megjeleníteni növényeken belül.

7.5 Sivatagi szarvasgombák és rokon taxonok

A gombák egyes jellemzői összefüggésben állhatnak a száraz élőhelyekhez történő adaptációval, ilyen például a termőtestképzés eltolódása a zárt formák és a földfelszín alatti kialakítás felé. A záródó, föld alatt képzett termőtest nem ritka a gombák körében, és számos, különböző élőhelyeken előforduló leszármazási vonalon előfordul (THIERS 1984). A termőtestképzésben is megnyilvánuló élőhelyhez való alkalmazkodás talán leginkább egyértelmű példáit az úgynevezett sivatagi szarvasgombák adják. Egy adott élőhely, partnernövény vagy rendszertani csoport gyökérkolonizáló gombáit tanulmányozhatjuk úgy is, hogy a gombák termőtesteinek vizsgálatából származnak adataink.

7.5.1 Spanyolországi sivatagi szarvasgombák revíziója

A madridi Királyi Botanikus kert (RJB – Real Jardín Botánico) herbáriumának gomba-gyűjteményében (MA-Fungi) a sivatagi szarvasgombák legismertebb nemzetségének gyűjteményi revíziója során 110 *Terfezia* fajként deponált példány részletes mikroszkópos vizsgálatát és 71 példányból kiindulva, molekuláris filogenetikai elemzéseket végeztünk. A gyűjteményben előforduló *Terfezia arenaria* és *Terfezia claveryi* fajok morfológiai alapon is jól azonosíthatók voltak, és az nrDNA ITS-szekvenciák alapján végzett molekuláris elemzésekben is erősen támogatott, elkülönülő kládokat alkottak. A *Terfezia leptoderma* és *Terfezia olbiensis* fajokként deponált gyűjtések mind morfológiai, mind molekuláris filogenetikai szempontból nagy változatosságot mutattak, és legalább négy kládba rendeződtek, melyek nem alkottak együtt monofiletikus csoportot. Ezek közül anatómiai jellemzők alapján, egyhez hozzá rendelhattük a *Terfezia leptoderma* nevet, és a többi csoportra, mint *Terfezia olbiensis* fajkomplexxént tekintettünk, azon nevezéktani probléma miatt is, hogy hat korábban publikált név „tartozik” ehhez a csoporthoz. Ezek elterjedt, szinonimként való kezelése az általunk talált heterogenitás alapján nem feltétlenül indokolt. Több esetben detektáltunk termőtesten belüli nrDNA ITS-heterogenitást, a *Terfezia olbiensis* fajkomplex egy kládjában hat esetben is, melyekben klónozás után termőtestenként különböző számú ITS-haplotípust azonosítottunk, és volt olyan termőtest, melyben két haplotípus akár 12 karakterben is különbözött.

A revízió során három gyűjtés esetében a termőtestek egyedi karakterkombinációi, a retikulált spóra és a sejtes szerveződésű perídium is egy új taxonra utaltak, ezt a molekuláris filogenetikai elemzések is megerősítették. A példányokból nyert szekvenciák

határozottan elkülönülő, a tüskés spórájú *Terfezia* kládok közé ékelődő csoportot alkottak. Ezt a tudományra új sivatagi szarvasgombafajt

Terfezia alsheikhii Kovács, M. P. Martín & Calonge

néven írtuk le.

Szintén egy tévesen határozott példányról megállapítottuk, hogy valójában a Magyarországon gyakori, a kiskunsági elegyes akácosokban is gyakran gyűjthető, homoki szarvasgomba (*Mattirolomyces terfezioides*) egy termőteste, melyet Madrid belterületén gyűjtöttek. Ez amellett, hogy Spanyolországra új adat, a faj jelenleg ismert legdélebbi és legnyugatibb lelőhelye.

7.5.2 Egyéb területek sivatagi szarvasgombái

A *Terfezia* fajokat nem csak a Mediterrán régió, Észak-Afrika, és a Közel-Kelet sivatagos, félszáraz területeiről, de más hasonló élőhelyekről, például Dél-Afrikából is leírtak korábban, ahol hasonlóan az észak-afrikai és közel-keleti régiókhoz vagy épp ausztrál területekhez, a különböző sivatagi szarvasgombák nagy szerepet játszottak, játszanak az ott élő őslakosok életében (SHAVIT 2014).

7.5.2.1 Dél-Afrika és Ausztrália sivatagi szarvasgombái

Az ausztrál területekről négy, korábban már ismert faj (*Elderia arenivaga*, *Mycoclelandia arenacea*, *Mycoclelandia bulundari*, *Redellomyces westraliensis*) esetében a molekuláris filogenetikai vizsgálatok megerősítették azok taxonómiai helyzetét és családbesorolását is, a filogenetikai elemzésekben az *Elderia* és a *Mycoclelandia* nemzetségek a Pezizaceae, míg a *Redellomyces* nemzetség a Tuberaceae családba rendeződött.

Ausztrál területekről egy sivatagi szarvasgomba morfológiai és molekuláris filogenetikai elemzése is megalapozottá tette, hogy egy tudományra új fajt írjunk le, mely egy eddig nem ismert, tudományra új nemzetséget képvisel a csészegombafélék családjában (Pezizaceae):

Ulurua nonparaphysata Trappe, Claridge & Kovács

Korábban nem azonosított sivatagi szarvasgomba példányok esetében jellegzetes anatómiai jellemzők és a molekuláris filogenetikai elemzések igazolták, hogy a *Mattirolomyces* nemzetségbe tartoznak és tudományra új fajként írtuk le:

Mattirolomyces mulpu Kovács, Trappe & Claridge

Dél-afrikai sivatagos területekről korábban *Terfezia* fajként leírt sivatagi szarvasgomba példányok vizsgálata során mind az anatómiai vizsgálatok, mind a molekuláris filogenetikai elemzések egyértelművé tették, hogy ez a faj is a *Mattirolomyces* nemzetség képviselője, ezért szükséges volt átsorolni. Így publikáltuk, egy hibás névközlés után, a ***Mattirolomyces austroafricanus*** (Trappe & Marasas) Kovács, Trappe & Claridge új kombinációt.

7.5.2.2 Észak-amerikai *Terfezia* és rokon fajok

Észak-Amerikában három szarvasgombafajt írtak le korábban a *Terfezia* nemzetségbe tartozóként. Ezen fajok lehető legtöbb példányának revíziója során további, morfológiai alapon közeli rokonnak tartott, de pontosan meg nem határozott anyagokat, illetve nemzetségbeli hovatartozás miatt további, Észak-Amerikából származó fajokat is vizsgáltunk.

Az Asa Gray diszjunkciót mutató, egykori *Terfezia gigantea* faj Japán és az Egyesült Államok területéről származó anyagainak feldolgozását transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatokkal is ki tudtuk egészíteni. A faj nemzetség szintű besorolása nem volt helyes, molekuláris filogenetikai eredményeink is alátámasztották, hogy egy új, a Morchellaceae (kucsmagombafélék) családjába tartozó, tudományra új nemzetség képviselője. Ezt a családba sorolást az ultrastrukturális jellemzők, mint például a Woronintestek alakja, is megerősítették. A tudományra új nemzetség leírása mellett egy új kombinációt is közöltünk:

Imaia Trappe & Kovács

Imaia gigantea (Imai) Trappe & Kovács

A molekuláris filogenetikai elemzések során a másik két korábbi *Terfezia* faj a Pezizaceae családba rendeződött, de egyértelműen elkülönültek a */Terfezia-Peziza depressa* (sensu TEDERSOO és mtsai. 2013) leszármazási vonaltól.

Az egyedi spóramintázatú *Terfezia longii* a csoport bazális részén, minden ismert nemzetségtől és korábban kijelölt leszármazási vonaltól elkülönülten ágazott le, számára egy tudományra új nemzetség elkülönítése, és a faj átsorolása volt indokolt:

Stouffera Kovács & Trappe

Stouffera longii (Gilkey) Kovács & Trappe

Az egykori *Terfezia spinosa*, melyet először Louisiana területéről, egy folyó mellől gyűjtöttek, de gyűjteménybe került még Nevadából, Mexikóból, és Pakisztánból, Lahore mellől is, hasonlóan egy Mexikó területéről gyűjtött, pontosan nem azonosított anyaghoz, mind a morfológiai jellemzők, mind a molekuláris filogenetikai vizsgálatok alapján a *Mattirolomyces* nemzetségbe tartozott, ezeket új kombinációként és tudományra új fajként írtuk le:

Mattirolomyces spinosus (Harkn.) Kovács, Trappe & Alsheikh

Mattirolomyces mexicanus Kovács, Trappe & Alsheikh

Ezzel a *Mattirolomyces* nemzetség jelenlétét egy újabb kontinensről igazoltuk, a nemzetségbe tartozó fajok száma pedig ötre emelkedett. Korábban HEALY (2003) mikroszkopikus jellemzők, és részletes ultrastrukturális vizsgálatai során leírta a *Mattirolomyces tiffanyae* fajt Iowából. A molekuláris filogenetikai elemzések, összhangban a korábbi anatómiai, ultrastrukturális jellemzésekkel, egyértelműen igazolták, hogy a gomba a *Mattirolomyces* nemzetségbe sorolása nem volt helyes. Mivel elkülönült minden egyéb nemzetségtől és leszármazási vonaltól a Pezizaceae családban, a faj számára egy tudományra új nemzetséget írtunk le, és oda át is soroltuk:

Temperantia K. Hansen, Healy & Kovács

Temperantia tiffanyae (Healy) K. Hansen, Healy & Kovács

7.5.3 A *Mattirolomyces terfezioides* vizsgálatai

7.5.3.1 Ultrastruktúra

Mivel az ultrastruktúra-jellemzők fontos rendszertani információkkal bírnak a csészegombák körében, viszont a korábbi *Mattirolomyces* nemzetségről rendelkezésre álló ultrastruktúra-adatok valójában az általunk leírt *Temperantia tiffanyae* fajról származtak. Ezért a *Mattirolomyces* nemzetség típusfajának, a hazánkban homoki elegyes akácokban gyakori, nagy tömegben gyűjtött homoki szarvasgomba Kunfehértói holdrutás erdőben gyűjtött termőtesteiből vizsgáltuk a nemzetség ultrastrukturális jellemzőit. Habár a *Mattirolomyces/Elderia* leszármazási vonal elkülönül az ismert „finom skálás” Pezizaceae vonalaktól (*sensu* HANSEN és mtsai. 2005), a faj esetében a családra jellemző általános ultrastrukturális karakterek meglétét igazoltuk. Jellegzetesen két membránnal indult az aszkospórák lehatárolódása, és a fejlődő spórafalon, a másodlagos vastagodás közben sapkaszerű réteg jelenik meg az ornamentáción. A nem-aszkogén hifák

pórusainál sokszor jelentős számban találtunk szögletes Woronin-testeket, ilyen formákat, habár más tömlősgombánál előfordulnak, a Pezizaceae családból nem írtak le korábban.

7.5.3.1 Gazdanövények, szklerócium

A homoki szarvasgomba termőtesteinek gyűjtése során növények gyökerét is magukba záró hifatömörödésekkel találtunk, önmagukban is, de a termőtestek minden esetben kapcsolódtak ilyen képletekhez, így ezeket a faj szkleróciumának tekinthettük, hasonlóan a kucsmagombáknál megfigyeltékhez (BUSCOT 1987, 1994; BUSCOT és ROUX 1987). Több növény gyökerein is előfordultak ilyen aggregátumok. A szarvasgomba gazdakörének tisztázása érdekében, az nrDNS ITS-régióra tervezett diagnosztikai PCR segítségével vizsgáltuk az élőhely növényeinek gyökereit, és négy fásszárú valamint három lágy szárú növény gyökerének mintái adtak pozitív PCR-eredményt. Mindegyik növény gyökerében találtunk a *Mattiolomyces terfezioides* kolonizációjára utaló struktúrákat. A széles, AM-képző növények alkotta gazdakör, az újabb városi területen való előfordulás, és a nemzetség nagyon széles geográfiai és diverz élőhelyi elterjedése tovább erősítette azt az elképzelést, hogy az *Mattiolomyces terfezioides* és feltehetően a nemzetség nem tekinthető mikorrhizaképzőnek.

7.6 Molekuláris taxonómiai és filogenetikai módszerek fejlesztése

7.6.1 A gombák DNS-vonalkódja

Megfelelően kiválasztott DNS-vonalkód alapján gyorsan, hatékonyan és nagy biztonsággal lehet azonosítani fajokat, köztük gombafajokat is, akár úgy is, hogy nem kell az adott csoport szakértőjévé válni, és/vagy akkor is, ha az adott élőlényből csak minimális, másfajta azonosítást lehetővé nem tevő minta áll rendelkezésünkre. A sivatagi szarvasgombákon végzett taxonómiai munkáink alapján csatlakoztunk a gombák DNS-vonalkódjának kidolgozására a különböző gombacsoportok szakértőiből összeállt nemzetközi kezdeményezéshez. A revideált madridi gyűjteményből öt *Terfezia* faj bizonyosan az adott taxonhoz tartozó példányaiból szekvenáltuk az összehasonlító elemzés célrégióit (nrDNS SSU, ITS és LSU, és *RBP1*). Összességében is, de a *Terfezia* fajokat is magába foglaló Pezizomycotina csoportban is az *RBP1* szekvenciák jobb felbontásának bizonyultak, mint az nrDNS ITS-szekvenciái. Ez utóbbi könnyebb és sikeresebb amplifikálhatósága azonban olyan mértékű és jelentőségű előny, mely a DNS-

vonalkóddal szembeni gyakorlati elvárásokat is szem előtt tartva, meghaladják azt a minimális hátrányt, amit az esetleges kissé rosszabb felbontás jelent. Mindezek alapján a gombák hivatalos DNS vonalkódjává az nrDNS ITS-szakasz vált.

