

dc_469_12

Akadémiai Doktori Értekezés

Tézisei

**Termesztés-technológiai beavatkozások hatása arbuszkuláris mikorrhiza
gombaközösségekre szántóföldi és kertészeti kultúrákban**

Posta Katalin

Gödöllő, 2013

dc_469_12

BEVEZETÉS

Az elmúlt évtizedekben az intenzív talajművelés, a helytelen talajhasználat, a túlzott mértékű és egyoldalú műtrágyázás következtében talajaink egy részének állapota jelentősen romlott. Előfordulhat, hogy a talajvizsgálat jó tápanyag-ellátottságot mutat, a növények mégsem jutnak elegendő hasznosítható tápanyaghoz. Ennek egyik oka lehet a megfelelő mikroba közösség hiánya, a mikroorganizmusok ugyanis képesek az időjárás vagy a hibás talajművelési eljárások negatív hatását tompítani vagy éppen segíteni a meglevő kedvező talajadottságok érvényesülését. A talaj hasznos mikroszervezetei közül a mikorrhiza gombáknak különösen nagy szerepet tulajdonítanak a talajok fizikai-kémiai és biológiai tulajdonságainak a javításában.

A mikorrhiza gombák mikroszkópos méretű, talajban élő mikroszervezetek, amelyek a szárazföldi növények többségével – köztük termesztett növényekkel, gyümölcsfákkal és erdőalkotó fákkal – képesek mindkét fél számára előnyös szimbiózisban élni. A különböző típusú mikorrhiza gombák közül legelterjedtebbek az endomikorrhizák közé tartozó obligát biotróf arbuszkuláris mikorrhiza (AM) gombák, amelyek a gazdanövény gyökérszövetének endodermiszébe behatolva jellegzetes képleteket, arbuszkulumokat és néha vezikulumokat hoznak létre. A mikorrhiza gombák előnyös hatással vannak a gazdanövény növekedésére, elsősorban a talajból való foszforfelvétel fokozása révén, de szerepet játszanak a növény só-, szárazság- és fém-tűrő-képességének fokozásában, valamint a kórokozók és kártevőkkel szembeni ellenállóság növelésében is. Számos tanulmány bizonyítja, hogy az eltérő agrotechnikai eljárások befolyásolják a talaj természetes arbuszkuláris mikorrhiza populációjának az összetételét. Az intenzív mezőgazdasági művelés, a peszticidek használata csökkenti a talaj AM gomba populáció diverzitását, ami a növények stressz-tűrésének csökkenésével járhat. A természetben kialakult, de az intenzív gazdálkodás miatt felborult egyensúlyt állíthatjuk vissza mikrobiológiai oltóanyagokkal, köztük mikorrhiza oltóanyagokkal.

A mikorrhiza oltóanyagok gyakorlati jelentőségét mutatja, hogy az elmúlt 10 évben közel 1800-szorosára nőtt a mikorrhiza oltóanyag előállítás és felhasználás világviszonylatban. Magyarországon is egyre terjednek a mikorrhiza oltóanyagot használó technológiák, elsősorban a kertészeti ágazatban. A kertészeti technológiákban ugyanis gyakran steril vagy félsteril közeget használnak, és ezzel nemcsak a kórokozó szervezeteket zárják ki, hanem a kedvező hatású mikroorganizmusokat is, amelyeknek a tápelem feltárásban és kórokozók elleni védelemben van szerepük. Az intenzív növénytermesztési technológiákban műtrágyák és peszticidek használatával biztosítják a tápelem utánpótlást, illetve a kórokozók elleni védekezést. Az egészséges élelmiszerek termelése azonban olyan környezetkímélő mezőgazdasági technológiák alkalmazását igényli, amelyek csökkent mértékű műtrágya és növényvédőszer felhasználása mellett is biztosítják a megfelelő mennyiségű és minőségű élelmiszer-alapanyagok előállítását.

A külföldi előállítású és Magyarországon is engedélyezett mikorrhiza oltóanyagok összetevői biológiailag lebonthatók, és alkalmazásuk során nem keletkezik a környezetre káros termék. Ugyanakkor, ezek a készítmények nem tartalmazzak Magyarországon honos AM gombafajokat, ezért bevezetésüket jogos fenntartásokkal fogadják, hiszen a flóra-idegen AM gombafajok elterjedésének következményei kiszámíthatatlanok. Dolgozatomban ezért nemcsak azokat a területeket vizsgáltam, ahol az arbuszkuláris

dc_469_12

mikorrhiza oltás kertészeti technológiába történő beillesztése a cél, hanem azt is tanulmányoztam, milyen változásokat okoz a mikorrhiza oltóanyag használata a helyi mikorrhiza közösségben, illetve milyen hatással vannak a helyi ökológiai viszonyok és a mezőgazdasági gyakorlatban alkalmazott módszerek, a mikorrhiza diverzitásra. Eredményeink hozzájárulhatnak olyan optimális agrotechnika kiválasztásához, amely biztosítja a talaj mikorrhiza diverzitásának megőrzését és segíti egy hatékony és a termesztési rendszerekhez leginkább adaptálódott AM gomba oltóanyag-kombináció kifejlesztését is.

Mindezek szellemében több területen folytattunk kutatómunkát azzal a céllal, hogy megállapítsuk:

- miként befolyásolja a stressz (modellként nehézfém stresszt alkalmazva) az arbuszkuláris mikorrhiza aktivitását és oltóanyagként történő felhasználását,
- mennyire befolyásolják a talajlakó ugróvillások az arbuszkuláris mikorrhiza gomba megjelenését és aktivitását,
- beilleszthető-e és hogyan a mikorrhiza oltás a paprika-fűszerpaprika termesztésébe, és milyen változás következik be a mikorrhiza oltóanyag használatakor a helyi mikorrhiza gomba közösségben,
- alkalmazható-e mikorrhiza oltás a muskátli nagyüzemi termesztésében, és hogyan változik a rizoszféra baktérium közössége eltérő tápelem ellátottságú közegben történő mikorrhiza oltóanyag alkalmazásakor,
- milyen hatással vannak a szántóföldi mezőgazdasági gyakorlatban alkalmazott módszerek a mikorrhiza diverzitásra; hogyan befolyásolja a növényi egyedsűrűség, a műtrágyázás és a szerves tápanyag utánpótlásként alkalmazott kukoricaszár az AM gomba diverzitását,
- és hogyan alakul a kukorica monokultúrából és különböző vetésforgó rendszerekből származó növények AM-gombaközösségének összetétele.

Nehézfém stressz hatása az arbuszkuláris mikorrhiza gombára

Az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézete Nagyhörcsöki Kísérleti telepén beállított hosszú időtartamú nehézfém terheléses kísérlet leírását Kádár publikációja (1995) tartalmazza. A kísérleti területről származó talajok segítségével kivitelezett növényházi vizsgálat pontos bemutatását Biró et al. (2005, 2006) idevonatkozó cikkei tartalmazzák.

Az ugróvillások és arbuszkuláris mikorrhiza gombák kölcsönhatásának vizsgálata

Sinella coeca és a *Folsomia candida* (Collembola, Insecta) ugróvillás fajok adult egyedeinek spórafogyasztását vizsgáltuk, mindkét faj számára AM gomba faj spóráit felkínálva táplálékként. A Petri-csészékbe 40 (*Glomus mosseae*), illetve 25 (*Glomus intraradices*) spórát helyeztünk, három ismétlésben, 25 kifejlett állattal. A vizes agar felszínén végbement spóraszám változást sztereomikroszkóp segítségével vizsgáltuk, az állatok behelyezését követő 48 óra múlva. Az ugróvillásoknak az arbuszkuláris mikorrhiza gomba elterjesztésének vizsgálatához alkalmazott tenyészedény pontos leírását a Seres et al. (2006a) cikk tartalmazza. A Collemboláknak a mikorrhizált növény nitrogén (Seres et al. 2009) és zink felvételben (Seres et al. 2006) betöltött szerepének vizsgálati módszereit, és tenyészedényét az ide vonatkozó referenciákban közöljük.

