

## Válasz DSc. Páldi Emil

„Termesztés-technológiai beavatkozások hatása arbuszkuláris mikorrhiza gombaközösségekre szántóföldi és kertészeti kultúrákban” című MTA doktori értekezés

### opponensi véleményére

Először is szeretném megköszönni Opponensemnek, hogy nagy figyelmet szentelt dolgozatomnak. Külön öröömre szolgált, hogy kiemelte a dolgozat igényességét, korrekt és mértéktartó következtetéseimet.

Köszönöm a dicsérő és biztató szavakat, valamint a kritikai megjegyzéseket is. Ugyancsak köszönöm az igen mélyreható, alapvető tudományos kérdéseket feszegető felvetéseket, amelyeket több pontban fogalmazott meg. Alábbiakban röviden összefoglalom azokat a gondolatokat és a dolgozatba be nem került kísérleti eredményeket, amelyek a felvetett kérdések és problémák kifejtéséhez hozzájárulnak. A könnyebb követhetőség érdekében dőlt betűvel felidézem az Opponensi kérdéseket.

1. „*Nehézfémek eliminálásának, vagy tolerálásának mechanizmusai az AM gombáknál azonosak, hasonlóak, vagy eltérőek, mint ami a magasabbrendű, e fémionokkal szemben adaptálódó növényeknél ismertek.*”

A mikorrhiza gombák fém-tűrő-képességének, tolerálásának folyamatai még nem teljes mértékben feltártak, de mai tudásunk alapján megállapítható, hogy több közös elemet tartalmaz a növények fémionokkal szembeni adaptációs mechanizmusai (BHALERAO 2013). Ezek a folyamatok a növényben és a gombában külön-külön, de emellett szinkronban is működhetnek.

A növények és a mikorrhizagombák egyaránt képesek a toxikus nehézfémek sejtbe történő bejutását megakadályozni. Mindez többféle biokémiai úton érhető el; **a toxikus anyag kiáramlásának fokozásával**; a beáramlás lassításával vagy olyan anyag kibocsátásával, amely komplexet képez a mérgező anyaggal; valamint a mérgező anyagok kicsapásával. További lehetőséget biztosítanak az **elkülönítési stratégiák**. Ilyenkor a mérgező anyag, toxikus fém tárolása átmenetileg vakuolumokban történik.

Nem szabad elfelejtkeznünk a növényvilágból már ismert fitokelatinok és metallotioneinek jelenlétéről sem, melyek fontos szerepet töltenek be a toxikus fémek elleni védelemben, metabolizmusban. A **metallotioneinek** olyan kis molekulájú, kénben gazdag fehérjék, melyek a fémek megkötésével azok felvételében és/vagy méregtelenítésében játszanak szerepet. LANFRANCO és munkatársai 2002-ben elsőként azonosítottak metallotionein fehérjét kódoló gént (GmarMT1) arbuszkuláris mikorrhiza gombában, a *Gigaspora margarita*-ban. Az AM gombák fémkötő fehérje alapfelépítésében igen sok hasonlóságot mutat a növényi metallotioneinekhez, de általában kisebb méretűek és nagyobb kelátképző stabilitással rendelkeznek.

Az arbuszkuláris mikorrhizagombák gyökéren kívüli, ún. externális hifáinak kiemelt szerepük van a nehézfémek tolerálásának, eliminálásnak folyamataiban.

A növényekhez hasonlóan a mikorrhizagombák hifái is képesek **szerves savakat** (citromsav, almasav, oxálsav) is kiválasztani a rizoszférába és hifoszférába, befolyásolva a fémek mobilizációját és immobilizációját. A *Glomus intraradices* externális **hifáinak váladéka** által előidézett Cd precipitációt munkánk során mi is többször tapasztaltuk (1. kép).



1. kép. Arbuszkuláris mikorrhiza gomba (*G.intraradices*) externális hifáinak Cd precipitációja (200x) (saját felvétel)

A fémek, köztük a nehézfémek gomba képleteken történő **adszorpciója** a precipitáció mellett szintén egy lehetőség a fémek sejtbe történő bejutásának megakadályozására. *In-vitro* kultúrában a spóra falában megtapadó  $\text{Cu}^{2+}$  -ionok színük alapján könnyen azonosíthatóak (2. kép).