7.6.2 Az indel-motívumok nrDNS ITS-alapú filogenetikai elemzésekben

A gombák nrDNS ITS-szekvenciái nem csupán DNS-vonalkódként használhatók, de általánosan heterogenitásuk miatt a gombák esetében nemzetségeken belül, (közel) rokon fajok filogenetikai elemzésekor is használják. Több mint 110, a gombák körében korábban filogenetikai elemzésben használt és publikált ITS-adatsor újraelemzésével vizsgáltuk: az adatsorokat négy illesztőprogrammal (algoritmussal) illesztve, különbözik-e az elemzésekkel kapott filogenetikai fák elágazásainak támogatottsága, ha az indel-motívumok („gap”-ek) nem kerültek az elemzésbe, és úgy, hogy ezek binárisan kódolva az elemzésbe kerülnek. Vizsgáltuk továbbá, hogy a „bizonytalanul” illesztett régiók algoritmikus eltávolítása az illesztésekből miként befolyásolja az eredményeket. Általánosságban megállapítottuk, hogy megfelelő, szofisztikált algoritmusok/programok alkalmazása esetén, az indel-motívumok elemzésbe vonása növelte az elágazások támogatottságát, a filogenetikai eredmények megbízhatóságát, és ez különösen jelentős arányú elágazásra volt igaz a „fában” a mélyebb elágazások felé haladva. Tehát az nrDNS ITS-szakaszban, a nukleotid szekvenciákon túl is rejlenek olyan információk, melyek alapján korábbi elágazásokra vonatkozóan nyerhetünk fontos filogenetikai adatokat.

8. Köszönetnyilvánítás

Komoly kihívás még megpróbálkoznom is azzal, hogy számba vegyem, kiknek szeretnék köszönetet mondani azért, hogy ez a dolgozat, ez a pályázat, és a mögöttük álló eredmények megszülettek. Szerencsés vagyok, hiszen amellet, hogy egy hallatlanul izgalmas élőlénycsoporttal sokféle megközelítésben foglalkozhatok, sok emberrel, sok helyen dolgozhattam, dolgozom együtt. Remek emberekkel, akiktől rengeteget kaptam és kapok, rengeteget tanultam, és tanulok – nap mint nap.

Köszönöm dr. Bagi Istvánnak, hogy elindított a pályámon, segített „rátalálni” a gombákra, és bármikor számíthattam segítségére. Ezúton is szeretném megköszönni dr. Jakucs Erzsébetnek, a bevezetést a mikorrhizák világába, a folyamatos segítségét, és azt a hatalmas munkát, amit a mikológia oktatásáért és kutatásáért tett. Köszönettel tartozom dr. Benkő Máriának és dr. Harrach Balázsnak, hogy az adenovírusok filogenomikájában tett kalandozásom alatt is támogatták mikológiai munkáim lezárását, és molekuláris mikológiai vizsgálatok végzését. Prof. Kiss Levente barátom folyamatos, akár interkontinentális léptékű támogatása, szakmai segítsége és noszogatása sokat jelent.

2004-ben kerültem az ELTE Biológiai Intézetébe, a Növénysszervezettani Tanszékre, egy remek közösségbe, nagyszerű emberek közé. Köszönöm mindenkinek a Tanszéken, hogy ilyen jó hangulatú, vidám, ennyire emberi, baráti, támogató közeg vesz körül.

Ezért, a legfontosabbért, mindenkinek nagyon hálás vagyok. A bemutatott munkákhoz kapcsolódóan külön köszönöm Dózsainé Kerekes Piroskának, Kasnya Ilonának, Kálmán Ágnesnek a labor segítségét, Gergely Csillának a mikrotechnikákban nyújtott munkáját, Takács Juditnak a papírmunkák segítségét. Dr. Bóka Károly és dr. Vági Pál a különböző mikroszkópos munkákban segítettek, segítenek, dr. Kósa Annamária a spektroszkópiában segített. Köszönöm prof. Böddi Bélának, hogy tanszékvezetőként maximalisan támogatta a munkáinkat.

A bemutatott eredmények a men(s)aa-csoport (mycorrhizae and endophytes of (semi)arid areas) tagjainak munkája nélkül nem születtek volna meg, az itt bemutatott munkák dandárja az „első generációhoz” köthető. Külön szeretném megköszönni dr. Knapp G. Dánielnek azt a folyamatos hatalmas munkát, amivel alapjává és motorjává vált a labornak és kutatásainknak. Balázs K. Tímea, dr. Pintye Alexandra, dr. Seress Diána, dr. Knapp G. Dániel, Gáspár K. Bence, Lukács F. Alena, Németh B. Julianna,

Németh Z. Márk munkájuk mellett, a hangulaton kívül, hagyományt is teremtettek. Dr. Vági Pál, dr. Vajna Balázs csatlakozása sokat jelentett, Dima Bálint újabb irányt és lendületet hozott laborunkba. Az „újabb generáció”, Imrefi Ildikó, Berek-Nagy Péter János segítségét is köszönöm. Kudos.

Köszönettel tartozom dr. Schlett Katalinnak, dr. Müller Viktornak, dr. Tamás Lászlónak, inspirálásukért, baráti támogatásukért. Köszönöm prof. Márialigeti Károly szakmai támogatását, és hogy mindig számíthattunk segítségére.

A Biológiai Intézet befogadó, támogató légköre sokat segített, a mindenkori vezetésen túl, Gaga Zsuzsanna, Soltész Ilona adminisztrációs segítsége nélkül nehezen boldogultunk volna a projektjeinkkel.

Köszönöm Gatyás Józsefnének és Zwick Károlynénak lelkiismeretes munkájukat, aminek köszönhetően rendezett, kulturált körülmények között dolgozhatunk minden nap.

2007 óta a jelenlegi MTA ATK Növényvédelmi Intézetének részfoglalkoztatású alkalmazottja is vagyok. Köszönöm a Növényvédelmi Osztály minden munkatársának a sok segítséget, és hogy még újabb csoportjait, aspektusait ismerhettem meg a gombáknak.

Köszönöm dr. Nagy G. Lászlónak (MTA SZBK) a sok segítséget és a remek közös projekteket.

Sok külföldi együttműködésünk volt, van, sok külföldi kutatóval régóta dolgozunk már együtt, a következő embereknek jelentős szerepünk volt kutatásainkban, és nem csak az izgalmas eredmények elérésében. Köszönettel tartozom prof. Ingrid Kottkénak (Tübingen) folyamatos támogatásáért, prof. Janusz Błaszowski (Szeczin) a hosszú, gyümölcsöző együttműködésünkért, prof. James M. Trappénak (Oregon, USA) baráti támogatásáért és a kalauzolásért a szarvasgombák világában, valamint dr. Andrew. J. Davisonnak, hogy annyit tanulhattam a laborjában.

A dolgozat megírásában sokat jelentettek dr. Bóka Károly, prof. Böddi Béla, prof. Kiss Levente, Kovácsné prof. Gaál Katalin, prof. Márialigeti Károly tanácsai. Külön köszönöm Dima Bálint és dr. Knapp G. Dániel támogatását és a szöveg ellenőrzésében, ábrák formázásában nyújtott óriási segítségét. Hálás vagyok Balázs Tímeának, dr. Seress Diának és Németh Z. Márknak az anyag átolvasásáért, fontos észrevételeikért.

Köszönöm külön mindenkinek, hogy részleges „kivonulásomat” az írás idején türelemmel viselték.

Szeretném megköszönni Szüleimnek, folyamatos, állandó támogatásukat, és hogy megtalálhattuk a minket leginkább érdeklőt. Köszönöm Testvéreimnek, Családomnak, és Barátaimnak a folyamatos támogatást.

Köszönöm Zsuzsinak, hogy türelmes szerelme, szerető türelme, több mint két évtizede megingathatatlan támaszom. Külön köszönöm azt a biztonságot, otthont, amit gyermekeinknek teremt, nyújt – akiknek köszönöm, hogy többször elengednek, mint szeretnék, és mint valójában szeretném.

Köszönet illeti azokat a szervezeteket, akik támogatásukkal segítették kutatásainkat: Alexander von Humboldt Alapítvány, COST EU, FEMS Ösztöndíjprogram, Fulbright Program, Kiskunsági Nemzeti Park, Magyar Mikrobiológiai Társaság Alapítványa, Magyar Tudományos Akadémia, NKFIH, OTKA, SYNTHESYS EU Projekt.

9. Saját közlemények jegyzéke

9.1 A dolgozatban összefoglalt eredmények alapjául szolgáló publikációk

9.1.1 Ektomikorrhizák

- Kovács, G. M. , Jakucs, E. 2006: Morphological and molecular comparison of white truffle ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* **16**: 567–574. (IF: 1,813)
- Jakucs, E., Erős-Honti, Zs., Seress, D., Kovács, G. M.  2015. Enhancing our understanding of anatomical diversity in *Tomentella* ectomycorrhizas: characterization of six new morphotypes. *Mycorrhiza* **25**: 419–429. (IF: 3,252)
- Seress, D., Dima, B., Kovács, G. M.  2016. Characterisation of seven *Inocybe* ectomycorrhizal morphotypes from a semiarid woody steppe. *Mycorrhiza* **26**: 215–225. (IF: 3,047)

9.1.2 Arbuszkuláris mikorrhizák

- Kovács, G. M. , Balázs, T., Péntes, Zs. 2007. Molecular study of the arbuscular mycorrhizal fungi colonizing the sporophyte of the eusporangiate rattlesnake fern (*Botrychium virginianum*, Ophioglossaceae). *Mycorrhiza* **17**: 597–605. (IF: 2,077)
- Błaszowski, J. , Kovács, G. M., Balázs, T. 2009. *Glomus perpusillum*, a new arbuscular mycorrhizal fungus. *Mycologia* **101**: 247–255. (IF: 1,587)
- Błaszowski, J. , Ryszka, P., Koegel, S., Wiemken, A., Oehl, F., Kovács, G. M., Redecker, D. 2009. *Glomus achrum* and *G. bistratum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Botany* **87**: 260–271. (IF: 0,904)
- Błaszowski, J. , Kovács, G. M., Balázs, K. T., Orłowska, E., Sadravi, M., Wubet, T., Buscot, F. 2010. *Glomus africanum* and *G. iranicum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycologia* **102**: 1450–1462. (IF: 1,641)
- Błaszowski, J. , Kovács, G. M., Gáspár, B. K., Balázs, K. T., Buscot, F., Ryszka, P. 2012. The arbuscular mycorrhizal *Paraglomus majewskii* sp. nov. represents a distinct basal lineage in Glomeromycota. *Mycologia* **104**: 148–156. (IF: 2,110)
- Błaszowski, J. , Chwat, G., Kovács, G. M., Gáspár, B. K., Ryszka, P., Orłowska, E., Pagano, M. C., Araújo, F. S., Wubet, T., Buscot, F. 2013. *Septoglomus fuscum* and *S. furcatum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycologia* **105**: 670–680. (IF: 2,128)
- Błaszowski, J. , Chwat, G., Góralska, A., Ryszka, P., Kovács, G. M. 2015. Two new genera, *Dominikia* and *Kamienskia*, and *D. disticha* sp. nov. in Glomeromycota. *Nova Hedwigia* **100**: 225–238. (IF: 0,876)
- Balázs, T. K. ^{*}, Błaszowski, J. ^{*}, Chwat, G., Góralska, A., Gáspár, B. K., Lukács, A. F., Kovács, G. M.  2015. Spore-based study of arbuscular mycorrhizal fungi of semiarid sandy areas in Hungary, with *Diversispora jakucsiae* sp. nov. *Mycological Progress* **14**: 1021. (IF: 1,572)
- Błaszowski, J. , Furrázola, E., Chwat, G., Góralska, A., Lukács, A. F., Kovács, G. M. 2015. Three new arbuscular mycorrhizal *Diversispora* species in Glomeromycota. *Mycological Progress* **14**: 105. (IF: 1,572)

9.1.3 Sötét szeptált endofiton gombák

- Knapp, D. G., Pintye, A., Kovács, G. M. 2012. The dark side is not fastidious – dark septate endophytic fungi of native and invasive plants of semiarid sandy areas. *PLoS ONE* **7**: e32570. (IF: 3,730)
- Knapp, D. G., Kovács, G. M., Zajta, E., Groenewald, J. Z., Crous, P. W. 2015. Dark septate endophytic pleosporalean genera from semiarid areas. *Persoonia* **35**: 87–100. (IF: 5,725)
- Knapp, D. G., Kovács, G. M. 2016. Interspecific metabolic diversity of root colonizing endophytic fungi revealed by enzyme activity tests. *FEMS Microbiology Ecology* **92**: fiw190. (IF: 3,720)