Hosszú időtartamú kísérletek és mintavételek

Kukorica növénymintáink a MTA Mezőgazdasági Kutatóintézet kísérleti területén, Martonvásáron beállított tartamkísérletekből származtak. A különböző agrotechnikai hatások közül a tápelem utánpótlás, növényi egyedsűrűség valamint a monokultúra és rotációs rendszereket vizsgáltuk meg. A növényi egyedsűrűség AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálatához a 70 000 növény ha⁻¹ (normál, ND), illetve a 100 000 növény ha⁻¹ (magas, HD) tőszámú kukorica monokultúrákból származó Norma SC hibridkukorica növények gyökereit gyűjtöttük be négy ismétlésben. A tápanyag-utánpótlás hatásának vizsgálatához a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát (IF), a 7,5 t ha⁻¹ ha kukoricaszárat (OF) kapott és a kontroll (NON), trágyázatlan kukorica monokultúrából származó Norma SC hibridkukorica növények gyökereit gyűjtöttük be négy időpontban. A kukorica monokultúra vetésforgó rendszerekkel történő összehasonlításához a mintavétel során kukorica monokultúrából (CRM), valamint a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3) és a 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) vetésforgókból a Norma SC hibridkukorica növények gyökereit, a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgóból az Mv Magvas őszi búza növények gyökereit gyűjtöttük be 4 ismétlésben négy mintavételi időpontban.

AM gomba spóra izolálás talajból, gyökérkolonizáció meghatározás

A szobahőmérsékleten tömegállandóságig szárított 5-5 gramm talajmintából „nedves szitálást” és flotációs eljárást (Gerdemann és Nicolson 1963) követő cukor-grádiens centrifugálással izoláltuk az AM gomba spórákat.

A növények gyökereinek alapos csapvizes mosása után reprezentatív mintaként 5-5 különböző gyökérrészt gyűjtöttünk, melyek festését tinta-ecetsavas vagy tripánkékes módszerrel végeztük (Vierheilig et al. 1998). A gyökérkolonizációt a gyökerek festése után ún. „gridline intersection” módszerrel (Giovanetti és Mosse 1980) végeztük.

DNS izolálás növényi gyökérből, és AM gomba oltóanyagból

DNS izolálást a Qiagen által forgalmazott DNeasy[®] plant Mini Kit-tel, a gyártó utasításai alapján történt és -20°C-on tároltuk a PCR reakciók elvégzéséig.

Nested-PCR, DNS fragment izolálás agaróz gélből, ligálás és E. coli plazmid transzformáció

Az AM gomba 18S rDNS gén egy részének nested-PCR amplifikálását, első lépésben AMV4.5F-AMV4.5R eukarióta, majd második lépésben AMV4.5NF-NR AM gomba specifikus indítószekvenciákkal végeztük (Saito et al. 2004). A kapott PCR amplifikátumokat agaróz gélelektroforézissel mutattuk ki és választottuk el, 2%-os agaróz gélen, 0,1 µl ml⁻¹ etidium-bromid jelenlétében. Az agaróz gélből a megfelelő méretű (~650 bp) fragmenteket GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit-tel (GE Healthcare, Amersham Biosciences) visszaizoláltuk, és pGEM[®]-T Easy Vector System-mel (Promega) a gyártó cég utasításai szerint pGEM[®]-T Easy vektorba (3015 bp) építettük, majd *E. coli* DH5α törzsbe transzformáltuk. A lehetséges pozitív klónokból plazmid minipreparátumot tisztítottunk Wizard[®] Plus SV Minipreps DNA Purification System Kit-tel (Promega) a gyártó utasítása szerint. A kinyert plazmidok nukleotid sorrendjének meghatározása a klónozó hely egyik oldaláról kiindulva T7 primerrel történt.

Szekvencia-analízis, statisztikai adatelemzés

A szekvenciák javítását követően Mothur programmal 97%-os hasonlósági szinten elkülönítettük a molekuláris filogenetika alapján együtt kezelendő taxonómiai egységeket, a MOTU-kat (molecular operational taxonomic unit). Minden egyes MOTU-ból egy reprezentatív szekvenciát választottunk és összevetettük a Maarjam *Glomeromycota* adatbázissal (<http://maarjam.botany.ut.ee/>). A legnagyobb szekvencia-azonosságot mutató virtuális taxonokból egy-egy szekvenciát választottunk referenciaként a filogenetikai elemzésekhez. A filogenetikai fa készítését MEGA 4.0 szoftverrel végeztük, neighbor-joining, Kimura 2-paraméteres modellel, 1000 véletlenszerű ismétléses bootstrap analízissel. A diverzitás és hasonlósági index értékeket szintén Mothur program segítségével határoztuk meg. A mikorrhizáltsági adatok és a változók statisztikai elemzését pedig lineáris modellezéssel valamint ANOVA módszerrel végeztük, majd Tukey HSD teszttel (P<0.05).

Mikorrhiza oltóanyag paprika terméshozamára és a talaj rizoszféra AM közösségére gyakorolt hatásának tesztelése

Paprika magoncokat (*Capsicum annuum* L. var. Longum cv. Szegedi, *Capsicum annuum* L. var. Longum cv. Kalocsai) a Szent István Egyetem, Növényvédelmi Intézetének üvegházban neveltük fel, majd 7 hét növekedés után a kísérleti telep mérséklet foszfortartalmú homokos talajába kerültek. A palánták

kiültetésekor mikorrhiza oltást végeztünk. Az oltóanyag hat mikorrhiza gomba törzset (*G. intraradices* BEG140, *G. mosseae* BEG95, *G. etunicatum* BEG92, *G. claroideum* BEG96, *G. microaggregatum* BEG56, *G. geosporum* BEG199) tartalmazott gyökérdarabok, hifák és spórák formájában. A júniusban és augusztusban gyűjtött növények gyökereiből DNS-t izoláltunk majd a kezelések mikorrhiza populációra gyakorolt hatását vizsgáltuk meg PCR-RFLP profiljuk alapján. Minden kezelésnél 96 klón emésztését végeztük el, és az azonos ribotípusokhoz tartozó klónok összegzése után meghatároztuk a gyökérmintákban előforduló típusok előfordulásának relatív gyakoriságát.

AM gomba oltóanyag tesztelése gyökeres muskátli dugványokon, hatása a rizoszféra baktérium közösségére

Gyökeres muskátli dugványokat (*Pelargonium hortorum* var. Greco) 500 cm³ térfogatú műanyag cserepekbe ültettük, melyeket a muskátli nevelésére alkalmas szubsztráttal töltöttük fel, és a tenyészedények felében a szubsztrátot hosszú feltáródó képességgel rendelkező műtrágyával (Osmocot) egészítettük ki, 2g l⁻¹ (15N + 9P + 12K + 2,5MgO + mikroelemek) koncentrációban. Az Osmocot tápelem utánpótlással ellátott (OSM+) illetve a tápanyagban szegényebb (OSM-) ültető közeget tartalmazó tenyészedények feléhez mikorrhiza oltóanyagot adagoltunk 30 g L⁻¹ mennyiségben. Az oltóanyagot, mely 5 mikorrhiza gombát (*G. intraradices* BEG140, *G. mosseae* BEG95, *G. etunicatum* BEG92, *G. claroideum* BEG96, *G. microaggregatum* BEG56) tartalmazott gyökérdarabok, hifák és spórák formájában, 200 spóra/g oltóanyag koncentrációban. A négy kezelés (1: AM1+OSM+; 2: AM1+OSM-; 3: AM1-OSM+; 4: AM1-OSM-) kezelésenként 25 növény egyedszámú ismétlésben került beállításra üvegházban. 6 hét növekedés után a különböző kezelésekhez tartozó muskátli növények rizoszféra talaját feldolgoztuk. Klasszikus mikrobiológiai módszerrel határoztuk meg a rizoszféra aerob összgomba-, összbaktérium (aerob)- telepképző egységeit, Czapek Dox (Duchefa Biochemia BV, NL) illetve BD Difco™ nutrient (Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, CH) agar segítségével. A *Pseudomonas* sp. számának meghatározására speciális *psuedomonasz* izolációs agart (Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, CH) használtunk.

Hat hét növekedés után átültettük a növényeket a kiinduláskor használt szubsztrátba és konténerenként újabb mikorrhiza oltást végeztünk. A különböző kezelésekből származó mintáknál meghatároztuk a muskátli rizoszférájában élő baktériumközösség PCR-RFLP mintázatát a 24f (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') és 534r (5'- ATT ACC GCG GCT GCT GG-3') oligonukleotidok használatával (Muyzer és et al. 1993). Az amplifikátumokat 1,5 %-os agaróz gélen választottuk el, és a tisztított termékeket Hin6I (HinP1I) és BsuRI (HaeIII) restriktáz endonukleázos emésztéseknek vetettük alá. A baktérium populációra jellemző RFLP profil megállapítása kapilláris elektroforézises futtatás alapján történt Agilent 2100 Bioanalyser-rel, DNA 12000 Kit (Agilent Technologies, Waldbronn, Németország) használatával.