2. kép. Arbuszkuláris mikorrhiza gomba (*G.intraradices*) spóráinak  $\text{Cu}^{2+}$  adszorpciója (200x) (saját felvétel)

Több kutató is feltételezi, hogy az AM gomba képes érzékelni, hogy az adott fém (nehézfém) szükséges-e a növényi sejtek normál működéséhez, vagy bejutásával toxikus szintet ér el (BHALERAO 2013). Ennek megfelelően működteti a plazmamembrán speciális fém-szállító egységeit (GONZALES-GUERRERO et al. 2005) elősegítve vagy gátolva a fémek bejutását. Mindez magyarázat lehet arra is, hogy igen ellentmondásos eredmények születtek és születnek napjainkban is az arbuszkuláris mikorrhiza gombáknak a fémek, nehézfémek felvételére gyakorolt hatására vonatkozóan.

A már vázlatosan ismertetett folyamatok mellett a nehézfémek talajban történő visszatartásában a mikorrhiza gombák endocelluláris polifoszfátjai is részt vesznek, meggátolva a fém növénybe történő továbbítását. Az AM gomba hifái által szintetizált speciális extracelluláris glikoprotein, a **glomalin** is képes megkötni a nehézfémeket, hozzájárulva a mikorrhizált növény fémtűrő képességének a növeléséhez.

A növényvilágban ismert, hogy a szennyezettséget mutató talajrészben a gyökér erős redukciót mutat, ugyanakkor a nem terhelte területeken gyökérnövekedéssel kompenzálja ezt. A mikorrhiza gombák externális hifája ettől eltérő viselkedést is mutathat. **Fémekkel szennyezett területen gyakran tapasztalható erőteljes hifa növekedés**, mely valószínűleg a védekezés része. Segítségével lehetőség van a szennyezett területet gyorsan „átnőve” a nem vagy kevésbé szennyezett talajon meglepedni.

Az arbuszkuláris mikorrhiza gombák a növényi védekező rendszerén keresztül is reagálnak a toxikus fémek jelenlétére. A különböző stressz, köztük a nehézfémek hatására létrejövő, a gyökér fehérje mintázatában fellépő különbségeket már többen leírták (REPETTO et al. 2002). RIVERA-BECERIL és munkatársai (2005) mindezen túllépve „real-time” PCR segítségével bizonyították be, hogy Cd terhelés hatására megváltozik három úgynevezett **stressz függő gén expressziója** a mikorrhizált növény gyökerében. Megállapították, hogy mind a kitináz, egy 90kD méretű „heat-shock” fehérje, illetve a metallothionein képződés közbelső állapotát jelző glutation reduktáz jelentősen aktiválódik Cd-stresszre, melyek a mikorrhiza gomba által előidézett fém-tűrő képességének növekedésében is szerepet játszanak.

#### Referencia:

- Bhalerao (2013) [http://scienceandnature.org/IJSN\\_Vol4\(1\)M2013/IJSN-VOL4\(1\)13-1R.pdf](http://scienceandnature.org/IJSN_Vol4(1)M2013/IJSN-VOL4(1)13-1R.pdf)
- Lanfranco, Bolchi, Cesale Ros, Ottonello, Bonfante (2002) Plant Physiol. Vol. 130:58-67
- González-Guerrero, Azcón-Aguilar, Mooney, Valderas, MacDiarmid, Eide, Ferrol (2005) Fungal Genetics and Biology, 42:130–140.
- Repetto, Bestel-Corre, Graziella Berta, Gianinazzi-Pearson, Gianinazzi (2002) New Phytologist, 157, 555–567
- Rivera-Becerril F, Metwally A, Martin-Laurent F, Van Tuinen D, Dietz K-J, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V (2005) Water and Soil pollution, 168(1-4): 171–186

2. *A 22. ábra a nehézfémkezelés hatását (hiányzik a nehézfém koncentráció értéke) mutatja be a gyökérkolonizáció (M%) és az arbuszkulum gazdagság (A%) mértékére. Meglepő, hogy az M% értékek – a Cd kivételével - gyakorlatilag azonosak, noha a kísérletben szereplő nehézfém ionok toxicitása (pl. Cr, Hg, Pb, Zn) igen különböző. Mi ennek az oka?*

