

dc_469_12

Akadémiai Doktori Értekezés

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

Posta Katalin

Gödöllő, 2013

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	8
2.1. A mikorrhiza általános jellemzése.....	8
2.2. Az arbuskuláris mikorrhiza (AM) gombák	10
2.2.1. Az AM gombák kialakulása, általános jellemzése.....	10
2.2.2. Az AM szimbiózis kapcsolatrendszerét befolyásoló tényezők	14
2.2.3. Az AM gomba–növény interakció előnyös hatásai	16
2.3. Tápanyag és tápelem hozzáférés mikorrhiza gomba segítségével.....	20
2.3.1. Szervetlen tápelem mobilizálás és felvétel mikorrhiza gombák segítségével.....	20
2.3.2. Az AM szerepe a nitrogén körforgalmában, a nitrogén hatása az AM diverzitásra	22
2.3.3. Szerves makromolekulák mobilizálódása mikorrhiza gombák jelenlétében.....	25
2.4. AM gombák és más talajmikroorganizmusok kapcsolata.....	27
2.4.1. Mikorrhiza gombák és szaprofiton mikroorganizmusok	27
2.4.2. Az AM és a hasznos talajszervezetek kapcsolata	29
2.5. Az AM gombák filogenetikai rendszere, azonosításuk.....	33
2.5.1. Az AM gombák rendszere	33
2.5.2. Az AM gombák izolálása és meghatározása	34
2.6. Termesztési technológiák hatása az AM gomba diverzitásra	38
2.6.1. Szervetlen és szerves tápanyag utánpótlás hatása a mikorrhiza gombák aktivitásra és diverzitásra	39
2.6.2. A talajművelés hatása az AM-diverzitásra	40
2.6.3. Vetésforgó és monokultúra rendszerek hatása a mikorrhiza populációra.....	41
2.6.4. A növényi egyedsűrűség hatása az AM gomba diverzitásra	42
3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	43
3.1. Kísérleti helyek bemutatása.....	43
3.1.1. Martonvásári tartamkísérletek bemutatása.....	43
3.1.1.1. Kukoricaszáras tartamkísérlet kukorica monokultúrában.....	43
3.1.1.2. Trágyázási tartamkísérlet kukorica monokultúrában	44
3.1.1.3. Vetésforgó és monokultúra tartamkísérletek	44
3.1.1.4. Növénytermesztési tényezők hatása a kukorica termésére tartamkísérlet.....	45
3.2. Nehézfém szennyezés hatása az arbuskuláris mikorrhiza gombára	46
3.3. Az ugróvillások és arbuskuláris mikorrhiza gombák kölcsönhatásának vizsgálata.....	46

3.4. Mikorrhiza oltóanyag paprika termés hozamára és a talaj rizoszféra AM közösségére gyakorolt hatásának tesztelése.....	46
3.5. AM gomba oltóanyag tesztelése gyökeres muskátli dugványokon.....	47
3.5.1. AM gomba hatása kiindulási állapotban alkalmazott oltáskor.....	47
3.5.2. Átültetéskor alkalmazott mikorrhiza oltás hatása.....	48
3.6. Mintavételezések.....	49
3.6.1. Mintavételezések a martonvásári tartamkísérletekből.....	49
3.6.1.1. Mintavétel a tápanyag-utánpótlás (kukoricaszár beforgatás és szervesetlen műtrágyázás) AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálatához.....	49
3.6.1.2. Mintavétel a monokultúra és vetésforgó rendszerekből.....	50
3.6.1.3. Mintavétel a növényi egyedsűrűség AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálatához.....	50
3.6.1.4. Mintavételezés a mikorrhiza oltóanyag paprika termés hozamára és a talaj rizoszféra AM közösségére gyakorolt hatásának kísérletéből.....	51
3.7. Klasszikus módszerek a mikorrhiza aktivitás jellemzésére.....	51
3.7.1. AM gomba spóra-izolálás talajból, spóraszám meghatározás.....	51
3.7.2. AM gomba gyökérkolonizáció mértékének meghatározása.....	52
3.7.3. AM gomba hifahosszának meghatározása.....	52
3.8. A baktérium közösség meghatározása klasszikus mikrobiológiai módszerrel.....	52
3.9. A rizoszféra baktérium közösségének PCR-RFLP képének meghatározása.....	53
3.10. Molekuláris módszerek.....	53
3.10.1. DNS izolálás növényi gyökérből, és oltóanyagból.....	53
3.10.2. Nested-PCR a mikorrhiza gombák, PCR a baktérium populáció kimutatására.....	54
3.10.3. DNS fragment izolálás agaróz gélből, ligálás és <i>E. coli</i> plazmid transzformáció.....	55
3.10.4. Plazmid DNS izolálás és DNS nukleotid szekvencia meghatározás.....	56
3.10.5. Plazmid DNS izolálás és RFLP csoportok meghatározása paprika kísérletben.....	56
3.11. Szekvencia-analízis, statisztikai adatelemzés.....	57
4. EREDMÉNYEK.....	59
4.1. Nehézfém stressz hatása az arbuszkuláris mikorrhiza gombákra.....	59
4.2. Arbuszkuláris mikorrhiza gombák és talajlakó Collembolák közötti kapcsolatok.....	60
4.3. Martonvásári tartamkísérletek eredményei.....	66
4.3.1. A tápanyag-utánpótlás AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata kukorica monokultúrában.....	66
4.3.2. A növényi egyedsűrűség AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata.....	76