Nehézfém stressz hatása az arbuszkuláris mikorrhiza gombákra

Az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézetének Nagyhőrcsöki Kísérleti telepén beállított tartamkísérletből származó talajokban vizsgáltuk 13 fémion, négy eltérő koncentrációjának (0, 30, 90, 270 mg kg⁻¹ száraz talaj) arbuszkuláris mikorrhizára gyakorolt hatását. A nehézfémekkel mesterségesen kezelt talajba - növényházi körülmények között - ültetett őszi árpa hajtás és gyökértömege nem változott szignifikánsan a kontrollhoz képest, egyedül a gyökértömeg nőtt fokozott Cd terhelés hatására. Bizonyos fémekkel (As, Al, Hg, Cu, Ni, Pb) végzett kezelésekben nem jelentkezett a hajtásban fokozott nehézfém koncentráció, ugyanakkor a Ba, Cd, Cr, Mo, Sr, Se és Zn terhelés esetén dózistól függő növekedés volt mérhető.

A fémek tartós, a mikorrhiza gombák adaptációjára gyakorolt hatását az AM általános aktivitására jellemző gyökérkolonizáció és arbuszkulum valamint spóra mennyiségének mérésével vizsgáltuk. A 13 fém közül kilenc esetében a fém stressz hatására bekövetkező spóraszám csökkenés még 12 évvel a kezelést követően is jelentkezett, s egyedül csak a nikkel-szulfáttal kezelt talajban tapasztaltunk spóraszám növekedést a kontrollhoz képest. A gyökérkolonizáció átlagos mértéke megközelítette a 70 %-ot, mely csak a Cd terhelés hatására csökkent szignifikánsan.

A nehézfém szennyezés, a fémek típusától függően különböző mértékben növelte a kifejlődött arbuszkulumok számát, a növekedés a Hg- és a Pb-szulfáttal kezelt mintákban szignifikáns volt a nem-kezelt kontrollhoz viszonyítva. Mindemellett a nehézfémek arbuszkulum-gazdagságra gyakorolt hatása dózistól is függött. Általában 90 mg fémion kg⁻¹ száraz talaj koncentráció esetén fejlődött a legtöbb arbuszkulum, míg 270 mg fémion kg⁻¹ száraz talaj koncentrációnál erőteljes csökkenés volt mérhető az arbuszkulumok mennyiségében.

Arbuszkuláris mikorrhiza gomba fajok és talajlakó Collembolák közötti kapcsolatok

Sinella coeca és a *Folsomia candida* (Collembola, Insecta) ugróvillás fajok felnőtt egyedeinek spórafogyasztását vizsgáltuk *in-vitro* kísérleti modell rendszerben. Eredményeink alapján bebizonyítottuk, hogy az ugróvillások fajtól függően elfogyasztják a talajban élő mikorrhiza gombák hifáit, spóráit. Elsőként publikáltunk *Sinella coeca* ugróvillás fajról arbuszkuláris mikorrhiza gomba táplálékfogyasztási eredményeket, mely szerint ez a faj is elfogyasztja a *Glomus mossea* és *Glomus intraradices* spóráit.

A Collembolák feltételezések szerint részt vesznek a mikorrhiza gombák terjesztésében is, melynek igazolására a táplálkozási tesztben vizsgált Collembola fajokkal végeztünk kísérletet. A *F. candida*, és a *S. coeca* fajok egyedeit öt napig hagytuk olyan tenyészedény felszínén, melynek egy távoli részén (10 cm) mikorrhiza gomba spóra, hifa és kolonizált gyökereket tartalmazó oltóanyagot helyeztünk el. A tenyészedényben hét hétig nevelt kukorica növény gyökerének festése után azonosítottuk a mikorrhiza gomba képleteit (arbuszkulum, apresszórium, internális hifa, externális hifa), melynek alapján a különböző kezelésekhez tartozó kolonizációs értékeket hasonlítottuk össze. Eredményeink alapján megállapítható, hogy

mind a két faj képes a mikorrhiza talajban történő terjesztésére, de a terjesztés mértékében eltérés figyelhető meg. A *F. candida* faj hatékonyabb volt a mikorrhiza képletek átvitelében.

Az ugróvillásoknak az arbuszkuláris mikorrhiza gombaspóra fogyasztásánál valamint a mikorrhiza terjesztésénél tapasztalt különbségek feltételezik, hogy a makrofauna képviselői befolyásolják a mikorrhiza gombák által befolyásolt folyamatokat, így a tápelemek felvételét is.

Feltételezésünk bizonyításaként, két részre osztott tenyészedény segítségével tanulmányoztuk a kukorica nitrogén-felvételét AM-gomba és ugróvillások jelenlétében. A tenyészedény egységeinek elválasztását 42 μm lyuk átmérőjű háló biztosította, mely az AM-gomba externális hifáinak szabad átjutását és a növény gyökereinek elkülönítését is lehetővé tette. Hat héttel a mikorrhiza oltást követően ^{15}N -el jelölt ammónium-szulfátot adagoltunk a gyökérmentes részbe, és Collembolák jelenlétében illetve hiányában vizsgáltuk a kukorica N-felvételét. Eredményeink alapján megállapítható, hogy az ugróvillások (*Sinella coeca*) jelenléte csökkentette mind a kukorica növény N tartalmát, mind pedig és AM-gomba hifahosszát a gyökérmentes, csak hifákat tartalmazó részeken.

Az ugróvillások hatása az arbuszkuláris mikorrhiza gomba növekedésére és aktivitására azonban gyakran eltérő eredményhez vezet. Ennek oka lehet, hogy a Collembolák mennyisége befolyásolja a kapcsolat erősségének mértékét. Feltételezésünk igazolásaként különböző mennyiségű ugróvillások jelenlétében vizsgáltuk meg a talaj AM spóraszámában bekövetkező változást. Kis egyedszámnál ($\leq 0,2$ db 1 g talajban) jelentős mennyiségű arbuszkuláris mikorrhiza spóra volt kimutatható a talajban, de a spóraszám a Collembolák egyedszámának növekedésével drasztikus mértékben csökkent. A gyökérkolonizáció ugróvillások mennyiségétől függő változása ettől eltérő képet mutatott. A Collembolák számának növelésével 0,2 egyed g^{-1} denzitás értékig gyors kolonizáció növekedés mutatkozott, de nagyobb egyedszám esetén a kolonizáció drasztikus mértékben csökkent.

Az ugróvillások és mikorrhiza gombák közötti denzitástól függő kapcsolatot tanulmányoztuk a zink-felvétel folyamatában is. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a talaj Zn szennyezésének és az ugróvillások jelenlétének egyaránt szignifikánsan hatása van a mikorrhiza kolonizáció mértékére, az externális hifahosszra és AM spóraszámra. Az ugróvillások, nagy denzitásban csökkentették a mikorrhiza kolonizáció mértékét összehasonlítva az ugróvillásokat kis denzitásban vagy ugróvillásokat nem tartalmazó kezelésekkel.

AM gomba oltóanyag tesztelése gyökeres muskátli dugványokon, hatása a rizoszféra baktérium közösségére

Az AM gombákkal történő oltás gyökeres muskátli dugványokra gyakorolt hatásának vizsgálata két lépcsőben történt: a kiinduláskor illetve a muskátli termesztés gyakorlatát követve az átültetéskor alkalmazott oltásokkal.

A kiinduláskor oltott muskátli dugványoknál, a tápelem utánpótlástól (OSM+, OSM-) függetlenül alacsony, 10 % alatti gyökérkolonizációt mértünk az oltást követő hatodik héten, és nem találtunk szignifikáns eltérést az oltott növények kolonizációjában. A mikorrhiza oltás (AM+) és tápelem utánpótlás (OSM+) egyaránt hajtás és gyökér növekedését idézett elő, de a kezelések együttes hatása nem volt szignifikáns. A növény hajtásában megvizsgáltuk az oltás hatására bekövetkező makroelem változásokat is. Symbivit oltóanyag

hatására a hajtás N, K és P koncentrációja szignifikáns növekedést mutatott, a tápelem utánpótlástól függetlenül (OSM+, OSM-). Ugyanakkor a kiindulási szubsztrátba kevert Osmocote csak a hajtás nitrogén koncentrációjának a növelését idézte elő az oltástól függetlenül.

