

Opponensi vélemény

Kovács M. Gábor „Gyökérkolonizáló nem patogén gombák: változatosság, taxonómia és vizsgálati módszereik” c. akadémia doktori értekezéséről

A gombák, köztük a mikroszkópi méretű gombák nagyon változatos megjelenésűek, külső tulajdonságukban és genetikai felépítésükben is nagy változékonyságot mutatnak. Nem véletlenül hasonlítják őket Janushoz, az ókori világ kétarcú istenéhez, aki minden kezdet és vég istene, egyszerre jó és rossz. Kovács M. Gábor doktori értekezésében ebből a csodálatos világból egy igen nagy szeletet, a gyökérkolonizáló nem patogén gombákat választotta ki vizsgálatai középpontjába.

A valódi gombák csoportjába hozzávetőlegesen 120 000 elfogadott, leírt faj tartozik mely nem tekinthető magas számnak. Az utóbbi időben jelentősen megváltoztak a valódi gombákra vonatkozó ismereteink. A molekuláris módszerek robbanásszerű fejlődése és alkalmazása, a gombák megdöbbentő diverzitását tárta fel. A leírt fajok molekuláris feldolgozásának lemaradása miatt azonban még bonyolultabbá teszi a helyzetet a gombák világában. Egyre nagyobb az igény olyan új vizsgálati módszerek kifejlesztésére illetve a már rendelkezésünkre álló technikák segítségével feldolgozásra való hazai és nemzetközi gyűjtemények molekuláris módszerekkel történő bevizsgálására, melyek a taxonómiai kihívásoknak is megfelelnek, ugyanakkor az alkalmazott kutatásban történő potenciális lehetőségekre is rávilágítanak. A száraz területek gombavilágának leírása még inkább hiányos, pedig korunk egyik legfontosabb kihívása, a klímaváltozás miatti új utak keresése és a károk mértékének csökkentése miatt egyre nagyobb érdeklődés mutatkozik ez irányba. Mindezek tükrében a választott kutatási téma aktualitása vitathatatlan.

Az akadémiai doktori értekezés témája – Kovács M. Gábor eddigi munkásságának közel teljes körű, olvasmányos feldolgozása. A dolgozat a több mint két évtizedes munka tudományos eredményeit és azok gyakorlati hasznosítását foglalja össze; a saját kutatócsoport eredményei mellett jelentős rész, a külföldi kutatók segítségével gyarapított munkásságot mutatja be. Mindez jelölt szervezési és együttműködési készségét dicséri. Az egyes kutatási témakörök egyenként is érdekesek, alapos munkát tükröznek.

Az értekezés a szokványos akadémiai doktori értekezés felépítésétől kissé eltérően szerkesztett, 122 oldal (plusz 18 oldal a Közlemények és a Felhasznált irodalmi jegyzék tartalmazó rész) terjedelmű alkotás. A doktori mű tartalmazza mindazon fejezeteket, amelyek a dolgozattal szemben támasztott tartalmi és formai követelményekben meghatározottak. A dolgozat jelentős tudományos értéke mellett és a fajleírások monotóniája ellenére is igen olvasmányos, mely jelölt veleszületett vagy még inkább az évek kitartó hosszú munkájának és az odafigyelésnek az eredménye. Ugyanakkor meg kell említenem, hogy bár a dolgozatban megjelenő angol szavak egy része már bekerült a minden napi szakmai nyelvhasználatba, mégis fontosnak tartom, hogy írásban megjelent tudományos munkáknál kerüljük ezt. Lehetőség szerint használjuk annak magyar megfelelőjét (pl. „ignorálásuk” 100. oldal és még több példa is bejelölve).

A **Bevezetésben** egy igen tömör összefoglalása található a dolgozatban bemutatásra került területeknek, azok összefüggéséről és a témaválasztásról is kapunk egy átfogó képet. Majd ezt követi az **Irodalmi áttekintés** 28 oldalon az alábbi felbontásban: Mikorrhizák, Gyökérendofiton gombák, Diverzitás és taxonómia, Száraz félszáraz területek, Hazai előzmények, alföldi vizsgálatok.

A következő fejezetben meghatározásra kerül a **cél**, mely elsősorban félszáraz, száraz területeken élő, és ezekkel közeli rokonságban álló, nem patogén gyökérekolonizáló gombák - három kölcsönhatási típus-, diverzitásának feltárása és vizsgálati lehetőségeinek fejlesztése. Mindezeket hat eltérő területen bontja tovább a jelölt, 20 konkrét célkitűzést megfogalmazva.