Az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézetének Nagyhorcsöki Kísérleti telepén beállított tartamkísérletből származó talajokban vizsgáltuk 13 fémion, négy eltérő koncentrációjának (0, 30, 90, 270 mg kg<sup>-1</sup> száraz talaj) arbuszkuláris mikorrhizára gyakorolt hatását. A nehézfémek kiindulási koncentrációja még a legmagasabb mennyiségnél sem idézett elő növényi növekedés depressziót, mely arra utal, hogy jóval a toxikus szint alatti mennyiségek az alkalmazott nehézfém dózisok.

A 22. ábrán közölt gyökérkolonizációs és arbuszkulum megjelenésének százalékos értékei már kumulatív értékek, a három eltérő koncentráció együttes hatásaként jöttek létre.

A nehézfémeknek a mikorrhiza gyökérkolonizációjára (M%) gyakorolt hatása valóban csak a Cd-nál okozott szignifikánsan csökkenést, és a nehézfémek az arbuszkulumok számának változását jobban befolyásolták. Mindez nem meglepő, hiszen a gyökérkolonizáció mértékének megállapításakor az appresszorium, internális hifa, arbuszkulum és vezikulum jelenlétét egyaránt beszámítottuk. Ugyanakkor több adattal rendelkezünk arra vonatkozóan, hogy a mikorrhiza gomba fejlődésének különböző stádiumaiban eltérő a nehézfémek gátlást okozó koncentrációja, élettani hatása. Így az AM gombák különböző életciklusait reprezentáló képletek eltérő módon reagálva a fémekre akár egymás hatását tompíthatják, elfedve a különbségeket.

Az arbuszkulum gazdagság gyökérkolonizációhoz viszonyított érzékenységnak magyarázata lehet még, hogy az arbuszkulumok a növény-gomba közötti kapcsolat aktív színterei, melyek adott helyzetre való reakciót reprezentálják.

3. *Vannak olyan növénycsaládok (pl. Brassicaceae, Caryophyllaceae, Polygonaceae stb.), melyek tagjai az AM gombákkal nem képesek szimbiózisban élni. De ide tartozik a növénybiológiai kutatások első számú modellnövénye az Arabidopsis thaliana, a lúdfű is. Milyen okok játszanak ebben szerepet?*

A mikorrhiza gombák és a növények között kialakuló mutualista szimbiotikus kapcsolat kialakulása több mint 460 millió évvel ezelőtt történt, egybeesve a szárazföldi növények térhódításával. Bizonyítékok erre az ordovicium korából származó olyan leletek, melyeken a ma ismert *Glomus* fajok spóráira és gombafonalaira emlékeztető képleteket találtak (REDECKER et al. 2000). Valószínű, hogy a primitív gyökézzel rendelkező növények „szárazföldre lépésében” fontos szerepet játszottak a mikorrhiza gombák, a víz és tápelem felvételt nagyban segítve.

Bizonyos családokba tartozó növényeknél azonban ez a kapcsoltság nem, vagy csak kis mértékben jön létre. Ezeknél a növényeknél a gyökérkapcsoltság hiánya feltételezések szerint másodlagosan alakult ki (BRUNDRETT 2002) a mikorrhiza-képzésre való képességük elvesztésével. A szimbiotikus kapcsolat elmaradásának oka lehet a növény gombával szemben tanúsított túlérzékeny reakciója vagy a szimbiotikus kapcsolat kialakulásához nélkülözhetetlen jelmolekulák hiánya (GIOVANETTI és SBRANA 1998).

Az *Arabidopsis* génusz tagjai sem mutatnak mikorrhiza függőséget. A jelenség pontos okainak feltárása jelenleg is folyik, nagy szerepet tulajdonítva ebben a lúdfű endofita gomba közösségének (MANDYAM et al. 2013) és relatíve rövid vegetációs idejének. Az *Arabidopsis*-ok speciális, foszfor-hiány jelentekezésekor megfigyelhető gyökérmorfológiai és biokémiai adaptációja (VANCE 2008) is magyarázat a mikorrhiza kapcsolat kialakulásának hiányára.