Az átültetéskor alkalmazott AM gomba oltás megnövelte a gyökérkolonizáció mértékét, függetlenül attól, hogy az átültetés előtt mikorrhizált volt-e a muskátli növény vagy sem, illetve Osmocot kezelt vagy kezeletlen volt a növény. Meglepő módon a tápelem hiányos szubsztrátban nevelt növény oltásával hasonló mértékű gyökérkolonizációt tudtunk elérni, mint a mikorrhizált növény átültetésekor alkalmazott plusz oltással, mely tendencia mindkét közegben jelentkezett (OSM-, OSM+).

Az átültetéskor alkalmazott oltás csökkentette a hajtás növekedését, ha a közeg tápelemben szegény volt, függetlenül attól, hogy mikorrhizált, vagy oltás nélküli növényről alkalmaztuk a plusz-oltást. Tápelemben gazdag közegben nevelt növényeknél az átültetésnél alkalmazott oltás nem okozott hajtásnövekedést a kiinduláskor oltott (AM1+), illetve az oltás nélküli (AM1-) növényeknél sem.

Az átültetésnél tapasztalható, ún. carry-over hatás eltérő mértékű volt. OSM+ kezelésnél a plusz mikorrhiza oltás nem idézett elő a hajtástömegben szignifikáns változást, ugyanakkor a kiinduláskor inokulált növény (AM1+) oltásakor szignifikáns hajtástömeg növekedés jelentkezett a kiinduláskor nem oltott növényekhez képest. A tápelemhiányos szubsztrátban nevelt növényeknél az átültetésnél alkalmazott plusz mikorrhiza oltás csökkentette a hajtás tömeget mindkét fajtájú oltott növényről.

A mikorrhiza oltásnak és tápelem utánpótlásnak a rizoszféra baktérium közösségében előidézett változásaiban nem találtunk különbséget klasszikus mikrobiológiai módszerrel, ezért molekuláris módszerrel is megvizsgáltuk azt a prokarióták kimutatására alkalmas primerpárral (27f és 534r)

A tápelemhiányos közegben nevelt növények rizoszférájának baktérium közösségének PCR-RFLP képében azonban eltérés mutatkozott. A 200 bp mérettartományban újabb DNS szakaszok jelentek meg a kiinduláskor (AM1+OSM-, AM1+OSM-AM2-), az átültetéskor (AM1-OSM-AM2+) illetve mindkét időben alkalmazott mikorrhiza kezelésnél (AM1+OSM-AM2+) jelezve a baktérium közösség összetételében bekövetkező változásokat.

Mikorrhiza oltóanyag paprika terméshozamára és a talaj rizoszféra AM közösségére gyakorolt hatásának tesztelése

A mikorrhiza oltás jelentős változásokat idézett elő az oltott fűszerpaprika növényeken. Az arbuszkuláris mikorrhiza gomba erőteljes hajtástömeg fokozás mellett a Kalocsai típusnál 10%-os, a Szegedi fajtánál pedig több mint 60%-os terméshozam növekedést eredményezett. A mikorrhiza aktivitásra jellemző gyökérkolonizációt is meghatároztuk a gyökerek tripánkékes festése után. Kalocsai típusnál csak a júliusi mintavételi időpontban mutatott szignifikáns eltérést az oltott és oltás nélküli növény kolonizációs értéke. Ettől eltérően a mikorrhiza gombával kezelt illetve oltás nélküli növények között a júliusi mintavétel kivételével jelentős különbségek jelentkeztek a Szegedi típusnál. Mindkét kezelésnél (AM+, Kontroll) a kísérlet első mintavételi időpontjában, júniusban mértük a legkisebb kolonizációs értékeket. Meglepően magas kolonizációt találtunk a kontroll növények gyökereiben, melyek a helyi mikorrhiza populáció

aktivitását mutatják. Kezelésektől függetlenül, a vegetációs időszak előre haladásával nőtt a gyökérkolonizáció mértéke, mely szeptemberben már kismértékű csökkenést mutatott.

A kimagasló termés mennyiséget mutató Szegedi paprikánál, az első és a legmagasabb mikorrhiza aktivitást mutató augusztusi mintavételi időpontokat választottuk ki, hogy megvizsgáljuk az oltás hatását a helyi AM gomba közösségre. Saito és munkatársai (2004) által tervezett primer kombináció segítségével kivitelezett PCR reakcióval felszaporított DNS szakaszt (650 bp) a gélelektroforézises futtatás után izoláltuk, klónoztuk majd restrikciós endonukleázzal emésztettük, és eltérő RFLP csoportokat hoztunk létre. A különböző kezeléseknél jelentkező PCR-RFLP csoportokhoz tartozó klónok százalékos arányát is meghatároztuk.

A paprika palánták kiültetését követő hetedik héten vett mintákban 14 PCR-RFLP csoportot tudtunk kimutatni. Az oltott (AM+) és oltás nélküli (Kontroll) kezelések növényeinek gyökereit kolonizáló mikorrhiza gombák, 10-10 különböző RFLP csoportba voltak oszthatók, melyek között 6 típus mindkét kezelésnél megtalálható volt. Megfigyelhetők voltak olyan RFLP típusok is, melyek csak az adott kezelésre jellemzőek, azonban a típusok megjelenésének aránya igen alacsony, 3 % alá esett.

Az oltott növényeknél, az AM gombák 85 %-a az 1,2 és 7 csoportba, míg a kontroll növényeknél a mikorrhiza gombák 70 %-a az 1,2,3 és 5 csoportba tartozott.

Az augusztusi mintavételnél a kezelések AM gomba közösségei 10 eltérő PCR-RFLP csoportot alkottak, de közülük csak három, az 1,5 és 9 típusba tartozók érték el a 10%-os megjelenési szintet. Augusztusban is megjelentek mindkét kezelésnél kimutatható, valamint a júniusi mintavételtől eltérő PCR-RFLP csoportok is. Az oltóanyag AM gomba közösségének PCR-RFLP képe csak két ribotípus csoportba tartozott, az 1. és 5. csoportba.

Hosszú időtartamú kísérletek eltérő agrotechnikai eljárásainak hatása az arbuszkuláris mikorrhiza(AM) közösség diverzitására

A tápanyag-utánpótlás AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata kukorica monokultúrában

A 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyával (IF), a 7,5 t ha⁻¹ ha kukoricaszárral (OF) kezelt és a kontroll (NON), trágyázatlan kukorica monokultúrából származó kukorica gyökerek mikorrhizáltságának vizsgálatával kimutattuk, hogy a kezeléseknél ($p < 0,01$) és az időpontoknak is ($p < 0,001$) szignifikáns hatása volt a gyökérkolonizáció alakulására. A vegetációs periódus során a kontroll és a trágyázott kezeléseknél is növekvő mikorrhiza kolonizáció volt mérhető, mely maximális értéket (IF: $47,50 \pm 3,42$ %; OF: $52,50 \pm 1,29$ %; NON: $47,50 \pm 2,0$ %) a kukorica biológiai érésének fázisában, augusztusban mutatott.

Az AM gombaközösségek molekuláris vizsgálata során 252 klón nukleotid sorrendjét határoztuk meg, melyből 179 (71%) a *Glomeromycota*-khoz tartozott. A szekvenciákból Mothur programmal 97%-os hasonlósági szinten 21 MOTU-t sikerült elkülönítenünk. A filogenetikai elemzés alapján 18 MOTU (a szekvenciák 96,09%-a) a *Glomeraceae* (korábbi *Glomus* Group A), 1 (1,12%) a *Claroideoglomeraceae* (korábbi *Glomus* Group B), 1 (0,56%) az *Archaeosporaceae* és 1 (2,23%) a *Paraglomeraceae* családhoz tartozott. A 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyás kezelésből összesen 7 MOTU-t, a kontroll és a 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszárat kapott kezelésekből egyaránt 14-14 MOTU-t mutattunk ki. A *Rhizophagus* és a *Sclerocystis* nemzetségek (a kettő együtt a korábbi *Glomus* Group Ab fajcsoport) tagjai megtalálhatóak voltak mind a