9.1.4 Sivatagi szarvasgombák és rokon taxonok

- Kovács, G. M., Jakucs, E., Bagi, I. 2007. Identification of host plants and description of sclerotia of the truffle *Mattirolomyces terfezioides*. *Mycological Progress* **6**: 19–26. (IF: 1,259)
- Kovács, G. M., Trappe, J. M., Alsheikh, A. M., Bóka, K., Elliott, T. F. 2008. *Imaia*, a new truffle genus to accommodate *Terfezia gigantea*. *Mycologia* **100**: 930–939. (IF: 2,359)
- Kovács, G. M., Martín, M. P., Calonge F. D. 2009. First record of *Mattirolomyces terfezioides* from the Iberian Peninsula: its southern- and westernmost locality. *Mycotaxon* **110**: 235–330. (IF: 0,574)
- Healy, R. A., Kovács, G. M. 2010. Ultrastructural observations on the ascomata and ascospores of the truffle *Mattirolomyces terfezioides*. *Botany* **88**: 85–92. (IF: 1,098)
- Trappe, J. M., Kovács, G. M., Claridge, A. W. 2010. Comparative taxonomy of desert truffles of the Australian Outback and African Kalahari. *Mycological Progress* **9**: 131–143. (IF: 1,266)
- Trappe, J. M., Kovács, G. M., Claridge, A. W. 2010. Validation of the new combination *Mattirolomyces austroafricanus*. *Mycological Progress* **9**: 145.
- Kovács, G. M., Trappe, J. M., Alsheikh, A. M., Hansen, K., Healy, R. A., Vági, P. 2011. *Terfezia* disappears from the American truffle mycota as two new genera and *Mattirolomyces* species emerge. *Mycologia* **103**: 831–840. (IF: 2,031)
- Kovács, G. M., Balázs, T. K., Calonge, F. D. Martín, M. P. 2011. The diversity of *Terfezia* desert truffles: new species and a highly variable species complex with intrasporocarpic nrDNA ITS heterogeneity. *Mycologia* **103**: 841–853. (IF: 2,031)
- Kovács, G. M., Trappe, J. M. 2014. Nomenclatural history and genealogies of desert truffles. In: Kagan-Zur, V., Roth-Bejerano, N., Sitrit, Y., Morte, A. (eds) *Desert Truffles. Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 21–37. (könyvfejezet)

9.1.5 Módszertani vonatkozású publikációk

- Vági, P., Knapp, D. G., Kósa, A., Seress, D., Horváth, Á. N., Kovács, G. M. 2014. Simultaneous specific in planta visualization of root colonizing fungi using fluorescence *in situ* hybridization (FISH). *Mycorrhiza* **24**: 259–266. (IF: 3,459)

- Nagy, L. G. , Kocsubé, S., Csanádi, Z., Kovács, G. M., Petkovics, T., Vágvolgyi, Cs., Papp, T. 2012. Re-Mind the gap! Insertion – deletion data reveal neglected phylogenetic potential of the nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) of fungi. *PLoS ONE* 7: e49794. (IF: 3,730)
- Schoch, C. L. , Seifert, K. A., Fungal Barcoding Consortium (... Kovács, G. M. ...) 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**: 6241–6246. (IF: 9,737)

9.2 A dolgozat fő témáihoz kapcsolódó egyéb és korábbi publikációk

- Schoch, C. L., Robbertse, B. és mtsai. (... Kovács, G. M. ...) 2014. Finding needles in haystacks: linking scientific names, reference specimens and molecular data for Fungi. *Database* **2014**: bau061. (IF: 3,372)
- Trappe, J. M., Kovács, G. M., Weber, N. S. 2014. Ecology and distribution of desert truffles in Western North America. In: Kagan-Zur, V., Roth-Bejerano, N., Sitrit, Y., Morte, A. (eds) Desert Truffles. Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication. Springer Berlin Heidelberg, pp. 107–120. (könyvfejezet)
- Kottke, I., Kovács, G. M. 2014. Mycorrhizae – rhizosphere determinants of plant communities. What can we learn from the tropics?, Eshel, A., Baeckman, T. (eds) Plant Roots: The Hidden Half (4th ed). CRC Press, Taylor & Francis Group. pp: 40-1–40-10. (könyvfejezet)
- Seress, D., Kovács, G. M., Jakucs, E. 2012. *Cortinarius saturninus* (Fr.) Fr.+ *Salix alba* L. – Descriptions of *Ectomycorrhizae* **13**: 33–38.
- Kovács, G. M.*, Jankovics, T.* , Kiss, L. 2011. Variation in the nrDNA ITS sequences of some powdery mildew species: Do routine molecular identification procedures hide valuable information? *European Journal of Plant Pathology* **131**: 135–141. (IF: 1,413)
- Nagy, L. G., Petkovics, T., Kovács, G. M., Voigt, K., Vágvolgyi, Cs., Papp, T. 2011. Where is the unseen fungal diversity hidden? A study of *Mortierella* reveals a high contribution of reference collections to the identification of fungal environmental sequences. *New Phytologist* **191**: 789–794. (IF: 6,645)
- Kovács, M. G. 2008. Magyarországi növények mikorrhizáltsági vizsgálatainak összefoglalása. Mit mondhatnak ezek az adatok? *Kitaibelia* **13**: 62–73.
- Erős-Honti Zs., Jakucs, E., Kovács, G. M. 2008. “*Helianthemirhiza ochraceobrunnescens*” + *Helianthemum canum* (L.) Baumg.. *Descriptions of Ectomycorrhizae* **11/12**: 71–75.
- Erős-Honti Zs., Kovács, G. M., Szedlay, Gy., Jakucs, E. 2008. Morphological and molecular characterization of *Humaria* and *Genea* ectomycorrhizae from Hungarian deciduous forests. *Mycorrhiza* **18**: 133–143. (IF: 2,205)
- Jakucs, E., Kovács, G. M., Szedlay, Gy., Erős-Honti Zs. 2005. Morphological and molecular diversity and abundance of tomentelloid ectomycorrhizae in broad-leaved forests of the Hungarian Plain. *Mycorrhiza* **15**: 459–470. (IF: 1,753)
- Jakucs, E., Kovács, G. M., Agerer, R., Romsics, Cs., Erős-Honti Zs. 2005. Morphological-anatomical characterization and molecular identification of *Tomentella stiposa* ectomycorrhizae and related anatomotypes. *Mycorrhiza* **15**: 247–258. (IF: 1,753)

- Kovács, G. M., Kottke, I., Oberwinkler, F. 2003. Light and electron microscopic study on the mycorrhizae of sporophytes of *Botrychium virginianum* – arbuscular structures resembling fossil forms. *Plant Biology* **5**: 574–580. (IF: 1,420)
- Kovács, G. M., Vágvölgyi, Cs., Oberwinkler, F. 2003. *In vitro* interaction of the truffle *Terfezia terfezioides* with *Robinia pseudoacacia* and *Helianthemum ovatum*. *Folia Microbiologica* **48**: 369–378. (IF: 0,857)
- Kovács, G. M., Szigetvári, Cs. 2002. Mycorrhizae and other root-associated fungal structures of the plants of a sandy grassland on the Great Hungarian Plain. *Phyton – Annales Rei Botanicae* **42**: 211–223. (IF: 0,103)
- Kovács, G. M., Rudnóy, Sz., Vágvölgyi, Cs., Lásztity, D., Rácz, I., Bratek, Z. 2001. Intraspecific invariability of the ITS region of rDNA of *Terfezia terfezioides* in Europe. *Folia Microbiologica* **46**: 423–426. (IF: 0,776)
- Kovács, G. M., Bagi, I. 2001. Mycorrhizal status of a mixed deciduous forest from the Great Hungarian Plain with special emphasis on the potential mycorrhizal partners of *Terfezia terfezioides* (Matt.) Trappe. *Phyton – Annales Rei Botanicae* **41**: 161–168. (IF: 0,275)
- Díez, J., Manjón, J.L., Kovács, G. M., Celestino, C., Toribio, M. 2000. Mycorrhization of vitroplants raised from somatic embryos of cork oak (*Quercus suber* L.). *Applied Soil Ecology* **15**: 119–123. (IF: 1,067)
- Kovács, G. M., Jakucs, E., Manjón, J. L., Esteve-Raventós, F., Díez, J. 2002. *Cortinarius hinnuleus* Fr. + *Betula celtiberica* Rothm. et Vasc. *Descriptions of Ectomycorrhizae* **6**: 7–11.
- Kovács, G. M., Jakucs, E. 2001. “*Helianthemirhiza hirsuta*” + *Helianthemum ovatum* (Viv.) Dun.. *Descriptions of Ectomycorrhizae* **5**: 49–53.

9.3 Egyéb mikológiai publikációk

- Váczy, K. Z., Márk, N. Z., Csikós, A., Kovács, G. M., Kiss, L. 2017. *Dothiorella omnivora* isolated from grapevine with trunk disease symptoms in Hungary. *European Journal of Plant Pathology* (online early) (IF: 1,478)
- Nagy, L. G., Tóth, R., Kiss, E., Slot, J., Gácsér, A., Kovács, G. M. 2017. Six Key Traits of Fungi: Their Evolutionary Origins and Genetic Bases. *Microbiology Spectrum* **5**: FUNK-0036-2016.
- Jung, T., Scanu, B., Bakonyi, J., Seress, D., Kovács, G. M., Durán, A., Sanfuentes von Stowasser, E., Schena, L., Mosca, S., Thu, P. Q., Nguyen, C. M., Fajardo, S., González, M., Pérez-Sierra, A., Rees, H., Cravador, A., Maia, C., Horta Jung, M. 2017. *Nothophytophthora* gen. nov., a new sister genus of *Phytophthora* from natural and semi-natural ecosystem. *Persoonia* **39**: 143–174. (IF: 7,511)
- Jung, T., Jung, M. H., Scanu, B., Seress, D., Kovács, G. M., Maia, C., Pérez-Sierra, A., Chang, T-T., Chandelier, A., Heungens, K., van Poucke, K., Abad-Campos, P., León, M., Cacciola, S. O., Bakonyi, J. 2017. Six new *Phytophthora* species from ITS Clade 7a including two sexually functional heterothallic hybrid species detected in natural ecosystems in Taiwan. *Persoonia* **38**: 100–135. (IF: 7,511)
- Tanner, R. A., Ellison, C. A., Seier, M. K., Kovács, G. M., Kassai-Jäger, E., Bereczky, Z., Varia, S., Djeddour, D., Singh, M. C., Csiszár, Á., Csontos, P., Kiss, L., Evans, H. C. 2015. *Puccinia komarovii* var. *glanduliferae* var. nov.: a fungal agent for the biological control of

Himalayan balsam (*Impatiens glandulifera*). *European Journal of Plant Pathology* **141**: 247–266. (IF: 1,494)

- Tollenaere, C., Pernechele, B., Mäkinen, H., Parratt, S., Németh, M., Kovács, G. M., Kiss, L., Tack, A., Laine, A.-L. 2014. A hyperparasite affects the population dynamics of a wild plant pathogen. *Molecular Ecology* **23**: 5877–5887.
- Nagy, L. G., Ohm, R. A., Kovács, G. M., Floudas, D., Riley, R., Gácsér, A., Sipiczki, M., Davis, J. M., Doty, S. L., de Hoog, G. S., Lang, B. F., Spatafora, J. W., Martin, F. M., Grigoriev, I. V., Hibbett, D. S. 2014. Latent homology and convergent regulatory evolution underlies the repeated emergence of yeasts. *Nature Communications* **5**: 4471. (IF: 11,47)
- Pintye, A., Bereczky, Z., Kovács, G. M., Nagy, L. G., Xu, X., Legler, S. E., Váczy, Z., Váczy, K. Z., Caffi, T., Rossi, V., Kiss, L. 2012. No indication of strict host associations in a widespread mycoparasite: grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) is attacked by phylogenetically distant *Ampelomyces* strains in the field. *Phytopathology* **102**: 707–716. (IF: 2,968)
- Bakonyi, J., Vajna, L., Szeredi, A., Tímár, E., Kovács, G. M., Csósz, M., Varga, A. 2011. First Report of *Sclerotium cepivorum* causing white rot of garlic in Hungary. *New Disease Reports* **23**: 5.
- Kiss, L., Pintye, A., Kovács, G. M., Jankovics, T., Fontaine, M. C., Harvey, N., Xu, X., Nicot, P. C., Bardin, B., Shykoff, J. A., Giraud, T. 2011. Temporal isolation explains host-related genetic differentiation in a group of widespread mycoparasitic fungi. *Molecular Ecology* **20**: 1492–150. (IF: 5,522)
- Lőrincz, L., Preininger, É., Kósa, A., Pónyi, T., Nyitrai, P., Sarkadi, L., Kovács, G. M., Böddi, B., Gyurján I. 2010: Artificial tripartite symbiosis involving a green alga (*Chlamydomonas*), a bacterium (*Azotobacter*) and a fungus (*Alternaria*): morphological and physiological characterization. *Folia Microbiologica* **55**: 393–400. (IF: 0,977)
- Kiss, L., Jankovics, T., Kovács, G. M., Daugherty, M. L. 2008. *Oidium longipes*, a new powdery mildew fungus on petunia in the USA: a potential threat to ornamental and vegetable solanaceous crops. *Plant Disease* **92**: 818–825. (IF: 1,874)
- Jankovics, T., Bai, Y., Kovács, G. M., Bardin, M., Nicot, P. C., Toyoda, H., Matsuda, Y., Niks R. E., Kiss, L. 2008. *Oidium neolycopersici*: Intra-specific variability inferred from AFLP analysis and relationship with closely related powdery mildew fungi infecting various plant species. *Phytopathology* **98**: 529–540. (IF: 2,192)
- Vági, P., Kovács, G. M., Kiss, L. 2007. Host range expansion in a powdery mildew fungus (*Golovinomyces* sp.) infecting *Arabidopsis thaliana*: *Torenia fournieri* as a new host. *European Journal of Plant Pathology* **117**: 89–93. (IF: 1,482)
- Liang, C., Yang, J., Kovács, G. M., Szentiványi, O., Li, B., Xu, X. M., Kiss, L. 2007: High genetic diversity of *Ampelomyces* mycoparasites isolated from different powdery mildew fungi in China. *Fungal Diversity* **24**: 225–240. (IF: 3,593)
- Szentiványi, O., Kiss, L., Russell, J. C., Kovács, G. M., Varga, K., Jankovics, T., Lesemann, S., Xu, X-M., Jeffries, P. 2005: *Ampelomyces* mycoparasites from apple powdery mildew are identified as a distinct group based on single-stranded conformation polymorphism analysis of the rDNA ITS region. *Mycological Research* **109**: 429–438. (IF: 1,572)