A lúdfű és mikorrhiza függőséget mutató növényfajok együttélésekor azonban igen érdekes jelenség is megfigyelhető. Mesterséges oltással, a *Rhizophagus irregularis* mikorrhiza gomba képes mikorrhizált növények jelenlétében *Arabidopsis* gyökerek 40 %-os kolonizációját is elérni, de arbuszkulum képződés soha nem mutatható ki (VEIGA et al. 2013). Vagyis a lúdfű és mikorrhiza gomba közötti kapcsolat létrejöhet, de passzív. Az *Arabidopsis* így nem csak növénybiológiai, hanem közvetett módon a mikorrhiza kutatások kulcsszereplőjévé vált. Foszfát transzport mechanizmusok, azok szabályozásának problematikáját igyekeznek segítségével vizsgálni és értelmezni (Prof. Dr. Bucher Marcel laboratóriuma).

Referencia:

- Brundrett M.C. (2002): Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, 154 (2): 275-304.
- Giovannetti M., Sbrana C. (1998): Meeting a non-host: the behaviour of AM fungi. *Mycorrhiza*, 8 :123–130
- Redecker D., Kodner R., Graham L.E. (2000): Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*, 289: 1920-1921
- Mandyam, Roe, Jumpponen (2013) *Fungal Biol.* 117:250–260.
- Veiga, Faccio, Genre, Pieterse, Bonfante, van der Heijden (2013). *Plant Cell Environ.* 36,1926–1937.

4. *Állandó helyre ültetett több évtizedig fennálló kertészeti növényállományoknál (gyümölcsös, szőlő) milyen szerepe van az AM gombák szempontjából a sorok közé vetett takarónövényeknek*

ZANATHY és munkatársai 2011-ban egy átfogó magyar nyelvű cikket jelentettek meg a mikorrhizagombák szőlőtermesztésben betöltött szerepéről, mely a talajtakaró növényzet hatását is a mikorrhiza gomba oldaláról vizsgálja.

Általános megállapítás, hogy a takarónövények kedvezőek a bennszülött mikorrhiza gombák diverz populációjának a fenntartásához, és mindemellett elősegítik a szőlőgyökerek kolonizációját (BAUMGARTNER et al. 2005).

Habár a szőlő gyökere több méter mélyre hatol, a mikorrhiza gombák ugyanakkor a felső 25-50 cm-es régiót népesítik be, mégis szép eredményeket érhetünk el szőlő mikorrhiza oltásával. A takarónövények gyökerein indul meg először a mikorrhizálódás, melyben az előző év gyökér maradványai és AM spórák gondoskodnak a növénytakaró újbóli mikorrhiza fertőzéséről. A takarónövényzet gyökerei idővel elérik a szőlőét, és biztosítják számára a természetes mikorrhiza inokulumot (SCHREINER, 2005). Több éves kultúrákban a bennszülött AM gombák hatékonyabban tudnak működni, melyet életfeltételeinek stabilizálásával és támogatásával segíthetünk (ZANATHY et al. 2011).

A takarónövények, illetve a gyomszabályozás azonban gyakran megváltoztatja az őshonos fajok összetételét, s ez kihat a szőlő mikorrhiza kapcsolatának alakulására is (CHENG és BAUMGARTNER 2005). A nem mikorrhizáló növények felhasználásával például kisebb mértékű lesz a szőlő mikorrhizáltsága (PETGEN et al. 1998). KERNAGHAN 2005-ben egy „feedback” mechanizmust vázolt fel, melyben mind a növény-, mind pedig a gombapartner fajösszetételének és diverzitásának kölcsönös egymásra hatását, befolyásoló hatását elemezte a növényi produktumig vizsgálva a kapcsolatot. Ilyen komplex vizsgálat takarónövények vonatkozásában még nem született, de DONKÓ és munkatársai (2014) a hazai borvidékek számára ideális talajtakaró növényzet kialakítása érdekében kezdtek vizsgálatokat három eltérő összetételű magkeveréket felhasználva.