kontroll mind pedig a trágyázott területek kukorica gyökereiben, az AM gombaközösség 47,73%-át alkották a szervesetlen műtrágyázott, 10,77%-át a kontroll és 9,13%-át a kukoricaszár beszántásánál. A szervesetlen műtrágyázott területek kukorica gyökereiben nem tudunk *Funneliformis* és *Septoglomus* (a kettő együtt a korábbi *Glomus* Group Aa) nemzetségekhez tartozó MOTU-kat kimutatni, míg a kukoricaszár beszántásával kezelt területen ezek több mint 51,69%-át alkották az AM gombaközösségnek. Arányuk a kontroll állományban is elérte a 48,68%-ot. A Théta indexek alapján – mely figyelembe veszi a megosztott MOTU-k abundanciáját is – az AM gombaközösség összetételében a legnagyobb hasonlóság (81,58%) a 7,5 t ha⁻¹ beforgatott kukoricaszár és a kontroll kezelések között mutatkozott. A legkisebb hasonlóság (1,52%) pedig a kontroll (NON) és a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott kezelések AM gombaközösségei között volt megfigyelhető. Az átlagolt nemparaméteres fajszámbecslő értékek és a ténylegesen elkülönített MOTU-k számának összevetése alapján elmondhatjuk, hogy – a kontroll kezelés augusztusi mintavételi időpontját kivéve – sikerült az AM gombaközösség nagy részét, átlagosan 81,6%-át feltérképezni. Júniusban és augusztusban a kontroll, trágyázatlan kukorica monokultúra magasabb Shannon-Wiener diverzitás értékekkel (H' : 2,2-2,38) rendelkezett, mint a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott kukorica monokultúra (H' : 1,64-1,82). Júniusban a 7,5 t ha⁻¹ ha beforgatott kukoricaszárat kapott kukorica monokultúrából megegyező (H' : 2,2), majd a vegetációs idő előrehaladtával, augusztusban szintén alacsonyabb (H' : 1,87) AM gomba diverzitást mutattunk ki a kontrollhoz képest. A júniusi mintavételi időpontban a kapott MOTU-k alapján a NON=OF>IF, a becsült MOTU-k alapján az OF>NON>IF, és a Shannon-Wiener diverzitás index értékek alapján a NON=OF>IF sorrendet állítottuk fel a különböző kezelések között. Augusztusban mind a kapott, mind a becsült MOTU-k alapján, mind pedig a Shannon-Wiener diverzitás index értékek alapján (annak ellenére, hogy a kontrollnál ekkor csak 42,79%-os volt az AM gombaközösség feltérképezettsége) a NON>OF>IF sorrendet állítottuk fel.

A növényi egyedsűrűség AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata

A normál 70 000 növény ha⁻¹ (ND) és a magas 100 000 növény ha⁻¹ (HD) tőszámú parcellákról gyűjtött kukorica gyökerek kolonizációs értékei (ND: 36,50 ± 4,12 %; HD: 37,50 ± 3,42 %) között, valamint a rizoszféra-talajok 1 grammjában található spórák számában (ND: 2,75 ± 0,50 db; HD: 2,50 ± 0,58 db) sem találtunk szignifikáns különbséget. Az AM gombaközösségek molekuláris feltérképezése során 33 *Glomeromycota* szekvenciáknál, Mothur programmal 97%-os hasonlósági szinten 9 MOTU-t sikerült elkülönítenünk. A filogenetikai elemzés alapján hét MOTU (a szekvenciák 90,9 %-a) a *Glomeraceae* (korábbi *Glomus* Group A), két MOTU (9,1%) a *Claroideoglomeraceae* (korábbi *Glomus* Group B) családhoz tartozott. A normál tőszámú parcellákról összesen hét MOTU-t, míg nagyobb növényesűrűségnél öt MOTU-t mutattunk ki. A 70 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűségű állományokban az AM gombaközösség 61,11%-át a *Septoglomus* nemzetséghez (korábbi *Glomus* Group Aa fajcsoport egy része) tartozó MOTU alkotta, melynek részaránya csupán 20% volt a 100 000 növény ha⁻¹ tőszámú állományokban. Ez utóbbinál a domináns AM gombaközösség alkotó MOTU (a szekvenciák 40 %-a) a *Glomus* Group Ad fajcsoportéhoz tartozott. Az átlagolt nemparaméteres fajszámbecslő értékek (ACE és Chao1) és a ténylegesen elkülönített MOTU-k számának összevetése alapján elmondhatjuk, hogy a magas, 100 000 növény ha⁻¹ (HD)

állománsűrűségnél sikerült az AM gomba közösség jelentős részét, 95,24%-át feltérképezni, míg a normál 70 000 növény ha⁻¹ tőszámnál (ND) ez az érték csak 41,18% volt. Az általunk elkülönített és becsült MOTU-k száma is magasabb volt a normál 70 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűségű állományban, mint a magas, 100 000 növény ha⁻¹ tőszámú állományban.

Monokultúra vetésforgó rendszerek AM közösségeinek összehasonlítása

A Norfolk típusú (CR7) vetésforgóból származó búza növények gyökérkolonizációjának értékei szignifikánsan magasabbak voltak ($p < 0,01$) a monokultúrában termesztett kukorica növények gyökérkolonizációs értékeihez képest, minden mintavételi időpontban. A legalacsonyabb kolonizációs százalékokat júniusban, a virágzásban lévő kukorica és a teljes érésben lévő búza gyökereken, valamint októberben a tarlókból származó kukorica és a búza gyökereken mértük. Júliusban a kukorica monokultúrából származó kukorica növények rizoszféra talajaira átlagosan 10 db spóra g⁻¹ talaj volt jellemző, ekkor a búza-kukorica vetésforgóból mutattunk ki ennél szignifikánsan alacsonyabb ($p < 0,01$) átlagos AM gomba spóraszámot (5,5 db spóra g⁻¹ talaj). Októberben minden rotációs rendszerből szignifikánsan alacsonyabb ($p < 0,001$) spóraszámot mutattunk ki, mint a kukorica monokultúrából, ahol ekkor átlagosan 24,5 db AM gomba spóra volt jellemző a rizoszféra-talajok 1 grammjában.

A kukorica monokultúra (CRM) és a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) vetésforgóból származó kukorica növények, valamint a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgóból származó búza növények AM gomba-közösségeinek molekuláris meghatározása két időpontban, júniusban valamint augusztusban történt. 340 klón nukleotid sorrendjét határoztuk meg, melyből 179 AM gomba szekvencia került további elemzésre és 18 MOTU-t sikerült elkülönítenünk. A filogenetikai elemzés eredményeképpen 12 MOTU (a szekvenciák 91%-a) a *Glomeraceae* (korábbi *Glomus* Group A), 3 (4%) a *Claroideoglomeraceae* (korábbi *Glomus* Group B), 1 a *Diversisporaceae* (1%) és 2 (4%) a *Paraglomeraceae* családokhoz tartozott. Kukorica monokultúrából összesen 11 MOTU-t, a 3 év lucerna – 5 év kukorica vetésforgóból 8 MOTU-t, a 2 év búza – 2 év kukorica valamint a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú) vetésforgó rendszerekből 6-6 MOTU-t mutattunk ki. A Théta indexek alapján a legnagyobb hasonlóság (65%) a 3 év lucerna – 5 év kukorica és a 2 év búza – 2 év kukorica vetésforgó rendszerek kukorica növényeinek AM gombaközösségei között mutatkozott. A legkisebb hasonlóság (1,23%) pedig a kukorica monokultúra és a 3 év lucerna – 5 év kukorica vetésforgó kukorica növényeinek AM gombaközösségei között volt megfigyelhető. A kimutatott és a becsült MOTU-k száma, valamint a diverzitás indexek értékei is erőteljesen csökkentek a kukorica monokultúrától a Norfolk típusú vetésforgó rendszerig, kiváltképpen az augusztusi mintavételi időpontban. Júniusban a lucerna – kukorica vetésforgó rendszernél ($H': 1,63$), augusztusban a kukorica monokultúránál ($H': 1,25$) mutattuk ki a legmagasabb AM gomba diverzitást. A kukorica monokultúra és a vetésforgó rendszerek AM gomba diverzitása a vegetációs periódus előrehaladtával is csökkent. A júniusi mintavételi időpontra vonatkozóan a kimutatott MOTU-k alapján a CR3>CRM>CR5=CR7, a becsült MOTU-k szerint a CR3>CRM>CR5>CR7, a Shannon-Wiener diverzitás index értékek alapján pedig a CR3>CRM=CR7>CR5 sorrendet állíthatjuk fel a különböző termesztési rendszerek között. Az augusztusi mintavételi időpontra

vonatkozóan a kimutatott MOTU-k alapján a CRM>CR3=CR5>CR7, a becsült MOTU-k alapján a CRM>CR3=CR5>CR7, a Shannon-Wiener diverzitás index értékek alapján CRM>CR5>CR3>CR7 sorrendet állíthatjuk fel.

EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

Dolgozatomban eltérő termesztés-technológiai beavatkozások valamint nehézfém stressz arbuszkuláris mikorrhiza gomba aktivitására gyakorolt hatását vizsgáltuk. Külön figyelmet szentelve a hosszúidőtartamú kísérletek eltérő agrotechnikai módszereinek mikorrhiza gomba közösség összetételére gyakorolt hatásaira, illetve a mikorrhiza oltóanyag eredményességét befolyásoló tényezőre (Collembolák jelenléte) és új kertészeti technológiákba (paprika, muskátli) történő beillesztésére.

12 évvel a mesterségesen előidézett fém-szennyezés után tanulmányoztuk a talaj természetes mikorrhiza gomba közösségében bekövetkező változásokat. Megállapítottuk, hogy ez idő alatt megjelentek a fémekkel szemben toleráns arbuszkuláris mikorrhiza gombák, melyek biztosították a szimbiózis kialakulását és megerősödését még nehézfémekkel szennyezett talajban is. Eredményeink így segíthetnek új típusú, a nehézfémekkel szennyezett területek kezelésére alkalmas mikorrhiza oltóanyag kifejlesztésében, melynek első lépése toleráns törzsek izolálása.

Az AM aktivitására ható biotikus tényezők közül a Collembolák szerepét több oldalról vizsgáltuk. A mikorrhiza aktivitás és a jelenlévő Collembola mennyisége között fennálló kapcsolatról bebizonyítottuk, hogy létezik egy optimális ugróvillás sűrűség (0,2-0,4 állat/gramm talaj), amely a legnagyobb mértékű mikorrhizáltságot és növényi növekedést biztosítja. Mindemellett az ugróvillások fajtól függően elfogyasztják a mikorrhiza spórákat és részt vesznek a mikorrhizáltság terjesztésében is. Eredményeink alapján nem tudjuk pontosan megnevezni az átvitelben domináns szerepet betöltő mikorrhiza képlet(ek)et, de az ugróvillásoknak a mikorrhizált növények nitrogén és zink felvételben betöltött jelentőségét egyértelműen bizonyítottuk.

Mikorrhiza oltóanyagok magyarországi elterjedése elsősorban a kertészeti kultúrákban várható, ahol az egészséges élelmiszerek előállítása iránti igény olyan környezetkímélő mezőgazdasági technológiák alkalmazását kívánja, melyek csökkent mennyiségű műtrágya és növényvédőszer felhasználása mellett is biztosítják a megfelelő mennyiségű és minőségű élelmiszer alapanyagok előállítását. Az arbuszkuláris mikorrhizagomba oltás gyakorlati alkalmazásakor bekövetkező változások tanulmányozása segíthet a technológia elterjedésében, az ismeretek bővítésében.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy az arbuszkuláris mikorrhiza gomba mixet tartalmazó Symbivit oltóanyaggal történő kezelés szerves részét képezheti a muskátli és paprika termesztésének. Az oltóanyag mix használata - mely több, nem bennszülött AM gombát is tartalmaz -, úgy növelte a paprika termés mennyiségét, hogy közben az oltóanyag mikorrhiza tagjai nem idézték elő a helyi AM gombaközösség erőteljes redukcióját. Az oltóanyag hatott a helyi AM gombaközösségre, de szignifikánsan nem befolyásolta annak összetételét. Mindkét kezelésnél az augusztusi mintákban azonos ribotípusú

csoportba tartozó AM gombák domináltak, ami bizonyítja, hogy ebben a rövid periódusban nem jelent meg valóban agresszív, többit elnyomó faj. Az alkalmazott módszer korlátait is figyelembe véve, az oltóanyag helyi AM gombaközösségre gyakorolt hatásának vizsgálatakor fajra nem, csupán a ribotípusra vonatkozóan tudunk következtetéseket levonni, ezért további vizsgálatok szükségesek, hogy pontosítsuk az AM közösségben bekövetkező faj-szintű változásokat, valamint hogy megállapítsuk az oltás hosszú távú hatásait a helyi AM gomba közösségre.

A konténeres muskátli nevelés során legeredményesebb a kiinduláskor alkalmazott-inokuláció volt, mely gazdasági megfontolások miatt is kedvezőbb. Az oltott és oltás nélküli kezelések rizoszférájának, klasszikus mikrobiológiai módszerrel meghatározott gomba és baktérium telepképző egységeinek (CFU) mennyiségében nem találtunk szignifikáns különbséget, de a PCR-RFLP módszer segítségével végzett diverzitás vizsgálat azonban azt mutatta, hogy a tápanyaghiányos közegben nevelt oltott növények baktérium populációja eltér a kontroll növényhez viszonyítva. Ez a hatás az oltás követő 12. héten is megfigyelhető volt, de továbbra is csak a tápanyaghiányos közegben oltott növényeknél - függetlenül attól, hogy mikor oltottuk a muskátlit. Vagyis a mikorrhiza jelenléte jelentős mértékben befolyásolta a talajban élő mikroorganizmusok minőségét és mennyiségét, de ennek a hatásnak a közeg tápelem tartalmától való függését mi irtuk le elsőként. Az arbuszkuláris mikorrhiza oltás, a közeg tápelemtartalmától függően jelentős mértékben befolyásolta a közeg baktérium közösségét, mely valószínűleg befolyásolta a közeg tápelemeinek mobilizálását és az arbuszkuláris mikorrhiza gomba aktivitását.

Ezek a mikroorganizmusok az arbuszkuláris mikorrhizagomba oltóanyaggal együtt kerülhetnek be a rendszerbe, ezért fontos lenne az oltóanyag előállítása folyamán ezeknek a mikroorganizmusok jelenlétének a kimutatása is, nem csak a patogének kizárásának előírt tesztelése.

A különböző agrotechnikai beavatkozások AM gomba közösségre gyakorolt hatásának vizsgálatakor a szerves és szervetlen tápanyag utánpótlás, eltérő növényi egyedszám valamint monokultúra és vetésforgó rendszerek mikorrhiza közösségét vizsgáltuk meg. A mikorrhiza gyökérekolonizációjának mérése, a rizoszféra talajok AM gomba spóraszámának meghatározása mellett a gyökereket kolonizáló arbuszkuláris mikorrhiza gombák kimutatását és azonosítását molekuláris módszerrel, a 18S rRNS gének konzervatív régióira tervezett indítószekvenciákkal kivitelezett nested-PCR módszerrel végeztük el. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a vizsgált kukorica monokultúra a közel 50 év óta alkalmazott intenzív termesztési módszerek ellenére is gazdag AM gombaközösséggel rendelkezik. Az általunk kimutatott filotípusok száma magasabb volt, mint amit eddig molekuláris technikákkal azonosítottak kukorica monokultúrából. A gyökérekolonizáció mértékét és a talaj AM gomba spóraszámát nem befolyásolta a kukorica állománysűrűsége, a tápanyag-utánpótlás negatív hatását azonban kimutattuk az AM gomba spórák mennyiségében. A szerves tápanyag-utánpótlás negatív hatással volt kolonizációban résztvevő AM gombaközösség diverzitására, és befolyásolta annak összetételét is. A szerves tápanyag-utánpótlás AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata során kimutatott filotípusok száma a szerves műtrágya kezelésnél felére csökkent (7 MOTU), a kontroll és a 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszáras kezelésekhez képest (14-14 MOTU). A vetésforgóban termesztett növények AM gomba-közösségeinek összetétele jelentősen eltért a monokultúrában termesztett kukorica AM gombaközösség összetételétől. Meglepő módon a vetésforgó nem

gyakorolt pozitív hatást az AM gomba diverzitásra a monokultúrához képest. Kukorica monokultúrából 11 filotípust különítettünk el, melyet a lucerna – kukorica vetésforgó követett nyolc MOTU jelenlétével. A Norfolk típusú vetésforgó rendszerben pedig már csak 6 MOTU volt kimutatható, hasonlóan a búza – kukorica vetésforgóhoz. Mindez nem jelenti azt, hogy eredményünk ellentmondana az általános tapasztalatnak, miszerint a növényi diverzitás növelése elősegíti a mikorrhiza diverzitás fokozását. A Norfolk típusú vetésforgó ugyanis nem jelenti a különböző növény fajták együttes jelenlétét, hanem a különböző növények eltérő körülményeket, vagyis szelektívebb közeget képviselnek, mint a monokultúra, ahol csak egy növényfajtahoz adaptálódott mikorrhiza gomba közösséggel kell számolni.