* megosztott elsőszerek

10. Felhasznált irodalom

- Abarenkov K, Tedersoo L, Nilsson RH, Vellak K, Saar I és mtsai. 2010. PlutoF — a web based workbench for ecological and taxonomic research, with an online implementation for fungal ITS sequences. *Evol Bioinform Online* 6: 189–196.
- Addy HD, Piercey MM, Currah RS 2005. Microfungal endophytes in roots. *Can J Bot* 83: 1–13.
- Agerer R 1987–2008. Colour atlas of ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd, München.
- Agerer R 1991. Characterization of ectomycorrhiza. In: Norris JR, Read DJ, Varma AK (eds.) Techniques for the study of mycorrhiza. *Methods Microbiol* 23: 25–73.
- Agerer R 1995. Anatomical characteristics of identified ectomycorrhizas: an attempt towards a natural classification. In: Varma K, Hock B (eds.) Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 685–734.
- Agerer R 2001. Exploration types of ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 11: 107–114.
- Agerer R 2006. Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 5: 67–107.
- Agerer R, Danielson RM, Egli S, Ingleby K, Luoma D, Treu R 1996–2012. Description of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd, München.
- Agerer R, Gronbach E 1988. *Cenococcum geophilum*. In: Agerer R (eds.) Colour Atlas of Ectomycorrhizae, plate 11, Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd, München.
- Agerer R, Iosifidou P 2004. Rhizomorph structure of Hymenomycetes: a possibility to test DNA-based phylogenetic hypotheses? In: Agerer R, Piepenbring M, Blanz P (eds.) Frontiers in Basidiomycete Mycology, IHW-Verlag, Eching, pp. 249–302.
- Agerer R, Rambold G 2004–2017. [first posted on 2004-06-01; most recent update: 2011-01-10]. DEEMY – An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae. www.deemy.de – München.
- Alguacil MM, Torrecillas E, Caravaca F, Fernández DA, Azcón R, Roldán A 2011a. The application of an organic amendment modifies the arbuscular mycorrhizal fungal communities colonizing native seedlings grown in a heavy-metal-polluted soil. *Soil Biol Biochem* 43: 1498–1508.
- Alguacil MM, Torres MP, Torrecillas E, Díaz G, Roldán A 2011b. Plant type differently promote the arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity in the rhizosphere after revegetation of a degraded, semiarid land. *Soil Biol Biochem* 43: 167–173.
- Alsheikh AM 1994. Taxonomy and mycorrhizal ecology of the desert truffles in the genus *Terfezia* [PhD Dissertation]. Oregon State University, Corvallis.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ 1990. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215: 403–10.
- Alvarez IF, Parlade X, Trappe JM, Castellano MA 1993. Hypogeous mycorrhizal fungi of Spain. *Mycotaxon* 47: 201–217.
- Andrade-Linares DR, Grosch R, Franken P, Karl HR, Kost G és mtsai. 2011. Colonization of roots of cultivated *Solanum lycopersicum* by dark septate and other ascomycetous endophytes. *Mycologia* 103: 710–721.
- Arnold AE, Lutzoni F 2007. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology* 88: 541–549.
- Awamah MS, Alsheikh A 1979. Laboratory and field study of four kinds of truffle (Kamah), *Terfezia* and *Tirmania* species, for cultivation. *Mushroom Sci* 10: 507–517.
- Babos M 1989. Magyarország kalaposgombáinak (Agaricales s. l.) jegyzéke. *Mikol Közlem, Clusiana* 28(1–3): 3–234.
- Babos M 1999. Higher fungi (Basidiomycotina) of the Kiskunság National Park and its environs. In: Lőkös L, Rajczy M (eds.) The flora of the Kiskunság National Park 2. Cryptogams. MTM, Budapest, pp. 199–298.
- Baker BJ, Hugenholtz P, Dawson SC, Banfield JF 2003. Extremely acidophilic protists host Rickettsiales-lineage endosymbionts with an intervening sequence in their 16S rRNA genes. *Appl Environ Microbiol* 69: 5512–5518.
- Balázs TK, Blaszkowski J, Chwat G, Góral ska A, Gáspár BK és mtsai. 2015. Spore-based study of arbuscular mycorrhizal fungi of semiarid sandy areas in Hungary, with *Diversispora jakucsiae* sp. nov. *Micol Prog* 14: 1021.
- Baschien C, Manz W, Neu TR, Marvanová L, Szewczyk U 2008. *In situ* detection of freshwater fungi in an alpine stream by new taxon-specific fluorescence in situ hybridization probes. *Appl Environ Microbiol* 74: 6427–6436.
- Basiewicz M, Weiss M, Kogel K-H, Langen G, Zorn H és mtsai. 2012. Molecular and phenotypic characterization of a range of *Sebacina vermifera* strains associated with orchids, and the description of *Piriformospora williamsii* sp. nov. *Fungal Biol* 116: 204–213.
- Bauer R, Oberwinkler F, Vánky K 1997. Ultrastructural markers and systematics in smut fungi and allied taxa. *Can J Bot* 75: 1273–1314.
- Bhattacharya D, Yoon HS, Hedges SB, Hackett JD 2009. Eukaryotes (Eukaryota). In: Hedges SB, Kumar S (eds.) The Timetree of Life, Oxford University Press, pp. 116–120.
- Bidartondo MI, Bruns TD, Blackwell M, Edwards I, Taylor AFS és mtsai. 2008. Preserving accuracy in GenBank. *Science* 319: 1616.

- Bidartondo MI, Burghardt B, Gebauer G, Bruns TD, Read DJ 2004. Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 271: 1799–1806.
- Binder A, Persoh D, Yorou NS, Verma R, Bässler C, Agerer R 2013. Ectomycorrhizae of *Tomentella badia*: description and molecular identification. *Acta Mycol* 48: 155–171.
- Błaszowski J 2012. Glomeromycota. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Krakow, pp. 300.
- Błaszowski J, Chwat G, Góralska A, Ryszka P, Kovács GM 2015. Two new genera, *Dominikia* and *Kamienskia*, and *D. disticha* sp. nov. in Glomeromycota. *Nova Hedwigia* 100: 225–238.
- Błaszowski J, Czerniawska B, Wubet T, Schäfer T, Buscot F, Renker C 2008. *Glomus irregulare*, a new arbuscular mycorrhizal fungus in the Glomeromycota. *Mycotaxon* 106: 247–267.
- Błaszowski J, Kovács GM, Balázs TK, Orłowska E, Sadraei M és mtsai. 2010. *Glomus africanum* and *G. iranikum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycologia* 102: 1450–1462.
- Błaszowski J, Kovács GM, Gáspár BK, Balázs KT, Buscot F, Ryszka P 2012. The arbuscular mycorrhizal *Paraglomus majewskii* sp. nov. represents a distinct basal lineage in Glomeromycota. *Mycologia* 104: 148–156.
- Błaszowski J, Ryszka P, Koegel S, Wiemken A, Oehl F és mtsai. 2009. *Glomus achrum* and *G. bistratum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Botany* 87: 260–271.
- Bóka K, Király I, Bratek Z 1992. Ultrastructural observations on ascosporeogenesis of *Pachyphloeus melanoxanthus*. *Micologia Vegetazione Mediterranea* 7: 57–64.
- Bonfante P, Genre A 2008. Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective. *Trends Plant Sci* 13: 492–498.
- Bonito G 2009. Fast DNA-based identification of the black truffle *Tuber melanosporum* with direct PCR and species-specific primers. *FEMS Microbiol Lett* 301: 171–175.
- Bonito GM, Gryganskyi AP, Trappe JM, Vilgalys R 2010. A global meta-analysis of *Tuber* ITS rDNA sequences: species diversity, host associations and long-distance dispersal. *Mol Ecol* 19: 4994–5008.
- Bordallo J-J, Rodríguez A, Muñoz-Mohedano JM, Suz LM, Honrubia M, Morte A 2013. Five new *Terfezia* species from the Iberian Peninsula. *Mycotaxon* 124: 189–208.
- Brachmann A, Parniske M 2006. The Most Widespread Symbiosis on Earth. *PLoS Biol* 4: e239.
- Bratek Z, Merényi Zs, Varga T 2013. Changes of hypogeous fungi in the Carpathian-Pannonian region in the past centuries. *Acta Mycol* 48: 33–39.
- Bravo A, York T, Pumphlin N, Mueller LA Harrison MJ 2016. Genes conserved for arbuscular mycorrhizal symbiosis identified through phylogenomics. *Nat Plants* 2: 15208.
- Brock PM, Döring H, Bidartondo MI 2009. How to know unknown fungi: the role of a herbarium. *New Phytol* 181: 719–724.
- Brundrett MC 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol* 154: 275–304.
- Brundrett MC 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* 320: 37–77.
- Buée M, Reich M, Murat C, Morin E, Nilsson RH és mtsai. 2009. 454 pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpected high fungal diversity. *New Phytol* 184: 449–456.
- Buscot F 1987. Field observation and development of *Morchella rotunda* and *Mitrophora semilibera* in relation to forest soil temperature. *Can J Bot* 67: 589–593.
- Buscot F 1993. Mycelial differentiation of *Morchella esculenta* in pure culture. *Mycol Res* 97: 136–140.
- Buscot F 1994. Ectomycorrhizal types and endobacteria associated with ectomycorrhizas of *Morchella elata* (Fr.) Boudier with *Picea abies* (L.) Karst. *Mycorrhiza* 4: 223–232.
- Buscot F, Roux J 1987. Association between living roots and ascocarps of *Morchella rotunda*. *Trans Br Mycol Soc* 89: 249–252.
- Caldwell BA, Jumpponen A, Trappe JM 2000. Utilization of major detrital substrates by dark-septate, root endophytes. *Mycologia* 92: 230–232.
- Calonge FD, Rocabrana A, Tabare's M 1985. Nuevos datos sobre los hongos hipogeos de Espana. *Bol Soc Micol Castellana* 9: 45–54.
- Celio GJ, Padamsee M, Dentinger BT, Bauer R, McLaughlin DJ 2006. Assembling the Fungal Tree of Life: constructing the structural and biochemical database. *Mycologia* 98: 850–859.
- Chalot M, Brun A 1998. Physiology of organic nitrogen acquisition by ectomycorrhizal fungi and ectomycorrhizas. *FEMS Microbiol Rev* 22: 21–44.
- Corradi N, Brachmann A 2017. Fungal mating in the most widespread plant symbionts? *Trends Plant Sci* 22: 175–183.
- Crous PW, Hawksworth DL, Wingfield MJ 2015. Identifying and naming plant-pathogenic fungi: past, present, and future. *Annu Rev Phytopathol* 53: 247–67.
- Crous PW, Verkley GJM, Groenewald JZ, Samson RA (eds.) 2009. Fungal Biodiversity. CBS Laboratory Manual Series, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 1: 1–269.
- Curry KJ, Kimbrough JW 1983. Septal structures in apothecial tissues of the *Pezizaceae* (Pezizales, Ascomycetes). *Mycologia* 75: 781–794.

- da Silva GA, Lumini E, Maia LC, Bonfante P, Bianciotto V 2006. Phylogenetic analysis of Glomeromycota by partial LSU rDNA sequences. *Mycorrhiza* 16: 183–189.
- Dearnaley JD 2007. Further advances in orchid mycorrhizal research. *Mycorrhiza* 17: 475–86.
- Delaux P-M, Radhakrishnan GV, Jayaraman D, Cheema J, Malbreil M és mtsai. 2015. Algal ancestor of land plants was preadapted for symbiosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 112: 13390–13395.
- Deng XJ, Liu PG, Liu CY, Wang Y 2013. A new white truffle species, *Tuber panzhihuanense* from China. *Mycol Prog* 12: 557–561.
- Dickson S 2004. The *Arum*–*Paris* continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytol* 163: 187–200.
- Diez J, Manjón JL, Martin F 2002. Molecular phylogeny of the mycorrhizal desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*), host specificity and edaphic tolerance. *Mycologia* 94: 247–259.
- Durall DM, Todd AW, Trappe JM 1994. Decomposition of C-14-labeled substrates by ectomycorrhizal fungi in association with Douglas-fir. *New Phytol* 127: 725–729.
- Dyby SD, Kimbrough JW 1987. A comparative ultrastructural study of ascospore ontogeny in selected species of *Peziza* (Pezizales, Ascomycetes). *Bot Gaz* 148: 283–296.
- Emam T 2016. Local soil, but not commercial AMF inoculum, increases native and non-native grass growth at a mine restoration site. *Restor Ecol* 24: 35–44.
- Erős-Honti Z, Jakucs E, Kovács GM 2008. "Helianthemirhiza ochraceobrunnescens" + *Helianthemum canum* (L.) Baumg. *Descr Ectomycorrhizae* 11/12: 71–75.
- Ferdman Y, Aviram S, Roth-Bejerano N, Trappe JM, Kagan-Zur V 2005. Phylogenetic studies of *Terfezia pfeilii* and *Choiromyces echinulatus* (Pezizales) support new genera for southern African truffles: *Kalaharituber* and *Eremiomyces*. *Mycol Res* 109: 237–245.
- Fernández-Toirán LM, Águeda B 2007. Fruitbodies of *Cenococcum geophilum*. *Mycotaxon* 100: 109–114.
- Fitter AH, Moyersoen B 1996. Plant life histories: ecological correlates and phylogenetic constraints – Evolutionary trends in root-microbe symbioses. *Phil Trans B* 351: 1367–1375.
- Fogel R 1980. Additions to the hypogeous mycoflora of the Canary Islands and Madeira. *Contr Univ Michigan Herb* 14: 75–82.
- Frank B 1885. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze” from Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 3: 128–145.
- Füzy A, Bothe H, Molnár E, Biró B 2013. Mycorrhizal symbiosis affects on growth of chalk false-brome (*Brachypodium pinnatum*) are dependent on the environmental light regime. *J Plant Physiol* 171: 1–6.
- Gallaud I 1905. Études sur les mycorrhizes endotrophes. *Rev Gen Bot* 17: 5–48, 66–83, 123–136, 223–239, 313–325, 425–433, 479–500.
- Gardes M, Bruns TD 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol Ecol* 2: 113–118.
- Gilkey H 1947. New or otherwise noteworthy species of Tuberales. *Mycologia* 36: 441–452.
- Glynou K, Ali T, Buch A-K, Kia HS, Ploch S és mtsai. 2016. The local environment determines the assembly of root endophytic fungi at a continental scale. *Environ Microbiol* 18: 2418–2434.
- Goodman DM, Durall DM, Trofymow JA, Berch SM (eds.) 1996–2002 A Manual of Concise Descriptions of North American Ectomycorrhizae. Mycologue Publications, Sidney, BC, Canada.
- Gordon J, Knowlton N, Relman DA, Rohwer F, Youle M 2013. Superorganisms and holobionts. *Microbe* 8: 152–153.
- Green LE, Porras-Alfaro A, Sinsabaugh RL 2008. Translocation of nitrogen and carbon integrates biotic crust and grass production in desert grassland. *J Ecol* 96: 1076–1085.
- Grigoriev IV, Cullen D, Goodwin SB, Hibbett D, Jeffries TW és mtsai. 2011. Fueling the future with fungal genomics. *Mycology* 2: 192–209.
- Gross G 1987. Zu den europäischen Sippen der Gattung *Tuber*. In: Derbsch H, Schmitt JA (eds.) Atlas der Pilze des Saarlandes, 2. Nachweise, Ökologie. Vorkommen und Beschreibungen. Saarbrücken.
- Grünig CR, Queloz V, Duò A, Sieber TN 2009. Phylogeny of *Phaeomollisia piceae* gen. sp. nov.: a dark, septate, conifer-needle endophyte and its relationships to *Phialocephala* and *Acephala*. *Mycol Res* 113: 207–221.
- Grünig CR, Queloz V, Sieber TN, Holdenrieder O 2008. Dark septate endophytes (DSE) of the *Phialocephala fortinii* s.l. – *Acephala applanata* species complex in tree roots: classification, population biology, and ecology. *Can J Bot* 86: 1355–1369.
- Guevara G, Bonito G, Trappe JM, Cázeres E, Williams G és mtsai. 2013. New North American truffles (*Tuber* spp.) and their ectomycorrhizal associations. *Mycologia* 105: 194–209.
- Gutjahr C, Parniske M 2013. Cell and developmental biology of arbuscular mycorrhiza symbiosis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 29: 593–617.
- Halász K, Bratek Z, Szegő D, Rudnóy S, Rác I és mtsai. 2005. Tests of species concepts of the small, white, european group of *Tuber* spp. based on morphology and rDNA its sequences with special reference to *Tuber rapaeodorum*. *Mycol Prog* 4: 281–290.