4.3.3. Monokultúra vetésforgó rendszerekkel történő összehasonlítása.....	83
4.4. Mikorrhiza oltóanyag tesztelése paprika terméshozamára és a talaj rizoszféra AM gomba közösségére	92
4.5. Arbuskuláris mikorrhiza oltóanyag tesztelése gyökeres muskátli dugványokon	95
4.5.1. AM gombák hatása kiinduláskor alkalmazott oltáskor.....	95
4.5.2. AM gombák hatása az átültetéskor alkalmazott oltáskor.....	97
5. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA, JAVASLATOK.....	100
6. ÖSSZEFOGLALÁS	115
7. SUMMARY	117
8. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	119
9. IRODALOMJEGYZÉK.....	121
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	149
11. MELLÉKLETEK.....	150

1. 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 meglévő 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 természetett 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 arbuskuláris mikorrhiza (AM) gombák, amelyek a gazdanövény gyökérszövetének endodermiszébe behatolva jellegzetes képleteket, arbuskulumokat 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 kórokozókkal és kártevőkkel szembeni ellenállóság növelésében is. Számos tanulmány bizonyítja, hogy az eltérő agrotechnikai eljárások befolyásolják a talaj természetes arbuskuláris 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 tartalmazzák 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 arbuskuláris 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 arbuskuláris mikorrhiza aktivitását és oltóanyagként történő felhasználását,
- mennyire befolyásolják a talajlakó ugróvillások az arbuskuláris 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,

dc_469_12

- milyen hatással vannak a szántóföldi mezőgazdasági gyakorlatban alkalmazott módszerek az arbuskuláris 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 gombaközösség összetétele.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A mikorrhiza általános jellemzése

A mikorrhiza szó a görög „mykes”(gomba) és „rhiza” (gyökér) szóösszetételből származik (Frank 1885), jelentése: „gombagyökér”. Mind a mai napig ezt a fogalmat használjuk a növények gyökere és gombák között kialakult speciális szimbiotikus kapcsolatra, bár ismerünk olyan mikorrhizált növényeket is, melyeknek nincs valódi gyökerük (Smith és Read 1997).

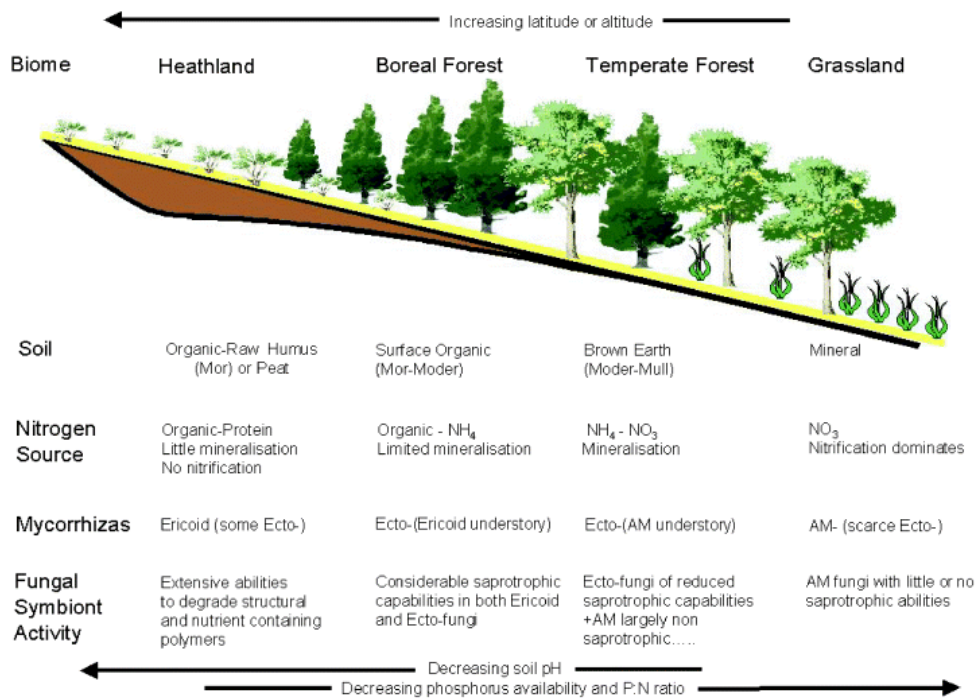
A mikorrhiza gombák valószínűleg szerepet játszottak a növények szárazföldi térhódításában (Pirozynski és Malloch 1975), melyre többek között a ránk maradt ősi fossziliákból is következtethetünk. A legrégebbi leletek közel 460 millió évesek, amelyeken a ma ismert *Glomus* fajok spóráira és gombafonalaira emlékeztető képleteket találtak (Redecker et al. 2000). Ismert még egy Devon-kori *Rhynia* lelet is, ahol a növény rhizoma sejtjeinek citoplazmájában válaszfal nélküli gombatársulás nyomai láthatók, és a gombák által kolonizált sejtekben arbuszkulumok is felsejlenek (Remy et al. 1994).

A mikorrhiza gombák és a növények között kialakuló mutualista szimbiotikus kapcsolat a szárazföldi életközösségekben általánosan elterjedt. A zárvatermő növényfajok 85 %-a, a nyitvatermők 100 %, a harasztok 52 %-a alakít ki mikorrhiza kapcsolatot (Wang és Qui 2006). Bizonyos családokba tartozó növényeknél azonban ez a kapcsoltság nem, vagy csak kis mértékben alakul ki. Így például a vizes élőhelyeken gyakori sásfélék (*Cyperaceae*), szittyófélék (*Juncaceae*) vagy a keresztesvirágúak (*Brassicaceae*), a libatopfélék (*Chenopodiaceae*) és a szegfűfélék (*Caryophyllaceae*) fajai ritkán társulnak mikorrhiza gombákkal. 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).