A kezelések a tapasztalt diverzitás csökkenése mellett az AM gombaközösség összetételében is változást idéztek elő. A szerves, szervesetlen műtrágyázott valamint a monokultúra és különböző vetésforgó rendszerekben egyaránt a *Glomus* A fajcsoportba tartozó mikorrhiza gombák domináltak. A *F. mosseae* és a *Septoglomus constrictum* gombákat szerves eredetű tápanyag-utánpótlást preferáló fajokként azonosítottuk, így domináns jelenlétük a 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszáras kezelésnél, valamint hiányuk az 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyás kezelésnél nem meglepő kísérletünkben. A *Rhizophagus* és a *Sclerocystis* nemzetség tagjainak domináns jelenléte a műtrágyázott kezelésnél is érthető, hiszen a talaj magas tápanyag-ellátottságára – főképpen a talaj foszfortartalmára – leggyakrabban a *Rhizophagus* nemzetség tagjai toleránsak.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy Magyarország klimatikus és talaj adottságai kedvező hatással vannak az AM gombaközösségek diverzitására. Ez azért is igen fontos, mert a mikorrhiza gombák stressztűrő és tápelemfeltáró képessége arányban van diverzitás gazdagságukkal. Eredményeink olyan ismereteket szolgáltatnak a mezőgazdasági szakembereknek, melyek segítenek a legoptimálisabb mezőgazdasági technológiák kiválasztásában, az arbuszkuláris mikorrhiza gombák diverzitásának a megőrzésében. Ezért az AM gomba diverzitás megóvása és fenntartása hazánkban az integrált növénytermesztés szerves részeként kiemelkedően fontos jelentőséggel bírhat a jövőben. Mindemellett eredményeink segíthetnek új mikorrhiza oltóanyag kifejlesztésében is, egy hatékony és a termesztési rendszerekhez leginkább adaptálódott AM gomba oltóanyag-kombináció összetételének kidolgozásában.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Elsőként publikáltunk *Sinella coeca* ugróvillás fajról arbuszkuláris mikorrhiza táplálékfogyasztási eredményeket, mely szerint ez a rovar elfogyasztja a *Glomus mossea* és *Glomus intraradices* spóráit.
2. Elsőként igazoltuk, hogy az ugróvillások képesek talajba kevert mikorrhiza oltóanyagból (spórák, hifák, mikorrhizált gyökér darabok) a mikorrhizáltságot egy addig nem mikorrhizált kukorica növényre átvinni. Kísérleteink szerint a mikorrhiza átvitelének intenzitása fajtól függött: a *F. candida* hatékonyabban terjesztette a mikorrhizáltságot, mint a *S. coeca* ugróvillás faj.
3. Igazoltuk, hogy az ugróvillások egyedszám-függően hatnak az AM-gombák növekedésére, abundanciájára, és Zn felvételére. Legnagyobb mikorrhiza aktivitás 0,2-0,4 egyed/g talaj ugróvillás egyedsűrűség mellett jelentkezik.

dc_469_12

4. Elsőként szolgáltatunk adatokat az arbuszkuláris mikorrhiza gombaközösségre vonatkozóan a Kárpát-medence régiójából, Magyarország mezőgazdaságilag művelt területeiről.
5. Kimutattuk az eddig leírt legmagasabb AM gomba diverzitás értékeket kukorica monokultúrából. Több molekuláris operatív taxonómiai egységet sikerült kimutatnunk, mint amit kukorica monokultúrából molekuláris technikával eddig találtak.
6. Elsőként vizsgáltuk meg a növényi egyedsűrűség AM gombaközösségre gyakorolt hatását kukorica monokultúrában. A normál, 70 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűségű kukorica monokultúrában a kimutatott és a becsült molekuláris operatív taxonómiai egységek száma magasabb volt, mint a 100 000 növény ha⁻¹ tőszámú kukorica monokultúrában.
7. Megállapítottuk, hogy a normál növénytűsűrűségű, valamint az alacsony tápanyag-ellátottságú monokultúrában termesztett kukorica AM gombaközösségében a *Septoglomus* nemzetséghez tartozó mikorrhiza gombák dominálnak és érzékenyek a talaj nagyobb tápelem koncentrációjára.
8. Bebizonyítottuk, hogy a különböző termesztési rendszerekben eltérő molekuláris operatív taxonómiai egységek dominánsak az AM gombaközösségekben.
9. Megállapítottuk, hogy a különböző vetésforgó rendszerekből kimutatott és a becsült MOTU-k száma, valamint a diverzitás indexek értékei szezonális változást is mutatnak, erőteljesen csökkenek a kukorica monokultúrától a Norfolk típusú vetésforgó rendszerig, különösen az augusztusi mintavételi időpontban.
10. Igazoltuk és elsőként írtuk le a mikorrhiza oltásnak a hungarikum fűszerpaprika termesztési technológiájába történő beillesztését.
11. Megállapítottuk, hogy a mikorrhiza oltóanyag mix használata - mely több, nem bennszülött mikorrhiza gombát is tartalmaz -, úgy növelte a paprika termésmennyiségét, hogy közben az oltóanyag mikorrhiza tagjai nem idézték elő a helyi populáció erőteljes redukcióját.
12. Leírtuk, hogy az arbuszkuláris mikorrhiza oltás jelentős mértékben befolyásolja a közegben élő mikroorganizmusok minőségét és mennyiségét, és ennek a hatásnak a közeg tápelemtartalmától való függését elsőként állapítottuk meg.

Közlemények jegyzéke

- Biró B, Posta K, Füzy A, Kádár I, Németh T (2005): Mycorrhizal functioning as part of the survival mechanisms of barley (*Hordeum vulgare* L) at long-term heavy metal stress. *Acta Biologica Szegediensis*, 49: 65-67.
- Biró B, Füzy A, Kádár I, Posta K (2006): Sensitivity of mycorrhizal fungi inside and outside the barley rhizosphere at a long-term heavy metal stress. In: Szilágyi M, Szentmihályi K (szerk.) *Trace Elements in the Food Chain. Proceedings of the International Symposium*. Budapest, Magyarország, Budapest: Working Committee on Trace Elements of the Complex Committee, HAS Institute of Materials and Environmental Chemistry of the HAS, 276-280. (ISBN:963-7067-132)
- Gerdemann J.W., Nicolson T.H. (1963): Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46 (2): 235-244.
- Giovannetti M., Mosse B. (1980): An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84(3): 489-500.
- Kádár I. (1995): A talaj-növény-állat-ember tápláléklánc szennyeződése kémiai elemekkel Magyarországon. MTA TAKI. Budapest. 388 p.
- Muyzer G., De Waal E.C., Uitterlinden A.G. (1993): Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 695-700.
- Saito K., Suyama Y., Sato S., Sugawara K. (2004): Defoliation effects on the community structure of arbuscular mycorrhizal fungi based on 18S rDNA sequences. *Mycorrhiza*, 14(6): 363-373.
- Seres A., Bakonyi G., Posta K. (2006): Zn uptake by maize under the influence of AM-fungi and Collembola *Folsomia candida*. *Ecological Research*, 21: 692-697.
- Seres A., Bakonyi G., Posta K. (2006a): Collembola (Insecta) disperse the arbuscular mycorrhizal fungi in the soil. Pot experiment *Polish Journal of Ecology*, 55: 395-399.
- Seres A., Posta K., Bakonyi G., Nagy P., Kiss I., Fábrián M., Répási V., Nosek J. N. (2009): Collembola decrease the nitrogen uptake of maize through arbuscular mycorrhiza. *Ekologia/Ecology (BRATISLAVA)* 28: 242-247.
- Vierheilig H., Coughlan A.P., Wyss U., Piche Y. (1998): Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12): 5004-5007.

Az értekezés témaköréből megjelent közlemények jegyzéke**Folyóiratban megjelent közlemények**

Bakonyi G, Posta K, Nagy P, Fábián M, Kiss I, Nosek J N (2000): Szárazság és nitrogén műtrágyázás hatása kukorica és gyep endomikorrhizáira valamint a szabadonélő fonálférgekre barna erdőtalajon. *Agrokémia és Talajtan*, 49: 479-490.

Posta K, Fülekgy Gy (2000): Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of maize induced by different phosphorus sources. *Bulletin of the Szent István University(Gödöllő)*, 55-67.

Bakonyi G, Posta K, Kiss I, Fabian M, Nagy P, Nosek J N (2002): Density-dependent regulation of arbuscular mycorrhiza by collembola. *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 661-664.

Seres A, Bakonyi G, Posta K (2003): Ugróvillások (Collembola) szerepe a *Glomus mosseae* (Zygomycetes) terjesztésében. *Allattani Közlemények* 88: 61-71.