Az **Anyagok és módszerek** fejezet 3 oldal terjedelmű, mely a vizsgálatokban felhasznált anyagok és alkalmazott módszereknek csupán vázlatos áttekintését adja. Mindez nem meglepő, és sokkal pontosabb megjelenítése a módszereknek nem is várható el. Hiszen olyan szerteágazó és több szintű munka bemutatására vállalkozott Kovács M. Gábor, mely egy rövid fejezetben nehezen képzelhető el úgy, hogy közben megfeleljen az MTA doktori követelményeinek is. Az egyes laboratóriumi eljárások, és azok pontos bemutatása, az adatértékelések, elemzések pontos részletei, körülményei megtalálhatók az adott eredményeket közlő publikációkban, azok hivatkozott szakirodalmában. Elgondolkodtató, hogy az MTA doktori értekezésével szemben támasztott jelenlegi előírások, formai követelmények mennyire követik az igen gyors ütemben fejlődő tudományterületen jelentkező dolgozatok megfeleltetésének nehézségeit.

Összességében megállapítható, hogy jelölt a klasszikus és molekuláris munka szinte teljes repertoárját használta munkái során, melyet felsorolás szerűen közöl is. Így csak a mikroszkópi vizsgálatoknál legalább 15 különböző típusú és célú vizsgálati módszerét említi meg.

Nehéz feladat egy ilyen szerteágazó munka anyag és módszertani részének leírása, azonban nem tartom jónak, hogy néhol olyan részletek is megemlítésre kerülnek, melyek feleslegesek. Így például „A vastag gyökérmetszeteken és gombaizolátumokon alkalmazott hibridizációs és mosási hőmérsékletek, formamid koncentrációk, mosási idők, többszöri próbálkozásokkal kerültek megállapításra.” Itt is helyesebb lett volna-követve a más területen használt gyakorlatot-, az adott publikációra való utalással mindezt helyettesíteni.

Meg kell említeni, hogy jelölt nagy hangsúlyt fektetett a mintavételekre, azoknál igen körültekintően jártak el, hatósági engedélyek és minimális bolygatást igénylő mintavételeket alkalmazva, mivel igen gyakran védett, fokozottan védett területekről származó mintákat dolgoztak fel.

Véleményem szerint a Törzsek izolálása, azok fenntartása alpont nem feltétlenül indokolt ebben fejezetben hiszen nem teljes a leírás és számomra szokatlan a referenciáknál használt „lásd” kifejezés kiírt használata. A zárójelben jelezett irodalom vagy a szöveges formában írt utalás egyértelműen ezt jelzi, nincs szükség kiírni.

Az **Eredmények és értékelésük** a leghosszabb és legértékesebb fejezet a dolgozatban, mely 61 oldal terjedelemben mutatja be először az *Ektomikorrhizák és ECM-képző gombák* - ezen belül három ECM-képző gombacsoport (*Tuber rapaeodorum*, *Tomentella* és *Inocybe nemzetségek*) ektomikorrhizáinak vizsgálatát.

A fejezet első oldalán lábjegyzetben található utalás, hogy az eredmények közlésekor érvényes, használt taxon nevek szerepelnek a szövegben és ábrákon. Tudom nagy munka, és lényegében egy valóban érdeklődő könnyen megtalálja a taxonómiai változások forrását, de talán jó lett volna mindkettőt közölni. Ha máshol nem, akár a mellékletben.

Ezt követi az *Arbuskuláris mikorrhiza, AM-képző gombák* területéről származó eredmények közlése. Itt igen nehéz a feladat, mivel ezen obligát biotróf gombák taxonómiájában bekövetkező változások igen nehezé teszik az eredmények összevetését. Ugyanis nem probléma mentes a kutatócsoportok általi eltérő primer-párok használatával kapott eredmények összehasonlítása, elemzése. Nem elfelejtkezve a klasszikus módszerek spóra alapú vizsgálatairól sem. Kovács M. Gáborék elsőként közöltek páfrányokról származó AM-képző gomba *in planta* molekuláris diverzitás adatokat, és elsőként publikáltak Kárpát-medence természetes élőhelyéről AM-képző gombák diverzitás vizsgálatáról.