A szimbiózisban résztvevő partnerek rendszertani helye, a mikorrhiza anatómiai jellemzői és/vagy a kapcsolat minősége alapján kialakuló mikorrhiza-típusok csoportosítása nagy változáson ment át az utóbbi évtizedben. A mezőgazdasági jelentősége miatt kiemelkedő arbuskuláris mikorrhiza (korábbi elnevezése: vezikuláris-arbuskuláris endomikorrhiza) mellett léteznek ekto- és ektendo- (Yu et al. 2001) mikorrhizák, valamint arbutroid,

monotropoid (Smith és Read 1997, Taylor és Bruns 1997), erikoid (Straker 1996) és orchidea mikorrhizák (Rasmussen 2002, Dearnaley 2007).

A mikorrhiza kapcsolatok széles földrajzi elterjedését jelzi, hogy a sarkkörü régiótól a trópusi területekig, száraz és nedves környezetben egyaránt előfordulnak. A minden éghajlati zónában megtalálható mikorrhizák típusainak megjelenése a növényi specifikáción kívül jelentősen függ a talaj tulajdonságaitól, így annak szervesanyag tartalmától és típusától, a közeg pH-jától, nitrogéntartalmától és a talaj P/ N arányától (1. ábra).



1. ábra. Mikorrhiza típusok elterjedése a talaj típusának és nitrogéntartalmának függvényében. (Read és Perez-Morano, 2003)

A szimbiózisban résztvevő gombapartner külső ún. externális micélium hálózata minden típusnál megtalálható, és a mikorrhiza kapcsolat előnyeinek kialakításában központi szerepe van. A gomba, kiterjedt micélium-hálózatán keresztül, megnöveli a növény víz- és ásványianyag-felvételét, cserébe a növény fotoszintetizált termékei közül cukrokat, valamint egyéb szerves anyagokat és az obligát szervezet számára létfontosságú anyagokat kap. A mikorrhizagomba hatással van a növény só-, szárazság- és fémtűrő-képességére, de szerepet játszik a növény kórokozók elleni védekezésében is. Nagyon érdekes, hogy a betegségekkel szembeni megnövekedett tolerancia a mikorrhizált növény gyökerének nem csupán a

gombával kolonizált területén jelentkezik; ez a helyi és általános védelmi rendszer együttes szerepét feltételezi a folyamatban (Cordier et al. 1998, Pozo et al. 2002).

A mikorrhiza kapcsolat több tényezőtől függő kölcsönös tápanyagcserén alapuló egyensúly azonban változhat, és így a szimbiota partnerek közötti kölcsönhatás a mutualizmustól a parazitizmusig tartó széles skálán bárhol megjelenhet (van der Heiden 2002). A kapcsolat erősségére utaló gyökérkolonizáció mértéke ezzel párhuzamosan növekedhet, illetve csökkenhet, s a kapcsolat akár átmeneti visszaesését is okozhat a növény fejlődésében (Francis és Read 1995).

2.2. Az arbuskuláris mikorrhiza (AM) gombák

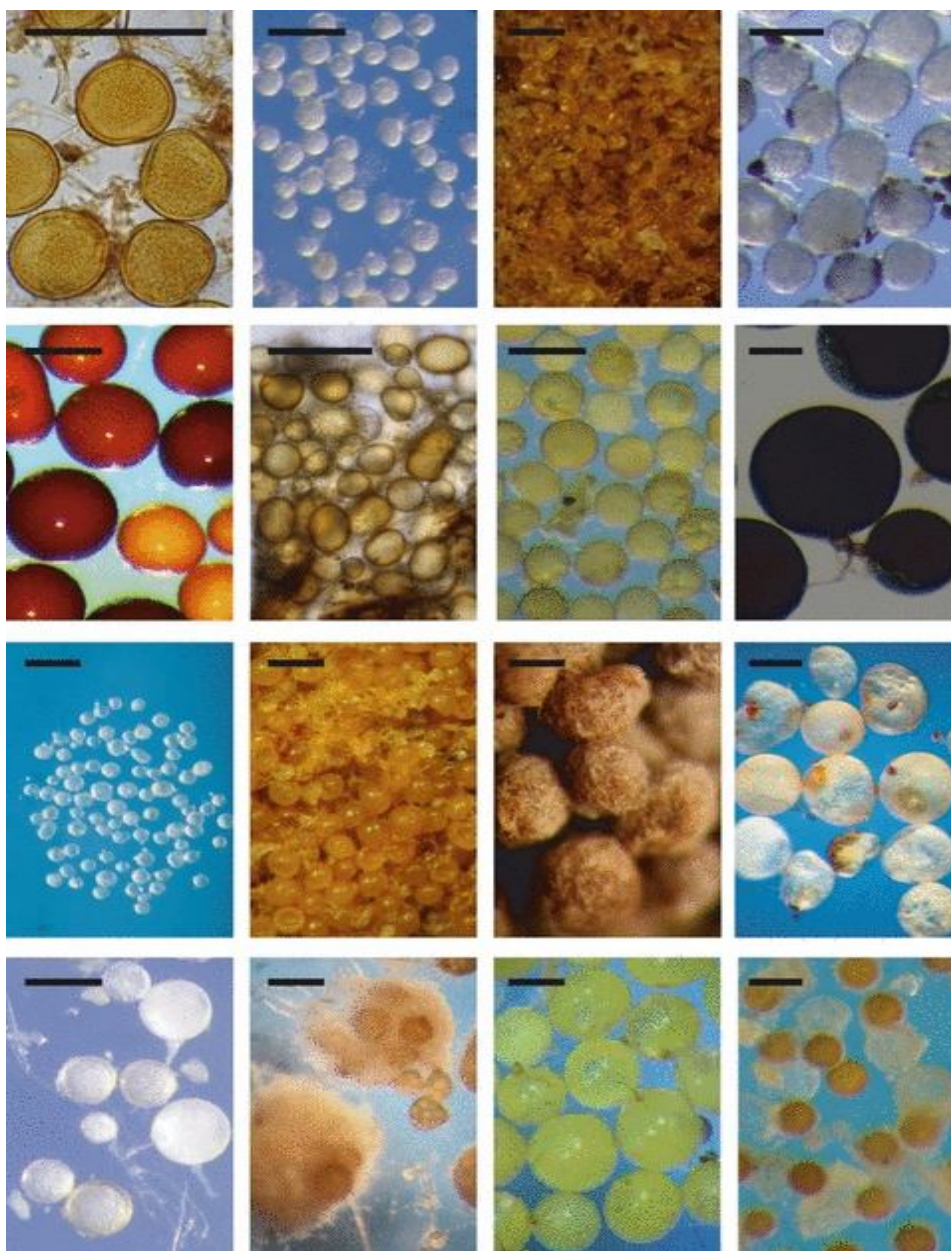
2.2.1. Az AM gombák kialakulása, általános jellemzése