Biró B, Posta K, Füzy A, Kádár I, Németh T (2005): Mycorrhizal functioning as part of the survival mechanisms of barley (*Hordeum vulgare* L) at long-term heavy metal stress. *Acta Biologica Szegediensis*, 49: 65-67.

Posta K, Füzy A, Biró B (2006): Mycorrhizal colonization of clover after 12 years of metal adaptation in a calcareous chernosem soil. *Bulletin of the Szent István University (Gödöllő)*, 81-88.

Seres A, Bakonyi G, Posta K (2006): Zn uptake by maize under the influence of AM-fungi and Collembola *Folsomia candida*. *Ecological Research*, 21: 692-697.

Seres A, Bakonyi G, Posta K (2007): Collembola (Insecta) disperse the arbuscular mycorrhizal fungi in the soil. Pot experiment. *Polish Journal of Ecology*, 55: 395-399.

Seres A, Posta K, Bakonyi G, Nagy P, Kiss I, Fábián M, Répási V, Nosek J N (2009): Collembola decrease the nitrogen uptake of maize through arbuscular mycorrhiza. *Ekologia/Ecology (BRATISLAVA)* 28: 242-247.

Sasvári Z, Posta K (2010): Effect of different plant densities on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi community in a long-term maize monocrop system. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8: 123-S130.

Biró B., Füzy A., Posta K. (2010): Long-term effect of heavy metal loads on the mycorrhizal colonization and metal uptake of barley. *Agrokémia és Talajtan*, 59: 175-184.

Sasvári Z, Hornok L, Posta K (2011): The community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of maize grown in a 50-year monoculture. *Biology and Fertility of Soils*, 47: 167-176.

Albrechtova J, Latr A, Nedorost L, Pokluda R, Posta K, Vosatka M (2012): Dual inoculation with mycorrhizal and saprotrophic fungi applicable in sustainable cultivation improves the yield and nutritive value of onion. *The Scientific World Journal*, 374091.

Csima G, Hernadi I, Posta K (2012): Effects of pre- and post-transplant inoculation with commercial arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on pelargonium (*Pelargonium hortorum*) and its microorganism community. *Agricultural and Food Science*, 21: 52-61.

Gierczik K, Sasvári Z, Posta K (2012): Különböző időpontban történő mikorrhiza oltás és szárazság stressz hatása fűszerpaprika terméshozamára. *Tájökológiai Lapok*, 10:(2) 385-390.

Hernádi I, Sasvári Z, Albrechtová J, Vosátka M, Posta K (2012): Arbuscular mycorrhizal inoculant increases yield of spice pepper and affects the indigenous fungal community in the field. *Hortscience*, 47: 603-606.

Hernádi I, Magurno F, Sasvári Z, Posta K (2012): Mikorrhiza oltóanyag hatása ét fűszerpaprika termesztésére és a helyi arbuszkuális mikorrhiza gombaközösségre. *Tájökológiai Lapok*, 10:(2) 305-313.

Sasvári Z, Franco Magurno, Dóra Galanics, Tran Thi Nhu Hang, Tran Thi Hong Ha, Nguyen Dinh Luyen, LeMai Huon, Katalin Posta (2012): Isolation and identification of arbuscular mycorrhizal fungi from agricultural fields of Vietnam. *American Journal of Plant Sciences (AJPS)* 3:(12).

Sasvári Zita, Magurno Franco, Posta Katalin (2012): Hosszú időtartamú monokultúrás termesztésből és különböző vetésforgó rendszerekből származó növények arbuszkuális mikorrhiza (AM) gombaközösségeinek vizsgálata. *Tájökológiai lapok* 10:(2) pp. 351-360.

Hernádi I, Posta K (2013): Real-case application of mycorrhizal inoculums on *Capsicum annum* L. var. longum cv. Szegedi and Kalocsai. *International Journal of Horticultural Science (közlésre elfogadva)*

Könyvrészlet

Posta K, Bakonyi G (2008): Consideration of AMF-plant-collembola interactions in plant production. In: Feldmann F, Kapulnik Y, Baar J (szerk.). *Mycorrhiza Works* Braunschweig: Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, 344-352.

Posta K, Sasvári Z (2008): Importance of AMF diversity for typical agricultural soil of Hungary with special respect to maize cropping system. In: Feldmann F, Kapulnik Y, Baar J (szerk.) *Mycorrhiza Works*. Braunschweig: Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft 186-195.

Konferenciaközlemény

Biró B, Füzy A, Kádár I, Posta K (2006): Sensitivity of mycorrhizal fungi inside and outside the barley rhizosphere at a long-term heavy metal stress. In: Szilágyi M, Szentmihályi K (szerk.) *Trace Elements in the Food Chain. Proceedings of the International Symposium*. Budapest, Magyarország, Budapest: Working Committee on Trace Elements of the Complex Committee, 276-280. (ISBN:963-7067-132)

Sasvári Z, Csima G, Hernádi I, Posta K (2009): Kukorica arbuszkuális mikorrhiza diverzitásának vizsgálata hosszú időtartamú kísérletekben. Jubileumi tudományos konferencia, 2009. október 15. Martonvásár. Tartamkísérletek jelentősége a növénytermesztés fejlesztésében, 293-298.

A dolgozathoz közvetlenül nem kapcsolódó közlemények jegyzéke

Folyóiratban megjelent közlemények

Fekete C, Posta K, Hornok L (2001): Primary structure and transcription patterns of RPL36, a ribosomal protein-encoding gene of the mycoparasitic fungus, *Trichoderma hamatum*. *Current Genetics*, 39: 183-189.

Posta K, Beki E, Wilson DB, Kukolya J, Hornok L (2004): Cloning, characterization and phylogenetic relationships of cel5B, a new endoglucanase encoding gene from *Thermobifida fusca*. *Journal of Basic Microbiology*, 44: 383-399.

Óbert M, Csepregi A, Posta K, Tóth-Király E, Hornok L (2008): Szennyvíziszap és zöldhulladék alkotta komposztkeverékből izolált gombák jellemzése. *Agrokémia és Talajtan*, 57: 319-332.

Sasvari Z, Posta K, Hornok L (2008): Expression patterns of cel5a-cel5b, two endoglucanase encoding genes of *Thermobifida fusca*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 55: 437-446.

Összefoglaló cikk

Zijlstra C, Lund I, Justesen AF, Nicolaisen M, Jensen PK, Bianciotto V, Posta K, Balestrini R, Przetakiewicz A, Czembor E, van de Zande J (2011): Combining novel monitoring tools and precision application technologies for integrated high-tech crop protection in the future (a discussion document). *Pest Management Science*, 67: 616-625.

Hornok László, Posta Katalin (2012): Változások a búza kalászfuzárium kórokozók faj-összetételében Magyarországon az elmúlt 50-évben. *Növényvédelem*. 12. 533-539.

Könyvrészlet

Hornok L, Posta K (2011): Biopeszticidok és biotrágyák In: Balázs E, Dudits D, Sági L (szerk.) *Genetikailag módosított élőlények (GMO-k) a tények tükrében*: Magyar Fehér Könyv Szeged: Barabás Zoltán Biotechnológiai Egyesület, pp. 72-77.

Konferenciakiadvány

Kukolya J, Béki E, Posta K, Hornok L (2001): Termofil sugárgombák szerepe mezőgazdasági hulladékok lebontásában. In: Jávor A, Szemán L (szerk.) *Innováció, a tudomány és a gyakorlat egysége az ezredforduló agráriumban*. Gödöllő, Debrecen: DE MGTK - SZIE MKK, pp. 293-303

Dobrányi Sz, Dancs G, Posta K, Fülöp L (2011): Akác (*Robinia pseudoacacia* L.) fakivonatok hatása különböző baktériumok és *Fusarium proliferatum* növekedésére.: Bioactive metabolites in wood extracts of *Robinia pseudoacacia* L. inhibit the growth of *Fusarium proliferatum* and various bacteria. In: Ferencz Á (szerk.) *"Válságkezelés a tudomány eszközeivel"* Erdei Ferenc 6. Tudományos Konferencia. 1-2-3. kötet. Konferencia helye, ideje: Kecskemét, Magyarország, 2011.08.25-2011.08.26. Kecskemét: Kecskeméti Főiskola Kertészeti Főiskolai Kar, 2011. pp. 278-282.(ISBN:978-963-7294-98-3 Ö)

Szabadalom

Alexa L, Csepregi A, Gyuricza Cs, Hornok L, Óbert M, Posta K (2008): Szennyvíziszap és lignocellulóz tartalmú növényi hulladék együttes komposztálása, és a végtermék növényi tápanyagként való felhasználása. MSzH: P 0800629.