Referencia:

- Baumgartner, Smith, Bettiga (2005). Mycorrhiza. 15. (2.): 111–119
- Cheng, Baumgartner (2005) Proceedings of the Soil Environment and Vine Mineral Symposium, 29–30 June 2004, San Diego, CA. American Society of Enology and Viticulture, Davis, CA, USA, 171–174.
- Donkó et al. (2014) Talajkímélő technológiák alkalmazása a szőlőtermesztésben, Előadás sorozat, Villány
- Kernaghan (2005) Pedobiologia, 49(6): 511–520
- Petgen, Schropp, George, Römheld (1998) Wurzelbeobachtungskasten. Vitis, 37. (3.): 99–105.
- Schreiner (2005). Plant and Soil, 276. (1–2.): 219–234.
- Zanathy, Donkó, Lukácsy, Bodor, Bisztrai (2011): Kertgazdaság. 11.

5. *Van-e lehetőség az egyik fontos allelopátiás hatás, a talajunság mikorrhiza általi csökkentésére (pl. előbbi kérdésben szereplő növényállományok újratelepítése miatt)?*

A talajunság oka rendkívül összetett, és nem minden eleme tisztázott. Első megközelítésben kétféle talajunságot különböztetünk meg. A specifikus talajunság növénycsoportokhoz köthető, bizonyos specifikust mutat és kialakulásában nagy szerepe van önallelopátia-nak, ami a rizoszféra és rizoplán mikroorganizmusok által termelt méreganyagok, és/vagy speciális gyökérváladék önmérgező hatásának tudható be. Egyazon növényfajok egymás utáni

termesztése az egyoldalú tápanyag-felhasználás miatt sem kedvező, bár ezen könnyen lehet segíteni tápanyag-utánpótlással. A talajuntság másik típusa az általános talajuntság, amelyet a talajban élő biológiai komponensek: fonálféreg (nematódák), gombák és baktériumok okoznak. Mindezek ismeretében nézzük meg, milyen megoldást nyújthat a mikorrhiza gombák alkalmazása a talajuntságnál, újratelepítésnél.

Ismert, hogy számos gyökérpatógén gomba (*Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora*, *Pythium* és *Aphanomyces* nemzetség tagjai) előfordulása és kártétele is csökken a mikorrhiza gomba jelenlétekor (POZO et al. 2002). A folyamat alapja, hogy az AM gombák rezisztenciát indukálnak a növényben, mely bonyolult több lépcsős folyamatot mikorrhiza indukált rezisztenciának (MIR-nek) nevezték el.

A MIR folyamatának már több eleme ismert, melyet leegyszerűsítve vázolok. Hasonlóan egy biotróf kórokozó megjelenéséhez, az AM gombák is szalicilsav szint növekedését indukálják a növényben. Ugyanakkor a biotróf kórokozók által előidézett állapottal szemben, a mikorrhizált gyökerek belsőbb rétegeiben a szalicilsav szint már nem emelkedik, hanem csökken. Ezzel egyidőben az arbuszkulumokat tartalmazó növényi sejtek jázmonsav képződése pedig fokozódik. A helyi rezisztencia kiváltásán túl a növény gyorsabban és hatékonyabban reagál a patogén szervezetek támadásaira, mivel a mikorrhiza a növény védekező mechanizmusának „kielelítése” révén egy energetikailag kedvezőbb, jázmonsav-függő védekezési útvonalat indukál a növényben.

A helyi és a szisztémikus mechanizmus révén az AM gombák közvetlen hatással vannak a talajban élő növénypatogén gombák, nematódák és gyökérrágó rovarok előfordulására, közvetett hatással pedig a nekrotróf patogénekre és a generalista rágó rovarokra is. Mikorrhiza gomba jelenlétekor (mikorrhiza oltás) a növény védelmi rendszerében szerepet játszó gének egy része is indukálódik, amit transzkripciós és géntermék szinten (pl. PR fehérjék, antioxidáns enzimek) egyaránt igazoltak (SONG et al. 2013).

Így az arbuszkuláris mikorrhiza gombák, mint a biológiai védekezés részei, felhasználhatók a talajuntság problémájának a megoldásában akár szőlő ültetvényeknél is (NOGALES et al. 2008). Az AM gomba izolátumok között a rezisztencia növelésére való képesség különböző – melyet a környezeti tényezők is jelentősen befolyásolják (POZO és AZCÓN-AGUIAR, 2007). Ezért mikorrhiza oltással biztos siker jelenleg még nem garantálható, de a folyamat minden elemének feltérképezése után már biztosabb eredményben is bízhatunk.