Az arbuskuláris mikorrhiza az egyik legősibb és legelterjedtebb mikorrhiza típus. Az AM gombák a szárazföldi növényfajok 80-90 %-ával képesek szimbiotikus kapcsolatot kialakítani (Smith és Read 2008), mégis az eddig leírt AM gombafajok száma alig több, mint 230. Az arbuskuláris mikorrhiza gombák mikroszkópos méretű, obligát biotróf gombák, és jelen ismereteink szerint kizárólag aszexuális, imperfekt alakjuk van. Az AM gombák leggyakrabban a növényből származó hexózt, pontosabban abból létrejövő glicint használnak szénforrásként (Bago et al. 2002, Solaiman és Saito 1997, Pfeffer et al. 1999).

Az AM gombák talajt behálózó külső, ún. externális hifáinak átlagos átmérője 2-20 μm , vagyis a hajszálgökereknél többnyire vékonyabbak ezek a képletek. Ennek a kis méretnek a talaj tápelemfeltárásában óriási jelentősége van, mert a hifák így képesek a hajszálgökerek által el nem érhető talajszemcsék közé is bejutni. A talajt behálózó hifák össz hosszúsága akár a 40 m-t is elérheti egy gramm talajban (Friese és Allen 1991, Drew et al. 2003), ami még akkor is többszörösére növeli a tápelem felvételére alkalmas felület nagyságát, ha a mikorrhizált növények gyökérszet-tömege csökken a nem mikorrhizáltak gyökérszet-tömegéhez képest.

Az AM gombák fajonként eltérő, viszonylag nagyméretű (30-700 μm átmérőjű), változatos színű és sejtfal-felépítésű, vegetatív úton keletkező – újabban glomerospóráknak is nevezett (Goto és Maia 2006) – klamidospórákkal szaporodnak, melyek a gyökérben és/vagy a gyökerekből talajba ágazó sok magvú, szeptum nélküli hifákon képződnek egyesével, csoportosan vagy sporokarpiumot képezve (2. ábra). A mikorrhizaspórák morfológiai

sajátosságai kezdetben egyedüli határozó kulcsként szerepeltek a mikorrhizák azonosításában, ezt a módszert azonban napjainkban felváltotta a molekuláris, PCR-alapú fajmeghatározás.

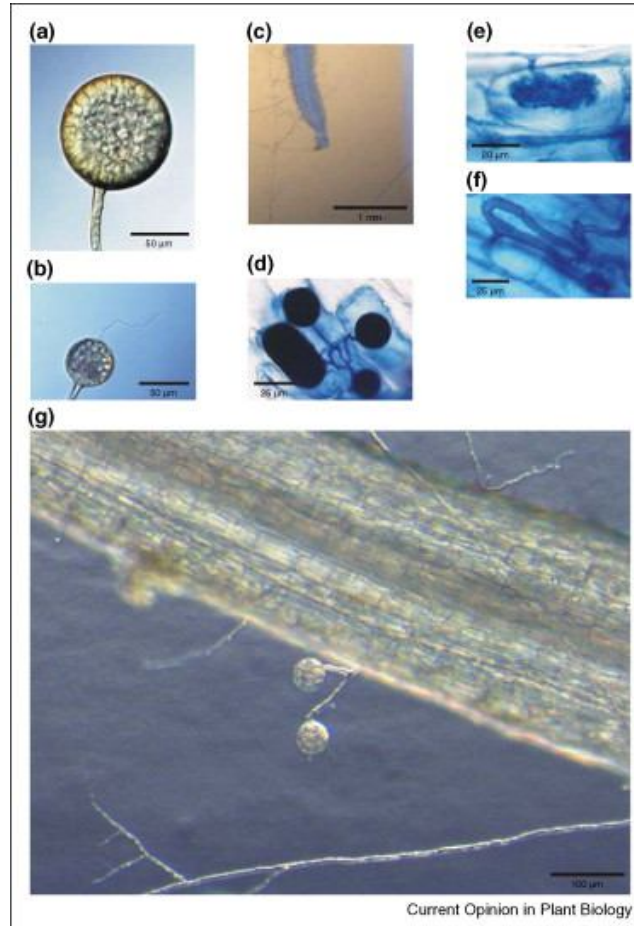


2. ábra. Glomeromycota génuszok jellemző spórái.