- Hannula SE, van Veen JA 2016. Primer sets developed for functional genes reveal shifts in functionality of fungal community in soils. *Front Microbiol* 7: 1897.
- Hansen K, Lobuglio KF, Pfister DH 2005. Evolutionary relationships of the cup-fungus genus *Peziza* and *Pezizaceae* inferred from multiple nuclear genes: RPB2, β -tubulin and LSU rDNA. *Mol Phylogenet Evol* 36: 1–23.
- Hardoim PR, van Overbeek LS, Berg G, Pirttilä AM, Compant S és mtsai. 2015. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiol Mol Biol Rev* 79: 293–320.
- Hartnett DC, Wilson GWT 1999. Mycorrhizal influence plant community structure and diversity in tallgrass prairie. *Ecology* 80: 1187–1195.
- Haselwandter K, Read DJ 1980. Fungal associations of the roots of dominant and subdominant plants in high-alpine vegetation systems with special reference to mycorrhiza. *Oecologia* 45: 57–62.
- Haug I, Wubet T, Weiss M, Aguirre N, Weber M és mtsai. 2010. Species-rich but distinct arbuscular mycorrhizal communities in reforestation plots on degraded pastures and in neighboring pristine tropical mountain rain forest. *Trop Ecol* 51: 125–148.
- Hawkes CV, Belnap J, D'Antonio C, Firestone MK 2006 Arbuscular mycorrhizal assemblages in native plant roots change in the presence of invasive exotic grasses. *Plant Soil* 281: 369–380.
- Hawksworth DL 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude significance, and conservation. *Mycol Res* 95: 641–655.
- Hawksworth DL 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycol Res* 105: 1422–1432.
- Hawksworth DL, Crous PW, Redhead SA, Reynolds DR, Samson RA és mtsai. 2011. The Amsterdam Declaration on Fungal Nomenclature. *IMA Fungus* 2: 105–112.
- Hawksworth DL, Hibbett DS, Kirk PM Lücking R 2016. Proposals to permit DNA sequence data to serve as types of names of fungi. *Taxon* 65: 899–900.
- Hawksworth DL, Lücking R 2017. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiol Spectr* 5: doi:10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016.
- Healy RA 2003. *Mattirolomyces tiffanyae*, a new truffle from Iowa, with ultrastructural evidence for its classification in the *Pezizaceae*. *Mycologia* 95: 765–772.
- Healy RA, Kovács GM 2010. Ultrastructural observations on the ascomata and ascospores of the truffle *Mattirolomyces terfezioides*. *Botany* 88: 85–92.
- Healy RA, Zurier H, Bonito G, Smith ME, Pfister DH 2016. Mycorrhizal detection of native and non-native truffles in a historic arboretum and the discovery of a new North American species, *Tuber arnoldianum* sp. nov. *Mycorrhiza* 26: 781–92.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 270: 313–321.
- Hedges SB, Blair JE, Venturi ML, Shoe JL 2004. A molecular timescale of eukaryote evolution and the rise of complex multicellular life. *BMC Evol Biol* 4: 2.
- Helgason T, Daniell TJ, Husband R, Fitter AH, Young JPW 1998. Ploughing up the wood-wide Web? *Nature* 394: 431.
- Hernádi I, Posta K 2013. Real-case application of mycorrhizal inoculums on *Capsicum annuum* L. var. longum cv. Szegedi and Kalocsai, *Int J Hort Sci* 19: 75–79.
- Herrera J, Khidir HH, Eudy DM, Porras-Alfaro A, Natvig DO, Sinsabaugh RL 2010. Shifting fungal endophyte communities colonize *Bouteloua gracilis*: effect of host tissue and geographical distribution. *Mycologia* 102: 1012–1026.
- Herrera J, Poudel R, Khidir HH 2011. Molecular characterization of coprophilous fungal communities reveals sequences related to root-associated fungal endophytes. *Microb Ecol* 61: 239–244.
- Hibbett D 2016. The invisible dimension of fungal diversity. *Science* 351: 1150–1151.
- Hibbett D, Abarenkov K, Kõljalg U, Öpik M, Chai B, Cole J és mtsai. 2016. Sequence-based classification and identification of Fungi. *Mycologia* 108: 1049–1068.
- Hibbett DS, Ohman A, Glotzler D, Nuhn M, Kirk PM, Nilsson RH 2011. Progress in molecular and morphological taxon discovery in Fungi and options for formal classification of environmental sequences. *Fung Biol Rev* 25: 38–47.
- Hibbett DS, Ohman A, Kirk PM 2009. Fungal ecology catches fire. *New Phytol* 184: 279–282.
- Hibbett DS, Taylor JW 2013. Fungal systematics: is a new age of enlightenment at hand? *Nat Rev Microbiol* 11: 129–133.
- Hijri M, Sanders IR 2005. Low gene copy number shows that arbuscular mycorrhizal fungi inherit genetically different nuclei. *Nature* 433: 160–163.
- Ho I, Trappe JM 1973. Translocation of ^{14}C from *Festuca* plants to their endomycorrhizal fungi. *Nature* 244: 30–31.
- Hollós L 1911. Magyarország föld alatti gombái, szarvasgombaféléi (Fungi Hypogaei Hungariae), Természettudományi Társulat, Budapest.
- Honrubia M, Andrino A, Morte A 2014. Preparation and maintenance of both man-planted and wild plots. In: Kagan Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A (eds.) *Desert Truffles. Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 367–387.
- Humble MW, King A, Phillips I 1977. API ZYM: a simple rapid system for the detection of bacterial enzymes. *J Clin Pathol* 30: 275–277.
- Imai S 1933. On two new species of *Tuberaceae*. *Proc Imp Acad Japan* 9: 182–184.

- Ingleby K, PA Mason, FT Last, LV Fleming 1990. Identification of ectomycorrhizas. ITE Research Publications No. 5. London HMSO.
- Jakucs E 1997. Az eddig ismert magyarországi tölgy-mikorrhizák határozókulcsa. *Mikol Közlem, Clusiana* 36: 35–38.
- Jakucs E, Csiha I 2002–2004. Ektomikorrhiza vizsgálatok alföldi tölgyesekben. *Erdészeti Kutatások* 91: 39–49.
- Jakucs E, Erős-Honti Z 2008. Morphological-anatomical characterization and identification of *Tomentella* ectomycorrhizas. *Mycorrhiza* 18: 277–285.
- Jakucs E, Erős-Honti Z, Seress D, Kovács GM 2015. Enhancing our understanding of anatomical diversity in *Tomentella* ectomycorrhizas: characterization of six new morphotypes. *Mycorrhiza* 25: 419–429.
- Jakucs E, Kovács GM, Agerer R, Romsics Cs, Erős-Honti Zs 2005a. Morphological-anatomical characterization and molecular identification of *Tomentella stiposa* ectomycorrhizae and related anatomotypes. *Mycorrhiza* 15: 247–258.
- Jakucs E, Kovács GM, Szedlay Gy, Erős-Honti Zs 2005b. Morphological and molecular diversity and abundance of tomentelloid ectomycorrhizae in broad-leaved forests of the Hungarian Plain. *Mycorrhiza* 15: 459–470.
- Jakucs E, Magyar L, Beenken L 1999. *Hebeloma ammophilum* Bohus + *Fumana procumbens* (Dun.) Gr. Godr. *Descriptions of Ectomycorrhizae* 4: 49–54.
- James TY, Letcher PM, Longcore JE, Mozley-Standridge SE, Porter D 2006. A molecular phylogeny of the flagellated fungi (Chytridiomycota) and description of a new phylum (Blastocladiomycota). *Mycologia* 98: 860–871.
- Janex-Favre MC, Parguey-Leduc A 1985. Les asques et les ascospores du *Terfezia clavaryi* Ch. (Tuberales). *Cryptogam Mycol* 6: 87–99.
- Janex-Favre MC, Parguey-Leduc A, Rioussel L 1988. L'ascocarpe hypogée d'une terfezie française (*Terfezia leptoderma* Tul.), Tuberales, Discomycetes. *Bull Soc Mycol France* 104: 145–178.
- Jones MDM, Forn I, Gadelha C, Egan MJ, Bass D és mtsai. 2011. Discovery of novel intermediate forms redefines the fungal tree of life. *Nature* 474: 200–203.
- Julou T, Burghardt B, Gebauer G, Berveiller D, Damesin C, Selosse M-A 2005. Mixotrophy in orchids: insights from a comparative study of green individuals and nonphotosynthetic individuals of *Cephalanthera damasonium*. *New Phytol* 166: 639–653.
- Jumpponen A, Jones KL 2009. Massively parallel 454-sequencing indicates hyperdiverse fungal communities in temperate *Quercus macrocarpa* phyllosphere. *New Phytol* 184: 438–448.
- Jumpponen A, Trappe JM 1998. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytol* 140: 295–310.
- Katoh K, Toh H 2008. Improved accuracy of multiple ncRNA alignment by incorporating structural information into a MAFFT-based framework. *BMC Bioinformatics* 9: 212.
- Keeling PJ, Burger G, Durnford DG, Lang BF, Lee RW és mtsai. 2005. The tree of eukaryotes. *Trends Ecol Evol* 20: 670–676.
- Keim J, Mishra B, Sharma R, Ploch S, Thines M 2014. Root-associated fungi of *Arabidopsis thaliana* and *Microthlaspi perfoliatum*. *Fungal Divers* 66: 99–111.
- Kenrick P, Crane PR 1997. The origin and early evolution of plants on land. *Nature* 389: 33–39.
- Kernaghan G, Patriquin G 2011. Host associations between fungal root endophytes and boreal trees. *Microb Ecol* 62: 460–473.
- Khidir HH, Eudy DM, Porras-Alfaro A, Herrera J, Natvig DO és mtsai. 2010. A general suite of fungal endophytes dominate the roots of two dominant grasses in a semiarid grassland. *J Arid Environ* 74: 35–42.
- Kia HS, Glynou K, Nau T, Thines M, Piepenbring M, Maciá-Vicente JG 2017. Influence of phylogenetic conservatism and trait convergence on the interactions between fungal root endophytes and plants. *ISME J* 11: 777–790.
- Kimbrough JW 1994. Septal ultrastructure and ascomycete systematics. In: Hawksworth DL (eds.) *Ascomycete Systematics: Problems and Perspectives in the Nineties*. Plenum Press, NY, pp. 127–141.
- Kimbrough JW, Wu CG, Gibson JL 1991. Ultrastructural evidence for the phylogenetic linkage of the truffle genus *Hydnobolites* to the *Pezizaceae* (Pezizales, Ascomycetes). *Bot Gaz* 152: 408–420.
- Király I, Bratek Z 1992. *Terfezia terfezioides* a common truffle in Hungary. *Micol Veg Med* 7: 43–45.
- Kiss L 2012. Limits of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences as species barcodes for Fungi. *Proc Natl Acad Sci USA* 109: E1811.
- Knapp DG, Kovács GM, Zajta E, Groenewald JZ, Crous PW 2015. Dark septate endophytic pleosporalean genera from semiarid areas. *Persoonia* 35: 87–100.
- Knapp DG, Pintye A, Kovács GM 2012. The dark side is not fastidious — dark septate endophytic fungi of native and invasive plants of semiarid sandy areas. *PLoS ONE* 7: e32570.
- Köhler A, Kuo A, Nagy LG, Morin E, Barry KW és mtsai. 2015. Convergent losses of decay mechanisms and rapid turnover of symbiosis genes in mycorrhizal mutualists. *Nat Genet* 47: 410–415.
- Köljalg U, Dahlberg A, Taylor AFS, Larsson E, Hallenberg N és mtsai. 2000. Diversity and abundance of resupinate thelephoroid fungi as ectomycorrhizal symbionts in Swedish boreal forests. *Mol Ecol* 9: 1985–1996.
- Köljalg U, Jakucs E, Boka K, Agerer R 2001. Three ectomycorrhizae with cystidia formed by different *Tomentella* species as revealed by rDNA-ITS sequences and anatomical characteristics. *Folia Cryptog Estonia* 38: 27–39.