Referencia:

- Nogales, Camprubí, Estaún, Calvet (2008) [http://www.recercat.net/bitstream/handle/2072/13365/Nogaleset%20al%20Mycorrhiza%20in%20grapevines%20\(2\).pdf?sequence=1](http://www.recercat.net/bitstream/handle/2072/13365/Nogaleset%20al%20Mycorrhiza%20in%20grapevines%20(2).pdf?sequence=1)
- Pozo, Azcón-Aguilar (2007) Current Opinion in Plant Biology, 10: 393-398.
- Pozo, Cordier, Dumas-Gaudot (2002) Journal of Experimental Botany, 53(368): 525-534.
- Song, Ye, Li, Wang, Wei, Luo, Zeng (2013) Chem Ecol. 39(7):1036-44.

6. Szabadföldi dísnövények közül elsősorban a fenyőfélék (pl. *Chamaecyparis*, *Juniperus*, *Taxus*, *Thuja* fajok, és változatai) ültetésekor komoly probléma a gyökeresedés beindulása. Az AM oltóanyagokkal kapcsolatban ezen a téren van-e gyakorlati tapasztalat?

Az arbuszkuláris mikorrhiza gombákat tartalmazó oltóanyagok fő felhasználói a csemete kertészetek, ahol gyümölcsfákon kívül a szabadföldi dísznövények (*Chamaecyparis*, *Juniperus*, *Taxus*, *Thuja* nemzetég fajai) telepítésénél is jelentős eredményeket érhetünk el (FALKOWSKI and MATYSIAK 2010). Több kutató is rámutatott arra, hogy az említett fajok erősen AM függők (MOLINA 1994, GERDEMAN et al. 1974). A *Juniperus communis* rizoszférájából Watson például öt AM és csak két ektomikorrhizát tudott kimutatni. Mivel fásítás általában mezőgazdaságilag hasznosított területeken történik, ahol nincs meg a csemeték rizoszférájának optimális mikrobiális közössége, ezért az erdőtelepítéseinket másfélszer, nem ritkán kétszer is újra kell ültetni (Dr. Barna Tamás személyes közlés). Mindezt jelentős mértékben lecsökkenthetjük mikorrhiza oltóanyagok használatával.

A mikorrhiza gomba jelenléte morfológiai és fiziológiai változást indukálhat a növény gyökerében, mely gyakran gyökértömeg redukcióban nyilvánul meg. Ugyanakkor erőteljes gyökerezés is megfigyelhető, elsősorban fás szárú növényeknél (M. Vosatka személyes közlése). A mikorrhiza gomba externális hifái által létrehozott hifoszféra ugyanis váladékával a rizoszférához hasonló teret hoz létre, környezeténél nagyobb mikróba jelenlétet biztosítva. A hifoszférában megtelepedő mikroorganizmusok első sorban baktériumok, és vitaminok, növényi hormonszerű anyagok termelésével hozzájárulnak az erőteljesebb gyökérszétgyors kialakításához.

Az erdőtelepítéseket – a megfelelő fafajok kiválasztása mellett – a lehető legnagyobb siker érdekében az adott területre jellemző, az adott stressz helyzethez alkalmazkodott vagy alkalmazkodni képes mikorrhizagomba-fajokkal célszerű megvalósítani, ami nemcsak gazdaságilag, hanem természetvédelmi szempontból is kívánatos (MEDINA and AZCON 2010).

Referencia:

- Falkowski and Matysiak (2010) Journal of Fruit and Ornamental Plant Research Vol. 18, 335-348
- Gerdeman, J. W.; Trappe, James M. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. Mycologia Memoir 5: 1-76.
- Medina and Azcon (2010) J. Soil Sci. Plant Nutr. 10 (3): 354 - 372
- Molina (1994) USDA Forest Service Gen. Tech. Rep. PSW-151.

Szeretném még egyszer megköszönni Opponensem bírálatát, különösen véleményét, mely disszertációmát alkalmasnak találta és javasolta az MTA doktori cím elnyeréséhez.

Tisztelettel,

Gödöllő, 2014. július 2.

Posta Katalin