1 sor: *Glomus*, *Archaeospora*, *Redeckera*, *Pacispora*; 2 sor: *Acaulospora*, *Rhizophagus*, *Claroideoglossum*, *Racocetra*; 3 sor: *Paraglossum*, *Diversispora*, *Sclerocystis*, *Scutellospora*; 4 sor: *Ambispora*, *Funneliformis*, *Gigaspora*, *Entrophospora* (Young 2012).

Az AM gombák viszonylag vastag falú, ellenálló spórái a talajban eltérő mennyiségben találhatóak, számuk a talaj típusától függően 1-2 db-tól egészen 200-ig terjedhet a talaj 1 grammjában (Abbott és Robson 1977).

A spórák csírázása a talajban a gazdanövény jelenléte nélkül is megindulhat, ahhoz azonban, hogy teljes életciklusukat végigjárják (3. ábra), a növénypartner jelenléte a továbbiakban nélkülözhetetlen (Parniske 2008).



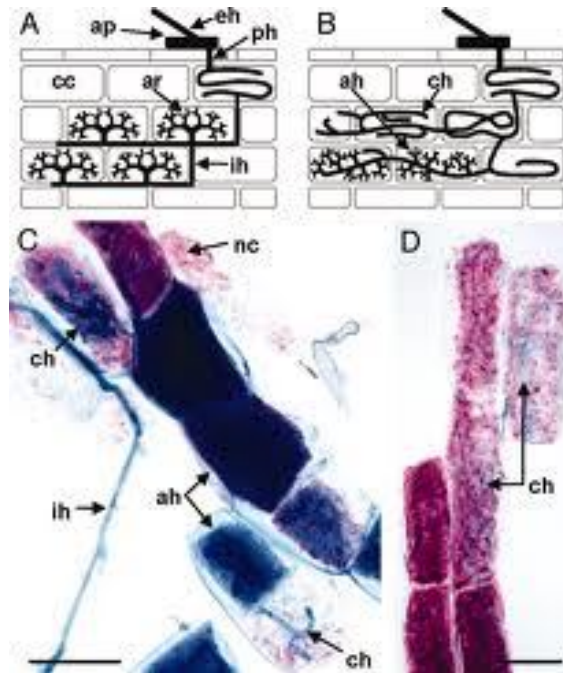
3. ábra. Arbuskuláris mikorrhiza gomba életciklusa

- (a) csírázó spóra, (b) preszimbiotikus növekedése a hifának a gyökér felé, (c) növény érzékelése és hifopódium képződése, (d) vezikulum, (e) arbuskulum, (f) internális hifa hurok, (g) külső, externális hifa képződése spórával (Bucher et al. 2009)

A talajban lévő spórák csírázását és a hifák növekedését a növényi gyökérváladékban megtalálható anyagok, köztük a strigolaktonok aktivizálják (Akiyama et al. 2005, Besserer et al. 2006). A strigolaktonok olyan új típusú növényi hormonok közé tartoznak, melyek az arbuskuláris mikorrhiza gomba kezdeti fázisában, a spóra csírázását stimulálják. Ezzel együtt a gomba által kibocsátott jelmolekula, a Myc faktor hatására a szimbiózis program kialakításáért felelős gének (Kosuta et al. 2003) aktiválódnak a növényben. A Myc faktor, hasonlóan a rhizóbiumok és a pillangósvirágú növények közötti szimbiózis kialakulásáért szerepet játszó Nod faktorhoz, szintén egy oligoszacharid jelmolekula (Maillet et al. 2011). A

kémiai és fizikai ingerek hatására a gyökér sejtjei ún. pre-penetrációs állapotba kerülnek, majd a gyökér felületén megtapadó gomba hifák apresszóriumot képeznek és behatolnak a gyökérbe. A gazdanövény gyökérszövetének kéregsejtjei közötti járatokban és sejtek membránjának betüremkedésével a sejtekbe is behatolva internális hifákként jellegzetes képleteket, arbuszkulumokat és – a *Gigasporaceae*, *Paraglomeraceae* családok kivételével – vezikulumokat hoznak létre. Az arbuszkulumok rövid élettartamú hifa elágazások, melyek óriási felületet képezve biztosítják a növény és a gomba közti tápanyagcserét. A szimbiózisnak ebben a fázisában lipofil természetű szignál molekulák aktivizálják a növényi foszfát transzporter géneket, melyek a mikorrhiza ún. kései fázisában biztosítják a kolonizáció segítségével megnövekedett ortofoszfátokból a foszfor továbbítását a növényhez (Bucher et al. 2009). A növényi eredetű periarbuszkuláris membrán, a gomba membránja és a közöttük létrejövő periarbuszkuláris tér együttesen képezi az ún. „*interface*”-t, amely tulajdonképpen a tápanyagok és víz átadásának a helyszíne (Harrison 2005). A vezikulumok a hifák hólyagszerű kiszélesedései a kéregsejtekben vagy a sejtközötti járatokban; ezek a képletek lipideket és glikogént raktároznak.

Az AM gombák a gyökéren belüli mintázatuk alapján két csoportra oszthatók (4. ábra). Az *Arum* típusú kolonizáció során a gomba intercelluláris hifái a gyökér kéregsejtjei között haladnak, melyekről az arbuszkulumok és a vezikulumok vékonyabb oldalelágazásokon keresztül hatolnak be a sejtekbe, míg a *Paris* típusú növekedés során sejtről-sejtre történő, intracelluláris hifanövekedés és *coil*-ok (hurkok) képződése figyelhető meg (Smith és Smith 1997).