Mindemellett Kiskunsági homokterületek spóra alapú AM-képző gombaközösségeinek vizsgálatakor 3 területen összesen 31 AM képző faj jelenlétét mutatták ki. Hat már ismert, és így 25 faj első hazai leírását tették meg és a Bugaci területéről, egy új faj leírása is megtörtént (*Diversispora jakucsiae* Blaszk., Balázs & Kovács sp. nov.). Itt jegyzem meg, hogy az 55 oldal 7. ábrájának és az új faj nevét és legfontosabb elkülönítését bemutató angol nyelvű szöveg nincs összekötve az ábra számozásával. Ez a későbbiekben, más új faj leírásánál sincs meg és mivel magyar nyelvű a dolgozat itt is ezt választottam volna.

Ebben a fejezetben igen jelentős számú, 12 tudományra új faj és két új nemzetség leírása kerül bemutatásra, melyek homokdűnék, homos területekről származó spórák molekuláris leírásakor születtek az alábbi felsorolás szerint.

Glomus perpusillum Blaszk. & Kovács

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

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

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

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

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

Glomus africanum Blaszk. & Kovács

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

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

Glomus iranicum Blaszk., Kovács & Balázs

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

Paraglomus majewskii Blaszk. & Kovács

Septoglomus fuscum Blaszk., Chwat & Kovács, Ryszka

Septoglomus furcatum Blaszk., Chwat & Kovács, Ryszka

Diversispora varaderana Blaszk., Chwat, Kovács & Góral ska

Diversispora peridiata Blaszk., Chwat, Kovács & Góral ska

Diversispora slowinskiensis Blaszk., Chwat, Kovács & Góral ska

Dominikia Blaszk., Chwat & Kovács

Dominikia disticha Blaszk., Chwat & Kovács

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

Kamienskia Blaszk., Chwat & Kovács

A fejezet több taxonómiai leírást is tartalmaz. Nem veszt a dolgozat értékéből, de ugyanakkor az ábráknál lehetett volna nagyobb méretet választani a könnyebb eligazodás végett, illetve a kiemelés lehetőségével jobban élni. Mintegy irányítva a figyelmet, melyet néhol nagyon ügyesen használ, segítve az olvasót. Az ábrák formai egyeztetése sem midig egyértelmű.

Az arbuskuláris mikorrhizagombák diverzitásának vizsgálata, melyben Kovács M. Gábor érdemei jelentősek, számos nehézséget takar. Jelen ismereteink birtokában mit tudna tanácsolni ezen a területen most induló fiatal kutatónak: mely módszerek, primer kombinációk a legeredményesebbek, és hogyan látja a csoportban a funkcionális diverzitás jelentőségét?

A mikorrhizagombák utána *A sötét szeptált endofiton (DSE) gombák vizsgálatának* eredményeit 12 oldalon közli a jelölt. Kiskunsági homokterületek nyolc honos és három inváziós növényfaj gyökeréből összesen 296 gombatorzset izoláltak, melyeket filogenetikai analízis alapján 41 csoportra tagoltak, melyből 14 csoport DSE-nek bizonyult.

Kovács M Gáborék elsőként vizsgálták meg inváziós növények endofiton közösségeit és hasonlították össze ugyanazon területen honos növények gyökér endofitonjaival. Munkahipotézisüket, mely szerint egy sikeres inváziós növény, nem függhet specifikus

partnertől, partnercsoporttól, így az endofitonok, melyek mind a honos, mind az adott területen inváziós növényeket kolonizálják, generalistának tekinthetők, így igazolták.

A DSE-gombák taxonómiai elemzését szép színes ábrák és képek teszik teljessé, mely más fejezetben nem történik meg ilyen szépen.

Új monotipikus nemzetséggént írtak 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

Mindemellett az izolátumok növekedési jellemzői alapján a tudományra új nemzetségben hat tudományra új fajt írtak le:

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

A taxonómiai leíráson kívül kiemelendő még, hogy a *Darksidea* nemzetség izolátumainál sikerült ivaros sporulációt indukálniuk, mely az első és mindeddig az egyetlen példa ivaros termőtestképzésre a DSE-gombák körében (Bár ezt nem sikerült újra indukálni).