- Köljalg U, Nilsson RH, Abarenkov K, Tedersoo L, Taylor AFS és mtsai. 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of Fungi. *Mol Ecol* 22: 5271–5277.
- Kottke I, Kovács GM 2014. Mycorrhizae – rhizosphere determinants of plant communities. What can we learn from the tropics? In: Eshel A, Beeckman T (eds.) *Plant Roots: The Hidden Half* (4th ed). CRC Press, Taylor & Francis Group, pp. 40-1–40-10.
- Kovács GM 2002. Mikorrhiza vizsgálatok alföldi területeken. PhD értekezés, Szegedi Tudományegyetem.
- Kovács GM 2008. Magyarországi növények mikorrhizáltsági vizsgálatának összefoglalása. Mit mondhatnak ezek az adatok? *Kitaibelia* 13: 62–73.
- Kovács GM, Bagi I 2001. Mycorrhizal status of a mixed deciduous forest from the Great Hungarian Plain with special emphasis on the potential mycorrhizal partners of *Terfezia terfezioides* (Matt.) Trappe. *Phyton – Annales Rei Botanicae* 41: 161–168.
- Kovács GM, Balázs T, Péntes Zs 2007. Molecular study of the arbuscular mycorrhizal fungi colonizing the sporophyte of the eusporangiate rattlesnake fern (*Botrychium virginianum*, *Ophioglossaceae*). *Mycorrhiza* 17: 597–605.
- Kovács GM, Balázs TK, Calonge FD, Martín MP 2011a. The diversity of *Terfezia* desert truffles: new species and a highly variable species complex with intrasporocarpic nrDNA ITS heterogeneity. *Mycologia* 103: 841–853.
- Kovács GM, Jakucs E 2001. “*Helianthemirhiza hirsuta*” + *Helianthemum ovatum* (Viv.) Dun. *Descriptions of Ectomycorrhizae* 5: 49–53.
- Kovács GM, Jakucs E 2006. Morphological and molecular comparison of white truffle ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 16: 567–574.
- Kovács GM, Jakucs E, Bagi I 2007. Identification of host plants and description of sclerotia of the truffle *Mattirolomyces terfezioides*. *Mycol Prog* 6: 19–26.
- Kovács GM, Jakucs E, Manjón JL, Esteve-Raventós F, Díez J 2002: *Cortinarius hinnuleus* Fr. + *Betula celtiberica* Rothm. et Vasc. *Descriptions of Ectomycorrhizae* 6: 7–11.
- Kovács GM, Jankovics T, Kiss L 2011c. Variation in the nrDNA ITS sequences of some powdery mildew species: Do routine molecular identification procedures hide valuable information? *Eur J Plant Pathol* 131: 135–141.
- Kovács GM, Kottke I, Oberwinkler F 2003. Light and electron microscopic study on the mycorrhizae of sporophytes of *Botrychium virginianum* – arbuscular structures resembling fossil forms. *Plant Biol* 5: 574–580.
- Kovács GM, Martín MP, Calonge FD 2009. First record of *Mattirolomyces terfezioides* from the Iberian Peninsula: its southern- and westernmost locality. *Mycotaxon* 110: 235–330.
- Kovács GM, Szigetvári Cs 2002. Mycorrhizae and other root-associated fungal structures of the plants of a sandy grassland on the Great Hungarian Plain. *Phyton – Annales Rei Botanicae* 42: 211–223.
- Kovács GM, Trappe JM 2014. Nomenclatural history and genealogies of desert truffles. In: Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A (eds.) *Desert Truffles. Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 21–37.
- Kovács GM, Trappe JM, Alsheikh AM, Bóka K, Elliott TF 2008. *Imaia*, a new truffle genus to accommodate *Terfezia gigantea*. *Mycologia* 100: 930–939.
- Kovács GM, Trappe JM, Alsheikh AM, Hansen K, Healy RA, Vági P 2011. *Terfezia* disappears from the American truffle mycota as two new genera and *Mattirolomyces* species emerge. *Mycologia* 103: 831–840.
- Kovács GM, Vágvolgyi Cs, Oberwinkler F 2003. *In vitro* interaction of the truffle *Terfezia terfezioides* with *Robinia pseudoacacia* and *Helianthemum ovatum*. *Folia Microbiol* 48: 369–378.
- Krüger M, Stockinger H, Krüger C, Schüssler A 2009. DNA-based species level detection of Glomeromycota: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 183: 212–223.
- Lacercat-Didier L, Berthelot C, Foulon J, Errard A, Martino E és mtsai. 2016. New mutualistic fungal endophytes isolated from poplar roots display high metal tolerance. *Mycorrhiza* 26: 657–671.
- Læssøe T, Hansen K 2007. Truffle trouble: what happened to the Tuberales? *Mycol Res* 111: 1075–1099.
- Lahrman U, Ding Y, Banhara A, Rath M, Hajirezaei MR és mtsai. 2013. Host-related metabolic cues affect colonization strategies of a root endophyte. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 13965–13970.
- Landwehr M, Hildebrandt U, Wilde P, Nawrath K, Tóth T és mtsai. 2002. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus geosporum* in European saline sodic and gypsum soils. *Mycorrhiza* 12: 199–211.
- Lange M 1956. A new species of *Picoa*. *Mycologia* 6: 877–878.
- Lee J, Lee S, Young JPW 2008. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol Ecol* 65: 339–349.
- Leonardi M, Comandini O, Rinaldi AC 2016. Peering into the Mediterranean black box: *Lactifluus rugatus* ectomycorrhizas on *Cistus*. *IMA Fungus* 7: 275–284.
- Li L-T 1997. Ultrastructural studies of *Leucangium carthusianum* (hypogeous Pezizales). *Int J Plant Sci* 158: 189–197.
- Liimatainen K, Niskanen T, Dima B, Kytövuori I, Ammirati JF, Frøslev TG 2014. The largest type study of Agaricales to date: bringing identification and nomenclature of Phlegmaciums (*Cortinarius*, Agaricales) into the DNA era. *Persoonia* 33: 98–140.
- Lin K, Limpens E, Zhang Z, Ivanov S, Saunders DGO és mtsai. 2014. Single nucleus genome sequencing reveals high similarity among nuclei of an endomycorrhizal fungus. *PLoS Genet* 10: e1004078.

- LoBuglio KF 1999. *Cenococcum*. In: Cairney JWG, John WG, Chambers SM (eds.) Ectomycorrhizal Fungi Key Genera in Profile. Springer Berlin, Heidelberg, pp. 287–309.
- Lorang JM, Tuori RP, Martinez JP, Sawyer TL, Redman RS és mtsai. 2001 Green fluorescent protein is lighting up fungal biology. *Appl Environ Microbiol* 67: 1987–1994.
- Löytynoja A, Goldman N 2005. An algorithm for progressive multiple alignment of sequences with insertions. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 10557–10562.
- Lutzoni F, Kauff F, Cox CJ, McLaughlin D, Celio G és mtsai. 2004. Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits. *Am J Bot* 91: 1446–1480.
- Magyar L, Beenken L, Jakucs E 1999. *Inocybe heimii* Bon + *Fumana procumbens* (Dun.) Gr. Godr. *Descriptions of Ectomycorrhizae* 4: 61–65.
- Maherali H, Klironomos JN 2007. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316: 1746–1748.
- Mandyam K, Jumpponen A 2005. Seeking the elusive function of root-colonising dark septate endophytic fungi. *Stud Mycol* 53: 173–189.
- Mandyam K, Loughin T, Jumpponen A 2010. Isolation and morphological and metabolic characterization of common endophytes in annually burned tallgrass prairie. *Mycologia* 102: 813–821.
- Mandyam KG, Jumpponen A 2014. Mutualism–parasitism paradigm synthesized from results of root-endophyte models. *Front Microbiol* 5: 776.
- Mandyam KG, Roe J, Jumpponen A 2013. *Arabidopsis thaliana* model system reveals a continuum of responses to root endophyte colonization. *Fungal Biol* 117: 250–260.
- Marasas WFO, Trappe JM 1973. Notes on southern African Tuberales. *Bothalia* 11: 139–141.
- Márquez ML, Redman SR, Rodriguez JR, Roossinck JM 2007. A virus in a fungus in a plant: three-way symbiosis required for thermal tolerance. *Science* 315: 513–515.
- Martin F, Aerts A, Ahrén D, Brun A, Danchin EG és mtsai. 2008. The genome of *Laccaria bicolor* provides insights into mycorrhizal symbiosis. *Nature* 452: 88–92.
- Martin F, Kohler A, Murat C, Balestrini R, Coutinho PM és mtsai. 2010. Périgord black truffle genome uncovers evolutionary origins and mechanisms of symbiosis. *Nature* 464: 1033–1038.
- Matheny PB, Aime MC, Bougher NL, Buyck B és mtsai. 2009. Out of the Palaeotropics? Historical biogeography and diversification of the cosmopolitan ectomycorrhizal mushroom family *Inocybaceae*. *J Biogeogr* 36: 577–592.
- Mattiolo O 1887. Illustrazione di tre nuove specie di Tuberacee Italiane. *Mem della Reale Accad Sci Torino (Seconda serie)* 38: 377–393.
- Mayerhofer SM, Kernaghan G, Harper AK 2013. The effects of fungal root endophytes on plant growth: a meta-analysis. *Mycorrhiza* 23: 119–128.
- McNeill J, Barrie FR, Buck WR, Demoulin V, Greuter W és mtsai. (eds.) 2012. International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code). Regnum Vegetabile 154. Königstein: Koeltz Scientific Books.
- Melin E, Nilsson H 1950. Transfer of radioactive phosphorus to pine seedlings by means of mycorrhizal hyphae. *Physiol Plant* 3: 88–92.
- Melin E, Nilsson H 1957. Transport of C¹⁴ labelled photosynthate to the fungal associate of pine mycorrhiza. *Svensk. Bot Tidsk* 51: 166.
- Merényi Zs, Varga T, Geml J, Orczán ÁK, Chevalier G, Bratek Z 2014. Phylogeny and phylogeography of the *Tuber brumale* aggr. *Mycorrhiza* 24: 101–113.
- Metzker ML 2010. Sequencing technologies — the next generation. *Nat Rev Genet* 11: 31–46.
- Middleton EL, Richardson S, Koziol L, Palmer CE, Yermakov Z és mtsai. 2015. Locally adapted arbuscular mycorrhizal fungi improve vigor and resistance to herbivory of native prairie plant species. *Ecosphere* 6: 276.
- Mims CW, Richardson EA, Kimbrough JW 1990. Ultrastructure of ascospore delimitation in freeze substituted samples of *Ascodesmis nigricans* (Pezizales). *Protoplasma* 156: 94–102.
- Montecchi A, Lazzari G 1992. Precisazioni su alcuni *Tuber* del gruppo “*Puberulum*” *T. borchii* e *T. gibbosum* Harkn. *Rev Micol* 35: 165–167.
- Montecchi A, Sarasini M 2000. Funghi Ipogei d’Europa. Associazione Micologica Bresadola, Fondazione Centro Studi Micologici, Trento.
- Montoya L, Bandala VM, Ramos A, Garay-Serrano E 2017. The ectomycorrhizae of *Lactarius rimosellus* and *Lactarius acatlanensis* with the endangered *Fagus grandifolia* var. *mexicana*. *Symbiosis* (online early) DOI: 10.1007/s13199-017-0489-0.
- Mooney NP 2013. Against the naming of fungi. *Fungal Biol* 117: 463–465.
- Morte A, Anrino A 2014. Domestication: Preparation of mycorrhizal seedlings. In: Kagan Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A (eds.) Desert Truffles. Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication. Springer Berlin Heidelberg, pp. 343–365.
- Morton JB, Redecker D 2001. Two families of Glomales, *Archaeosporaceae* and *Paraglomaceae*, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93: 181–195.