4. ábra. Arum (A, C) és Paris (B, D) típusú arbuskuláris mikorrhizák festett preparátum(C,D) és sematikus képe (A,B) (Karandashov et al. 2004)

Az AM gombák aszexuális szaporodás ellenére is, ugyanazon gombasejt genetikailag eltérő sejtmagokat tartalmazhat (heterokariózis), ez az állapot mutációk révén vagy a hifák összeolvadásának (anasztomózisának) a következtében alakul ki. Néhány éve még azt gondolták, hogy az anasztomózis csak ugyanazon gomba izolátumok között jöhet létre (Giovannetti et al. 2004), Croll et al. (2009) azonban *G. intraradices* hifáinál kimutatták, hogy azonos faj, különböző izolátumai között is megtörténhet a hifák összeolvadása és a genetikai információ kicserélődése.

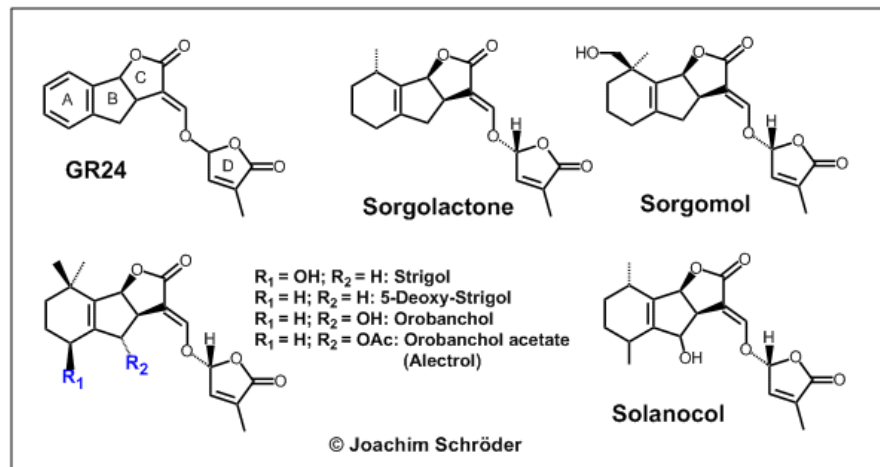
A különböző AM gombafajok genom mérete jelentősen eltér egymástól (Bianciotto és Bonfante 1992, Hosny et al. 1998), bár mind a mai napig kevés faj genom mérete ismert. A *Glomus intraradices* 2004-ben becsült genom méretéről (Hijri és Sanders 2004) is bebizonyosodott, hogy akár tízszer nagyobb lehet a korábban feltételezett ~16,54 Mb-nál (Martin et al. 2008).

2.2.2. Az AM szimbiózis kapcsolatrendszerét befolyásoló tényezők

A mikorrhizagombák jelentőségét mutatja az a tény is, hogy a talaj mikrobiális biomaszájának közel 5-10 %-át teszik ki (Fitter et al. 2011). Az arbuskuláris mikorrhiza szimbiózis kialakításában résztvevő növénypartner száma legalább 1000-szerese a már ismert

AM gomba partnereknek, így a 10^5 nagyságrendben lévő gazdanövénykörhöz száz-as nagyságrendű AM gombafaj rendelhető (Hodge et al. 2010). Mindemellett bizonyítást nyert az is, hogy egy növényfajt több gomba is képes akár egyidőben kolonizálni.

Az arbuszkuláris mikorrhiza kialakulása nem növényfaj specifikus, de egyre több adat van arra vonatkozóan, hogy a gazdanövény a gombapartner szimbiotikus hatékonysága szempontjából szelektál a környezetében megtalálható AM gombák között (Helgason et al. 2007, Kliromonas et al. 2003). Ennek egyik közvetett bizonyítéka a szezonális vizsgálatoknál gyakran tapasztalható nagyobb AM gomba diverzitás a vegetációs időszak kezdetén, mely később csökken, néhány faj dominanciáját mutatva. A folyamat elemeinek, dinamikájának pontos feltárása még nem történt meg, az azonban biztos, hogy a szimbiózis kialakulásának első lépése a felismerési folyamat, melyet molekuláris szignálok befolyásolnak, indítanak be. Mint ahogyan már a 2.2.1 pontban elemeztük, a szimbiózis kialakulásának első lépésében a gazdanövény által képzett hormonnak, a strigolaktonnak kitüntetett szerepe van. Ezen növényi hormon analógjait már szintetikusán is előállítják (5. ábra), hogy a mikorrhiza kialakulását, a kolonizáció erősségét fokozzák.