Az eredmények alapján a DSE csoportok jelentős diverzitást mutattak és a taxonómiai diverzitás mellett a gombák funkcionális heterogenitásának a vizsgálata is megtörtént, melyet a *DSE-csoportok funkcionális heterogenitása* alfejezetben mutat be a szerző. Különböző enzim és szénhasznosítási tesztek alapján megállapították, hogy a Kiskunsági homokterületek 15 különböző DSE-taxonja funkcionális értelemben is heterogén volt. A fűfélék endofitonjai és a nem fűfélékre jellemző endofitonok csoportjai külön-külön is a teljes szénforrás-repertoárt használni tudták.

Ugyanakkor mi lehet az oka annak, hogy a legtöbb izolált gomba savas foszfatáz és valamilyen glükozidáz aktivitást mutatott, míg más enzimek esetében (cisztein-arilamidáz, α -fukozidáz, β -glükuronidáz) csak egy-két DSE-gomba mutatott aktivitást? A legtöbb szénforrást (94 db) hasznosítására a *Periconia macrospinosa* volt képes, melyet más szerzők is tapasztaltak. Mivel magyarázható ez a kiemelkedő teljesítmény?

Az akadémiai doktori dolgozat témájához kapcsolódva módszerfejlesztés eredményei kerülnek bemutatásra a következő, *Gyökérkolonizáló gombák in planta vizualizációja* alfejezetben. Nekem kicsit furcsa a vizualizáció szó használata, de elismerem, hogy például „A gombák gyökérbeli jelenlétének kimutatása” sem fedi teljes mértékben azt, amit ez a fejezet tartalmaz.

Itt egy igen szép munka eredményeinek összefoglalását találhatjuk meg, melyben egy már más gombáknál alkalmazott módszert, a fluorescens in situ hibridizáció (FISH) technika továbbfejlesztését találhatjuk. A jelölt és csoportja igazolta, hogy a FISH megfelelően adaptálható gombák *in planta* specifikus kimutathatóságára, megjelenítésére. Így elsőként sikerült nem transzformált gombacsoportokat együttesen, egyidejűleg megjeleníteni a növényen belül, melyet szép színes képekkel is illusztrálnak.

Az eredmények rész ötödik alfejezetében *sivatagi szarvasgombák és rokon taxonok* néhány példája kerül bemutatásra. A spanyolországi madridi Királyi Botanikus kert herbáriumának gomba-gyűjteményének molekuláris módszerek alapján végzett azonosítása során 110 *Terfezia* fajként deponált példány részletes mikroszkópos vizsgálatát és 71 példányból kiindulva, molekuláris filogenetikai elemzéseket végeztek el. Több tévesen határozott példány rendszertani besorolását pontosították, valamint a tudományra új sivatagi szarvasgombafajt is leírtak (*Terfezia alsheikhii* Kovács, M. P. Martín & Calonge). Sajnálom, hogy az impozáns munkát nem egészítette ki színes képekkel, melyek a munka tudományos értéke mellett

esztétikai szépséggel is lenyűgözték volna az olvasókat. Ezen megjegyzésem a következő, *az egyéb területek sivatagi szarvasgombái* alfejezetre is érvényes.

Ausztrál területekről egy sivatagi szarvasgomba morfológiai és molekuláris filogenetikai elemzése alapján új fajt írtak le, mely egy eddig nem ismert, tudományra új nemzetséget képvisel a csészegombafélék családjában (*Ulurua nonparaphysata* Trappe, Claridge & Kovács).

Korábban nem azonosított sivatagi szarvasgomba példányok esetében jellegzetes anatómiai jellemzők és a molekuláris filogenetikai elemzések igazolták, hogy a *Mattiolomyces* nemzetségbe tartoznak és tudományra új fajként írták le (*Mattiolomyces mulpu* Kovács, Trappe & Claridge). Dél-afrikai sivatagos területekről korábban *Terfezia* fajként leírt sivatagi szarvasgomba példányok vizsgálata során, egy hibás névközlés után, a *Mattiolomyces austroafricanus* (Trappe & Marasas) Kovács, Trappe & Claridge új kombinációt.

Az Észak-amerikai *Terfezia* fajok kiválasztott egyedeinek feldolgozását transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatokkal is kiegészítették. A tudományra új nemzetség leírása mellett egy új kombinációt is közöltek (*Imaia* Trappe & Kovács *Imaia gigantea* (Imai) Trappe & Kovács).

Mindemellett a molekuláris filogenetikai elemzések során a másik két korábbi *Terfezia* faj hovatarozását is pontosították és egy tudományra új nemzetség elkülönítése, és a faj átsorolása volt indokolt (*Stouffera* Kovács & Trappe *Stouffera longii* (Gilkey) Kovács & Trappe).