- Mueller GM, Wu X-N, Huang Y-Q, Guo S-Y, Aldana-Gomez R, Vilgalys R 2001. Assessing biogeographic relationships between North American and Chinese macrofungi. *J Biogeography* 28: 271–281.
- Munkvold L, Kjoller R, Vestberg M, Rosendahl S, Jakobsen I 2004. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 164: 357–364.
- Münzenberger B, Bubner B, Wöllecke J, Sieber TN, Bauer R és mtsai. 2009. The ectomycorrhizal morphotype *Pinirhiza sclerotia* is formed by *Acephala macrosclerotiorum* sp. nov., a close relative of *Phialocephala fortinii*. *Mycorrhiza* 19: 481–92.
- Nagy GL, Petkovics T, Kovács GM, Voigt K, Vágvolgyi Cs, Papp T 2011. Where is the unseen fungal diversity hidden? A study of *Mortierella* reveals a high contribution of reference collections to the identification of fungal environmental sequences. *New Phytol* 191: 789–794.
- Nagy L 2004. Fungisztikai vizsgálatok az Alföldön 1997 és 2003 között. *Mikol Közlem, Clusiana* 43: 15–46.
- Nagy L, Gorliczai Zs 2007. Újabb adatok az Alföld gombavilágához. *Mikol Közlem, Clusiana* 46: 211–256.
- Nagy LG, Kocsube S, Csana Z, Kovács GM, Petkovits T és mtsai. 2012. Re-mind the gap! insertion – deletion data reveal neglected phylogenetic potential of the nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) of fungi. *PLoS ONE* 7: e49794.
- Navarro-Ródenas A, Bárzana G, Nicolás E, Carra A, Schubert A, Morte A 2013. Expression analysis of aquaporins from desert truffle mycorrhizal symbiosis reveals a fine-tuned regulation under drought. *Mol Plant Microbe Interact* 26: 1068–1078.
- Navarro-Ródenas, A, Ruíz-Lozano JM, Kaldenhoff R, Morte A 2012. The Aquaporin TcAQP1 of the desert truffle *Terfezia clavervyi* is a membrane pore for water and CO₂ transport. *Mol Plant Microbe Interact* 25: 259–266.
- Newsham KK 2011. A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes. *New Phytol* 190: 783–793.
- Nilsson RH, Ryberg M, Abarenkov K, Sjökvist E, Kristiansson E 2009. The ITS region as a target for characterization of fungal communities using emerging sequencing technologies. *FEMS Microbiol Lett* 296: 97–101.
- Nilsson RH, Ryberg M, Kristiansson E, Abarenkov K, Larsson KH 2006. Taxonomic reliability of DNA sequences in public sequence databases: a fungal perspective. *PLoS ONE* 1: e59.
- Núñez MA, Dickie IA 2014. Invasive belowground mutualists of woody plants. *Biol Invasions* 16: 645–661.
- O'Brien HE, Parrent JL, Jackson JA, Moncalvo JM, Vilgalys R 2005. Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples. *Appl Environ Microbiol* 71: 5544–5550.
- O'Donnell KO, Cigelnik E, Weber NS, Trappe JM 1997. Phylogenetic relationships among ascomycetous truffles and the true and false morels inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequence analysis. *Mycologia* 89: 48–65.
- Obase K, Douhan GW, Matsuda Y, Smith ME 2016. Revisiting phylogenetic diversity and cryptic species of *Cenococcum geophilum* sensu lato. *Mycorrhiza* 26: 529–540.
- O'Donnell K, Sutton DA, Rinaldi MG, Sarver BA, Balajee SA és mtsai. 2010. Internet-accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. *J Clin Microbiol* 48: 3708–3718.
- Oehl F, da Silva GA, Goto BT, Sieverding E 2011a. Glomeromycota: three new genera, and glomoid species reorganized. *Mycotaxon* 116: 75–120.
- Oehl F, Sieverding E, Palenzuela J, Ineichen K, da Silva GA 2011b. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA Fungus* 2: 191–199.
- Ohta A 1994. Production of fruit-bodies of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*, in pure culture. *Mycoscience* 35: 147–151.
- Ohta A, Fujiwara N 2003. Fruit-body production of an ectomycorrhizal fungus in genus *Boletus* in pure culture. *Mycoscience* 44: 295–300.
- Öpik M, Davison J, Moora M, Zobel M 2014. DNA-based detection and identification of Glomeromycota: the virtual taxonomy of environmental sequences. *Botany* 92: 135–147.
- Öpik M, Metsis M, Daniell TJ, Zobel M, Moora M 2009. Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest. *New Phytol* 184: 424–437.
- Öpik M, Moora M, Liira J, Zobel M 2006. Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *J Ecol* 94: 778–790.
- Öpik M, Vanatoa A, Vanatoa E, Moora M, Davison J és mtsai. 2010. The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *New Phytol* 188: 223–241.
- Osmundson TW, Robert VA, Schoch CL, Baker LJ, Smith A és mtsai. 2013. Filling gaps in biodiversity knowledge for macrofungi: contributions and assessment of an herbarium collection DNA barcode sequencing project. *PLoS ONE* 8: e62419.
- Paolocci F, Rubini A, Riccioni C, Topini F, Arcioni S 2004. *Tuber aestivum* and *Tuber uncinatum*: two morphotypes or two species? *FEMS Microbiol Lett* 235: 109–115.
- Parádi I, Bratek Z, Láng F 2003. Influence of arbuscular mycorrhiza on polyamine content, growth and photosynthesis of *Plantago lanceolata* L. *Biol Plant* 46: 563–569.
- Parniske M 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol* 6: 763–775.
- Pawlowska TE, Taylor JW 2004. Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 427: 733–737.
- Peel MC, Finlayson BL, McMahon TA 2007. Updated world map of the Köppen-Geiger climateclassification. *Hydrol Earth Syst Sci* 11: 1633–1644.

- Pérez-Izquierdo L, Morin E, Maurice JP, Martin F, Rincón A és mtsai. 2017. A new promising phylogenetic marker to study the diversity of fungal communities: The Glycoside Hydrolase 63 gene. *Mol Ecol Resour* (early view) DOI: 10.1111/1755-0998.12678.
- Peškan-Berghöfer T, Shahollari B, Giong PH, Hehl S, Markert C és mtsai 2004. Association of *Piriformospora indica* with *Arabidopsis thaliana* roots represents a novel system to study beneficial plant–microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmic reticulum and at the plasma membrane. *Physiol Plant* 122: 465–477.
- Peter M, Kohler A, Ohm RA, Kuo A, Krützmann J és mtsai. 2016. Ectomycorrhizal ecology is imprinted in the genome of the dominant symbiotic fungus *Cenococcum geophilum*. *Nat Commun* 7: 12662.
- Peterson RL, Wagg C, Pautler M 2008. Associations between microfungial endophytes and roots: do structural features indicate function? *Botany* 86: 445–456.
- Peterson SW 2012. *Aspergillus* and *Penicillium* identification using DNA sequences: barcode or MLST? *Appl Microbiol Biotechnol* 95: 339–344.
- Podani J 1997. Bevezetés a többváltozós biológiai adatfeldtárás rejtelmeibe. Scientia Kiadó, Budapest.
- Porras-Alfaro A, Bayman P 2011. Hidden fungi, emergent properties: Endophytes and microbiomes. *Annu Rev Phytopathol* 49: 291–315.
- Porras-Alfaro A, Herrera J, Sinsabaugh RL, Odenbach KJ, Lowrey T és mtsai. 2008. Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. *Appl Environ Microbiol* 74: 1308–1315.
- Qiang X, Weiss M, Kogel K-H, Schäfer P 2012. *Piriformospora indica*—a mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. *Mol Plant Pathol* 13: 508–518.
- Rambold G, Agerer R 1997. DEEMY - the concept of a characterization and determination system for ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 7: 113–116.
- Ratnasingham S, Hebert PDN 2007. bold: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Mol Ecol Notes* 7: 355–364.
- Rayner RW 1970. A mycological colour chart. CMI and British Mycological Society. Kew, Surrey, England.
- Redecker D 2000. Specific PCR primers to identify arbuscular mycorrhizal fungi within colonized roots. *Mycorrhiza* 10: 73–80.
- Redecker D, Hijri I, Wiemken A 2003. Molecular identification of arbuscular mycorrhizal fungi in roots: perspectives and problems. *Folia Geobot* 38: 113–124.
- Redecker D, Raab P 2006. Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia* 98: 885–895.
- Redman SR, Sheehan BK, Stout GR, Rodriguez JR, Henson MJ 2002. Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science* 298: 1581.
- Reininger V, Sieber TN 2012. Mycorrhiza reduces adverse effects of dark septate endophytes (DSE) on growth of conifers. *PLoS ONE* 7: e42865.
- Reininger V, Sieber TN 2013. Mitigation of antagonistic effects on plant growth due to root co-colonization by dark septate endophytes and ectomycorrhiza. *Environ Microbiol Rep* 5: 892–898.
- Renker C, Heinrichs J, Kaldorf M, Buscot F 2003. Combining nested PCR and restriction digest of the internal transcribed spacer region to characterize arbuscular mycorrhizal fungi on roots from the field. *Mycorrhiza* 13: 191–198.
- Rich MK, Nouri E, Courty PE, Reinhardt D 2017. Diet of Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Bread and Butter? *Trends Plant Sci* 22: 652–660.
- Rillig MC, Mummey DL 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol* 171: 41–53.
- Rimóczi I 1994. Nagygyombáink cönológiai és ökológiai jellemzése. *Mikol Közlem, Clusiana* 33: 3–180.
- Robert V, Vu D, Amor ABH, van de Wiele N, Brouwer C és mtsai. 2013. MycoBank gearing up for new horizons. *IMA Fungus* 4: 371–379.
- Rodriguez RJ, White JF Jr, Arnold AE, Redman RS 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol* 182: 314–330.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- Ropars J, Corradi N 2015. Homokaryotic vs heterokaryotic mycelium in arbuscular mycorrhizal fungi: different techniques, different results? *New Phytol* 208: 638–641.
- Ryberg M, Matheny PB 2012. Asynchronous origins of ectomycorrhizal clades of Agaricales. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 279: 2003–2011.
- Saikkonen K, Faeth SH, Helander M, Sullivan TJ 1998. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annu Rev Ecol Syst* 29: 319–343.
- Schlegel M, Münsterkötter M, Güldener U, Bruggmann R, Duò A és mtsai. 2016. Globally distributed root endophyte *Phialocephala subalpina* links pathogenic and saprophytic lifestyles. *BMC Genomics* 17: 1015.
- Schmit JP, Mueller GM 2007. An estimate of the lower limit of global fungal diversity. *Biodivers Conserv* 16: 99–111.

- Schoch CL, Robbertse B, Robert V, Vu D, Cardinali G és mtsai. 2014. Finding needles in haystacks: linking scientific names, reference specimens and molecular data for Fungi. *Database* 2014: bau061.
- Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL és mtsai. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc Natl Acad Sci USA* 109: 6241–6246.
- Schulz B, Boyle C 2005. The endophytic continuum. *Mycol Res* 109: 661–686.
- Schulz B, Haas S, Junker C, Andrée N Schobert M 2015. Fungal endophytes are involved in multiple balanced antagonisms. *Curr Sci* 109: 39–45.
- Schüssler A, Schwarzott D, Walker C 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol Res* 105: 1413–1421.
- Schüssler A, Walker C 2010. The Glomeromycota. A species list with new families and new genera. Arthur Schüßler & Christopher Walker, Gloucester (online verzió).
- Schwarzott D, Walker C, Schüßler A 2001. *Glomus*, the largest genus of the arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales), is non-monophyletic. *Mol Phylogenet Evol* 21: 190–197.
- Selosse M-A, Bocayuva MF, Kasuya MCM, Courty P-E 2016. Mixotrophy in mycorrhizal plants: extracting C from mycorrhizal networks. In: F. Martin (Eds.) *Molecular mycorrhizal Symbiosis*, Springer, Berlin Heidelberg, pp. 451–471.
- Selosse M-A, Le Tacon F 1998. The land flora: a phototroph-fungus partnership? *Trends Ecol Evol* 13: 15–20.
- Selosse M-A, Roy M 2009. Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. *Trends Plant Sci* 14: 64–70.
- Seress D, Dima B, Kovács GM 2016. Characterisation of seven *Inocybe* ectomycorrhizal morphotypes from a semiarid woody steppe. *Mycorrhiza* 26: 215–225.
- Shavit E 2014. The history of desert truffle use. In: Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A (eds.) *Desert Truffles. Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 217–241.
- Shi P, Abbott LK, Banning NC, Zhao B 2012. Comparison of morphological and molecular genetic quantification of relative abundance of arbuscular mycorrhizal fungi within roots. *Mycorrhiza* 22: 501–513.
- Sieber TN, Grünig CR 2014 Fungal root endophytes. Eshel A, Beeckman T (eds.) *Plant Roots: The Hidden Half* (4th ed). CRC Press, Taylor & Francis Group, pp. 38: 1–49.
- Sieverding E, da Silva GA, Berndt R, Oehl F 2014. *Rhizoglomus*, a new genus of the *Glomeraceae*. *Mycotaxon* 129: 373–386.
- Siller I 2004. Hazai montán bükkös erdőrezervátumok (Mátra: Kékes-Észak, Bükk: Őserdő) nagygombái. PhD-disszertáció, Corvinus Egyetem, Budapest.
- Siller I, Kutszegi G, Takács K, Varga T, Merényi Zs és mtsai. 2013. Sixty-one macrofungi species new to Hungary in Őrség National Park. *Mycosphere* 4: 871–924.
- Silvestro D, Michalak I 2012. raxmlGUI: A graphical front-end for RAxML. *Org Divers Evol* 12: 335–337.
- Simmons MP, Ochoterena H, Carr TG 2001. Incorporation, relative homoplasy, and effect of gap characters in sequence-based phylogenetic analysis. *Syst Biol* 50: 454–462.
- Simon L, Bousquet J, Lévesque C, Lalonde M 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature* 363: 67–69.
- Simon L, Lalonde M, Bruns TD 1992. Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular arbuscular endomycorrhizal fungi colonizing roots. *Appl Environ Microbiol* 58: 291–293.
- Simon UK, Weiss M 2008. Intragenomic variation of fungal ribosomal genes is higher than previously thought. *Mol Biol Evol* 25: 2251–2254.
- Singh A, Singh A, Kumari M, Rai MK, Varma A 2003. Biotechnological importance of *Piriformospora indica* - a novel symbiotic mycorrhiza-like fungus: an overview. *Indian J Biotechnol* 2: 65–75.
- Singh MP 2009. Application of BioLog FF MicroPlate for substrate utilization and metabolite profiling of closely related fungi. *J Microbiol Meth* 77: 102–108.
- Smith FA, Smith SE 1997. Structural diversity in (vesicular)–arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytol* 137: 373–388.
- Smith SE, Read DJ 2008. *Mycorrhizal symbiosis* (3rd eds.) – Academic Press, London.
- Sokolski, S Dalpé Y, Séguin S, Khasa D, Lévesque CA, Piché Y 2010. Conspecificity of DAOM 197198, the model arbuscular mycorrhizal fungus, with *Glomus irregulare*: molecular evidence with three protein-encoding genes. *Botany* 88: 829–838.
- Spatafora JW, Chang Y, Benny GL, Lazarus K, Smith ME 2016. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia* 108: 1028–1046.
- Staden R, Beal KF, Bonfield JK 2000. The Staden package, 1998. *Methods Mol Biol* 132: 115–130.
- Stamatakis A 2014. RAxML version 8: a tool phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312–1313.
- Stielow JB, Lévesque CA, Seifert KA, Meyer W, Irinyi L és mtsai. 2015. One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes. *Persoonia* 35: 242–263.
- Stockinger H, Walker C, Schüssler A 2009. '*Glomus intraradices* DAOM197198', a model fungus in arbuscular mycorrhiza research, is not *Glomus intraradices*. *New Phytol* 183: 1176–1187.