5. ábra. Strigolakton típusok és analógja GR24

(http://www.biologie.uni-freiburg.de/data/bio2/schroeder/Sorgoleone_de.html)

Ezek a szignál molekulák a természetben - néhány kivételtől eltekintve- általánosak, így megtaláljuk őket más szimbiotikus (pillangósvirágúak-Rhizobium) illetve parazita (Striga és gazdája) kapcsolatokban is. Ugyanakkor az is ismert, hogy ez a felismerési pont könnyen becsapható, a szignál molekulák megjelennek, de nem jár előnnyel a kapcsolat kialakulása. Az a tény azonban, hogy a mikorrhiza kapcsolat több mint 400 millió éve fennmaradt, jelzi ellenállását ezekkel a félrevezető mechanizmusokkal szemben. A növény szabályozó rendszert is működtet ennek biztosítására. Ilyen szabályozó elem például a tápelem-áramlás

befolyásolása: a növény csak akkor szállít C-forrást az AM gombának - ami a gomba obligát jellegénél fogva elengedhetetlenül fontos -, ha N- és P-áramlás történik irányába (Helgason és Fitter 2009). Mindez azonban több lépcsőn keresztül érvényesül. Feltételezések szerint a mikorrhiza gomba kolonizációja a kolonizált területen csökkenti a gyökérben a rendelkezésre álló szén-forrás koncentrációját. A növény próbálja ezt pótolni, feltételezve hogy a gyökér növekedése miatt van erre szükség, és megindítja a fokozott C áramlást a gyökerek felé. Közben az externális hifa segítségével meginduló foszfor és/vagy nitrogén felvétel az arbuskulomok membránján keresztül a növény felé áramlik, megnövelve a gyökérben a foszfát, illetve ammónium ionok koncentrációja. A gyökér nem tudja megállapítani, hogy a foszfát és ammónium ion-koncentráció növekedése a saját gyökérszövetének növekedése vagy más ok miatt következett be, ezért automatikusan hexózt transzportál arra a helyre, ahol ezt a növekedést észleli, biztosítva a gyökér és ezzel együtt a mikorrhiza gomba energia ellátást. Smith et al. (2009) szerint ez egy leegyszerűsített modell, és a mikorrhiza által előidézett növekedésbeli csökkenés nem magyarázható így. A szén, és energia transzport nem lehet egyedüli kulcsa és szabályozója ennek a folyamatnak, ezért többen a növény invertáz-aktivitásának befolyásoló szerepét is feltételezik (Robinson és Fitter 1999, Whitfield 2007). Mindemellett az is gyakori, hogy az arbuskuláris mikorrhiza gomba (AMF) képes a foszforfelvétel elősegítésére a hajtás és gyökér növekedésének fokozódása nélkül is.

Nagyon nehéz a valóságot teljesen megközelítő rendszert alkotni, hiszen a vizsgálatok általában *in-vitro*, egy növény és egy gomba vonatkozásában történtek. A valóságban azonban a növények egy már kiépült externális micélium hálózatot találnak, melyhez csatlakozva nem jelent nagy plusz terhet egy „új tag” belépése, hiszen az externális hálózat több növényvel létesít kapcsolatot. Így a mikorrhizált gyökerekkel átjárt talaj egy egységes anyagfelvevő rendszert képez, amely biztosítja az életközösség tagjai számára az egyenletes és optimális tápanyagfelvételt. Ez az ún. „közösségi micélium-hálózat” („common mycelial network” Selosse et al. 2006), illetve ennek erdei ökoszisztémákban megjelenő változata az ún. „wood-wide web” (Helgason et al. 1998).

2.2.3. Az AM gomba–növény interakció előnyös hatásai

Az arbuskuláris mikorrhiza gombák gazdanövényre gyakorolt pozitív hatásairól, azok jelentőségéről egyre több publikáció lát napvilágot. A mikorrhiza gombáknak a talaj mikrobiális összetételére (van der Heiden et al. 2006, Marschner et al. 2001, Vestergard et al.

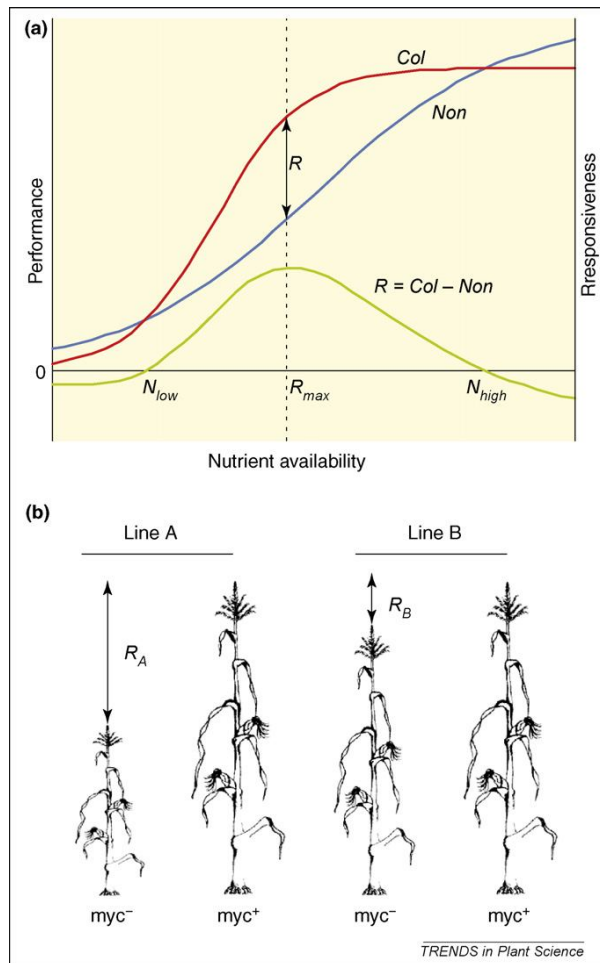
2008), a talaj struktúrájára (Bedini et al. 2009), a gyom populációra (Rinaudo et al. 2010), a főbb elemek körforgalmára (Fitter et al. 2011), és a heves esőzések utáni tápelem veszteségekre (van der Heiden és Horton 2009) vonatkozóan is egyre több adattal rendelkezünk. Így például egy még kevésbé tanulmányozott jelenségnél Rinaudo et al. (2010) bebizonyították, hogy az agresszív gyomfajnak számító *Chenopodium album* és *Echinocloa crus-galli* növekedése AMF jelenlétében gátlódik. Ebben a folyamatban közvetlen és közvetett hatások egyaránt szerepet játszanak. Így a mikorrhiza által indukált növényi védelmi rendszer beindítása, toxikus anyagok termelése (Francis és Read 1994, 1995).