A *Terfezia spinosa*-t mind morfológiai jellemzők, mind pedig a molekuláris filogenetikai vizsgálatok alapján a *Mattiolomyces* nemzetségbe sorolták, és új kombinációként és tudományra új fajként írták le (*Mattiolomyces spinosus* (Harkn.) Kovács, Trappe & Alsheikh *Mattiolomyces mexicanus* Kovács, Trappe & Alsheikh). Mikroszkopikus jellemzők alapján korábban leírt *Mattiolomyces tiffanyae* fajt a molekuláris filogenetikai elemzések alapján egy tudományra új nemzetséget írtak le és a faj átsorolását is megtették (*Temperantia* K. Hansen, Healy & Kovács, *Temperantia tiffanyae* (Healy) K. Hansen, Healy & Kovács).

A *Molekuláris taxonómiai és filogenetikai módszerek fejlesztése* területén Kovács M. Gábor, aki gombák faj szintű azonosítását lehetővé tevő vonalkód megtalálására alakult konzorcium tagja volt, elévülhetetlen érdemeket szerzett. A rövid, két oldal terjedelmű alfejezetet, korántsem vitatva a gombák DNS-vonalkódja jelentőségét nem külön, hanem beépítve a korábbi fejezetbe mutattam volna be. Hiszen a sivatagi szarvasgombákon végzett taxonómiai munka alapján csatlakoztak a munkacsoporthoz, mely alapján a gombák hivatalos vonalkódjának az nrDNS ITS-szakaszát javasolták. Nem eltitkolva a módszer alkalmazásának korlátait, melyet figyelembe kell venni az eredmények értelmezésekor. Így azt a tényt, hogy az ITS szekvenciák, heterogenitásuk miatt a gombák esetében leginkább nemzetségeken belül, (közel-) rokon fajok filogenetikai elemzésekor használhatók. Ugyanakkor az „indel”-motívumok elemzésbe vonása növeli a filogenetikai eredmények megbízhatóságát - akár a DNS-vonalkód fajazonosítási hatékonyságát is -, melyet 115 gomba nrDNS ITS adatsor újra elemzésével bizonyítottak be.

A **Konklúzió, kitekintés** röviden, 3,5 oldalon foglalja össze a szerteágazó munka eredményeit. A tartalomjegyzékben ettől kissé eltérő címet találunk (Konklúziók, terveink), mely formai eltérés miatt nem veszít az anyag értékéből, de megjegyzem, hogy itt is jó lett volna magyar megfelelőt használni.

Ebben a fejezetben kitekintést találunk, mely számszerűsíthető, összesen 21 új faj 8 nemzetség leírásának összefoglalását. Legfontosabb üzenetként megfogalmazva a többoldalú megközelítés fontosságát a tudományos feltáró munkában, és az eredmények feldolgozásában. Janusz, az ókori világ kétarcú istene, újabb oldalát mutatja. Hiszen Kovács M. Gáborék

munkája alapján is egyértelműen bizonyítást nyert, hogy a molekuláris taxonómiai módszerek korántsem kizárólagos lehetőségek, a morfológiai karakterek vagy éppen ultrastrukturális jellemzők segíthetik a filogenetikai elemzések értelmezését a gombák világában. De ugyanakkor a morfológiai változatosság nem feltétlenül jelenik molekuláris filogenetikai szinten. Ezért nagyon fontos a megfelelő módszerek kiválasztása, és a módszer korlátainak a figyelembe vétele.

Végül a dolgozatban **a legfontosabb eredmények rövid összefoglalása** következik. A fejezet címében szereplő „rövid” kis kicsinyítő szó, ugyanakkor a 13 oldal tömény eredmény újra bebizonyítja milyen hatalmas, és szerteágazó, több hazai és nemzetközi kutatócsoport munkájának összefoglalása a mű, melyben Kovács M. Gábor érdeme elvitathatatlan.

Összefoglalva, a Jelölt eddigi tudományos és oktatói tevékenysége, valamint az MTA Doktora cím elnyerésére benyújtott disszertációja alapján megállapítható, hogy Dr. Kovács M. Gábor méltó az MTA doktori cím elnyerésére. A doktori értekezést nyilvános vitára bocsátását javaslom, sikeres védelem esetén pedig javaslom az MTA doktora cím odaítélését.

Gödöllő, 2018. április 7.



Posta Katalin