- Stone JK, Bacon CW, White JF Jr 2000. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Bacon CW, White JF Jr (eds.) *Microbial endophytes*. Marcel Dekker, New York, New York, USA pp. 3–29.
- Stubblefield SP, Taylor TN, Trappe JM 1987. Fossil mycorrhizae: a case study for symbiosis. *Science* 237: 59–60.
- Stutz JC, Morton JB 1996. Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular mycorrhizal fungi in arid ecosystems. *Can J Bot* 74: 1883–1889.
- Su YY, Guo LD, Hyde KD 2010. Response of endophytic fungi of *Stipa grandis* to experimental plant function group removal in Inner Mongolia steppe, China. *Fungal Divers* 43: 93–101.
- Su ZZ, Mao LJ, Li N, Feng XX, Yuan ZL és mtsai. 2013. Evidence for biotrophic lifestyle and biocontrol potential of dark septate endophyte *Harpophora oryzae* to rice blast disease. *PLoS ONE* 8: e61332.
- Suetrong S, Schoch CL, Spatafora JW, Kohlmeyer J, Volkmann-Kohlmeyer B és mtsai. 2009. Molecular systematics of the marine Dothideomycetes. *Stud Mycol* 64: 155–173.
- Symanczik S, Courty PE, Boller T, Wiemken A, Al-Yahya'ei MN 2015. Impact of water regimes on an experimental community of four desert arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) species, as affected by the introduction of a non-native AMF species. *Mycorrhiza* 25: 639–647.
- Szemere L 1965. Die unterirdischen Pilze des Karpatenbeckens. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Szemere L 1968. A Bakony hegység nagygyombái. *A Veszprém Megyei Múzeumok Közleményei* 7: 147–170.
- Takács T, Bratek Z 2006. Description of AM fungi species from semiarid open sandy grasslands in Hungary. *Acta Bot Hung* 48: 179–188.
- Tamás J 2003. The history of Austrian pine plantations in Hungary. *Acta Bot Croat* 62: 147–158.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, and Kumar S 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol* 28: 2731–2739.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, and Kumar S 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol Biol Evol* 30: 2725–2729.
- Tanaka K, Hirayama K, Yonezawa H, Sato G, Toriyabe A 2015. Revision of the *Massarineae* (Pleosporales, Dothideomycetes). *Stud Mycol* 82: 75–136.
- Taylor JW, Jacobson DJ, Kroken S, Kasuga T, Geiser DM és mtsai. 2000. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fungal Genet Biol* 31: 21–32.
- Taylor, TN Osborn, JM 1996. The importance of fungi in shaping the paleoecosystem. *Rev Palaeobot Palynol* 90: 249–262.
- Tedersoo L, Hansen K, Perry BA, Kjoller R 2006. Molecular and morphological diversity of pezizalean ectomycorrhiza. *New Phytol* 170: 581–596.
- Tedersoo L, May TW, Smith ME 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20: 217–263.
- Tedersoo L, Pärtel K, Jairus T, Gates G, Pöldmaa K, Tamm H 2009. Ascomycetes associated with ectomycorrhizas: molecular diversity and ecology with particular reference to the Helotiales. *Environ Microbiol* 11: 3166–3178.
- Tedersoo L, Smith ME 2013. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal Biol Rev* 27: 83–99.
- Tekere M, Mswaka AY, Zvauya R, Read J 2001. Growth, dye degradation and ligninolytic activity studies on Zimbabwean white rot fungi. *Enzyme Microb Technol* 28: 420–426.
- Tellenbach C, Sumarah MW, Grünig CR, Miller JD 2013. Inhibition of *Phytophthora* species by secondary metabolites produced by the dark septate endophyte *Phialocephala europaea*. *Fungal Ecol* 6: 12–18.
- Thiers HD 1984. "The secotioid syndrome." *Mycologia* 76: 1–8.
- Thiéry O, Moora M, Vasar M, Zobel M, Öpik M 2012. Inter- and intrasporal nuclear ribosomal gene sequence variation within one isolate of arbuscular mycorrhizal fungus, *Diversispora* sp. *Symbiosis* 58: 135–147.
- Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG 2002. Multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. *Curr Protoc Bioinformatics* Chapter 2: Unit 2.3.
- Tisserant E, Malbreil M, Kuo A, Kohler A, Symeonid A és mtsai. 2013. Genome of an arbuscular mycorrhizal fungus provides insight into the oldest plant symbiosis. *Proc Nat Acad Sci USA* 110: 20117–20122.
- Toju H, Yamamoto S, Sato H, Tanabe AS, Gilbert GS és mtsai. 2013. Community composition of root-associated fungi in a *Quercus*-dominated temperate forest: "codominance" of mycorrhizal and root-endophytic fungi. *Ecol Evol* 3: 1281–1293.
- Tollenaere C, Susi H, Laine A-L 2016. Evolutionary and epidemiological implications of multiple infection in plants. *Trends Plant Sci* 21: 80–90.
- Trappe JM 2005. A.B. Frank and mycorrhizae: the challenge to evolutionary and ecologic theory. *Mycorrhiza* 15: 277–281.
- Trappe JM, Claridge AW, Arora D, Smit WA 2008b. Desert truffles of the African Kalahari: ecology, ethnomycology and taxonomy. *Econ Bot* 62: 521–529.
- Trappe JM, Claridge AW, Claridge DL, Liddle L 2008a. Desert truffles of the Australian outback: ecology, ethnomycology and taxonomy. *Econ Bot* 62: 497–506.

- Trappe JM, Kovács GM, Claridge AW 2010a. Validation of the new combination *Mattirolomyces austroafricanus*. *Mycol Prog* 9: 145.
- Trappe JM, Kovács GM, Claridge AW 2010b. Comparative taxonomy of desert truffles of the Australian Outback and African Kalahari. *Mycol Prog* 9: 131–143.
- Trappe JM, Kovács GM, Weber NS 2014. Ecology and distribution of desert truffles in Western North America. In: Kagan Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A (eds.) *Desert Truffles. Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 107–120.
- Trappe JM, Sundberg WJ 1977. *Terfezia gigantea* (Tuberales) in North America. *Mycologia* 69: 433–437.
- Trouvelot S, van Tuinen D, Hijri M, Gianinazzi-Pearson V 1999. Visualization of ribosomal DNA loci in spore interphasic nuclei of glomalean fungi by fluorescence in situ hybridization. *Mycorrhiza* 8: 203–206.
- Turnau K, Ryszka P, Gianinazzi-Pearson V, van Tuinen D 2001. Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc wastes in southern Poland. *Mycorrhiza* 10: 169–174.
- Upton KK, Read DJ, Newsham KK 2009. Nitrogen form influences the response of *Deschampsia antarctica* to dark septate root endophytes. *Mycorrhiza* 20: 1–11.
- Usuki F, Narisawa K 2007. A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*, and a nonmycorrhizal plant, Chinese cabbage. *Mycologia* 99: 175–184.
- Vági P, Knapp GD, Kósa A, Seress D, Horváth ÁN, Kovács GM 2014. Simultaneous specific in planta visualization of root colonizing fungi using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Mycorrhiza* 24: 259–266.
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R és mtsai. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 72–75.
- van Tuinen D, Jacquot E, Zhao B, Gollotte A, Gianinazzi-Pearson V 1998. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR. *Mol Ecol* 7: 879–887.
- Vandenkoornhuyse P, Quaiser A, Duhamel M, Le Van A, Dufresne A 2015. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytol* 206: 1196–1206.
- Vasar M, Andreson R, Davison J, Jaius T, Moora M és mtsai. 2017. Increased sequencing depth does not increase captured diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* (online early) DOI: 10.1007/s00572-017-0791-y.
- Vasas G, Locsmándi Cs 1995. The macroscopic fungi (Basidiomycetes) of Őrség, western Hungary. *Savaria* 22: 265–294.
- Verkley GJM, Dukik K, Renfurn R, Göker M, Stielow JB 2014. Novel genera and species of coniothyrium-like fungi in *Montagnulaceae* (Ascomycota). *Persoonia* 32: 25–51.
- Verma S, Varma A, Rexer K-H, Hassel A Kost G és mtsai. 1998. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia* 90: 896–903.
- Volk TJ, Leonard TJ 1989. Physiological and environmental studies of sclerotium formation and maturation in isolates of *Morchella crassipes*. *Appl Environ Microbiol* 55: 3095–3100.
- Walker C 1985. *Endogone lactiflua* forming ectomycorrhizas with *Pinus contorta*. *Trans Br Mycol Soc* 84: 353–355.
- Walker C 2016. Nomenclatural novelties. Index Fungorum no. 286.
- Walker C, Trappe JM, Schüssler A, Hawksworth DL, Cazes E és mtsai. 2017. Proposal to conserve the name *Rhizophagus* with a conserved type (Fungi: Glomeromycota: Glomeraceae). In: McNeill J, Redhead SA, Wiersema JH (eds.) *Proposal to conserve or reject names*. *Taxon* 66: 199–200.
- Wang B, Qiu YL 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16: 299–363.
- Wang X, Liu P Sun L 2017. Molecular and morphological data confirmed the presence of the rare species *Mattirolomyces terfezioides* in China. *Plant Diversity* 39: 89–93.
- Ward D 2008. *The biology of deserts*. Oxford University Press, Oxford.
- Wei J, Agerer R 2010. Three ectomycorrhizae of *Thelephoraceae* on Chinese pine (*Pinus tabulaeformis*) and a key to thelephoroid ectomycorrhizae. *Nova Hedwigia* 91: 165–186.
- Weiss M, Waller F, Zuccaro A, Selosse M-A 2016. Sebaciniales – one thousand and one interactions with land plants. *New Phytol* 211: 20–40.
- Wen J 1999. Evolution of eastern Asian and eastern North American Disjunct distributions in flowering plants. *Ann Rev Ecol Syst* 30: 421–455.
- White TJ, Bruns TD, Lee S, Taylor JW 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds.) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic, San Diego, pp. 315–322.
- Williams PG 1985. Orchidaceous rhizoctonias in pot cultures of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Can J Bot* 63: 1329–1333.
- Wilson GWT, Hartnett DC 1997. Effects of mycorrhizae on plant growth and dynamics in experimental tallgrass prairie microcosms. *Am J Bot* 84: 478–482.
- Winther JL, Friedman WE 2007. Arbuscular mycorrhizal symbionts in *Botrychium* (*Ophioglossaceae*). *Am J Bot* 94: 1248–1255.
- Wu X-N, Mueller GM 1997. Biogeographic relationships between the macrofungi of temperate eastern Asia and eastern North America. *Can J Bot* 75: 2108–2116.

- Wu X-N, Mueller GM, Lutzoni FM, Huang Y-Q, Guo S-Y 2000. Phylogenetic and biogeographic relationships of Eastern Asian and Eastern North American disjunct *Suillus* species (Fungi) as inferred from nuclear ribosomal RNA ITS sequences. *Mol Phy Evol* 17: 37–47.
- Wubet T, Kottke I, Teketay D, Oberwinkler F 2009. Arbuscular mycorrhizal fungal community structures differ between co-occurring tree species of dry Afromontane tropical forest and their seedlings exhibit potential to trap isolates suited for reforestation. *Mycol Prog* 8: 317–328.
- Wubet T, Weiss M, Kottke I, Teketay D, Oberwinkler F 2004. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in *Prunus africana*, an endangered medicinal tree species in dry Afromontane forests of Ethiopia. *New Phytol* 161: 517–528.
- Wubet T, Weiss M, Kottke I, Teketay D, Oberwinkler F 2006. Phylogenetic analysis of nuclear small subunit rDNA sequences suggests that the endangered African Pencil Cedar, *Juniperus procera*, is associated with distinct members of *Glomeraceae*. *Mycol Res* 110: 1059–69.
- Yamamoto K, Endo N, Degawa Y, Fukuda M, Yamada A 2017. First detection of *Endogone* ectomycorrhizas in natural oak forests. *Mycorrhiza* 27: 295–301.
- Yamanaka K, Namba K, Tajiri A 2000. Fruit body formation of *Boletus reticulatus* in pure culture. *Mycoscience* 41: 189–191.
- Zaffarano PL, Queloz V, Duò A, Grünig CR 2011. Sex in the PAC: A hidden affair in dark septate endophytes? *BMC Evol Biol* 11: 282.
- Zak J 2005. Fungal community of desert ecosystems: links to climate change. In: Dighton J, White JF, Oudemans P (eds.) *The fungal community* (3rd ed) CRC Taylor Francis, pp. 659–681.
- Zuccaro A, Lahrman U, Guldener U, Langen G, Pfiffi S és mtsai 2011. Endophytic life strategies decoded by genome and transcriptome analyses of the mutualistic root symbiont *Piriformospora indica*. *PLoS Pathog* 7: e1002290.