Az AM gombának a tápelem és víz felvételére gyakorolt kedvező hatása már sokkal ismertebb jelenség. Ezekben a folyamatokban a mikorrhiza gomba kiterjedt externális hifa hálózatának (Smith és Read 1997) van nagy szerepe, mely a növényi gyökér számára egyébként elérhetetlen tápanyag és víz felvételére is képes. Az AM gomba hifái által képzett poliszacharid tartalmú glomalin fokozza a talaj aggregációját, ezáltal befolyásolja a talaj szerkezetét, szervesanyag tartalmát, és a talaj vízmegkötő és víztartó képességét is (Rillig et al. 2002).

Mindemellett a légkör CO_2 tartalmának a növekedése közvetett úton ugyan, de fokozza a mikorrhiza hifa növekedését (Treseder, 2004), mely további CO_2 megkötést indukál, és így a légkör széndioxid koncentrációjának csökkentése okán is jelentős tényezőnek számít a mikorrhiza kapcsolat.

Az AM gombák előnyös hatása a gazdanövény növekedésére elsősorban a kevésbé mobilis foszfor (PO_4^{3-}), valamint a nitrogén (NH_4^+ és NO_3^-) felvételének fokozása révén valósul meg (Gildon és Tinker 1983, Smith és Read 1997, Bago et al. 2001). A mikorrhiza gombáknak a nitrogén és foszfor mobilizálásával és felvételével kapcsolatos hatását külön fejezetben részletezem (2.3.1 és 2.3.2).

Sawers et al. (2008) jól összefoglalják a közeg tápelem tartalma és a mikorrhiza függőség kapcsolatát (6. ábra).



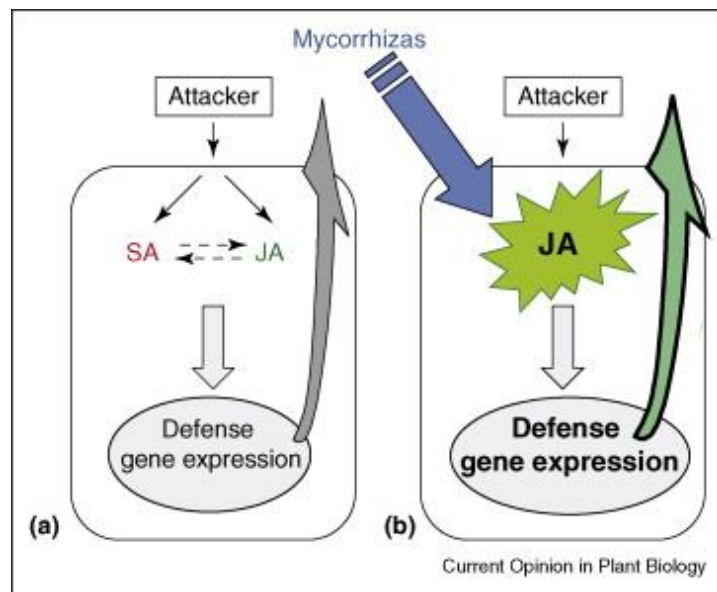
6. ábra. Mikorrhiza függőség mértékének változása a közeg tápelemtartalmától.
(Sawers et al. 2008)

Jelölések: Col, myc^+ : mikorrhizált növény; Non, myc^- : nem mikorrhizált növény; R: mikorrhiza hatása.; Line A: tápelem hiányos közeg; Line B: tápelemben gazdag közeg

A mikorrhizáltság közepes tápelem ellátottságú talajban biztosítja a legtöbb előnyt a növénynek. Kis tápelemtartalmú közegben növekedésbeli csökkenés is jelentkezhet, mivel a tápelemek nem képesek mindkét fél igényét fedezni, így a gomba és a növény verseng a tápelemekért.

A növény fémtűrő képességének fokozásában a gomba metallothioneinjei mellett a mikorrhiza gomba externális micéliumának nagy fémkötő képessége is szerepet játszik (Joner et al. 2000), mely a toxikus fémnek növénybe történő bejutását gátolja (Tonin et al. 2001). Az AM gombafajok nehézfém tűrőképessége nagyon eltérő, s a tolerancia-szinteket a szennyezőanyag minősége és koncentrációja is jelentős mértékben befolyásolja (Jacquot et al. 2000, Del Val et al. 1999).

A mikorrhizált növény ellenállóbb a szárazság, a tápanyaghiány és a nehézfém okozta stresszel szemben, és az is bizonyított, hogy egyes – a *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora*, *Pythium* és *Aphanomyces* nemzetségbe tartozó – gyökérgombák előfordulása és kártétele is csökken (Cordier et al. 1998, Pozo et al. 2002) mikorrhiza gomba jelenlétében. Ennek egyik oka, hogy a mikorrhizált növény a jobb tápanyag ellátottságának köszönhetően ellenállóbb, illetve könnyebben képes az általuk okozott kártételt kompenzálni. A mikorrhizált növény kórokozókval és kártevőkkel szembeni ellenállóságának közvetlen kiváltója az, hogy az AM gombák rezisztenciát indukálnak a növényben; ezt az ellenállóságot mikorrhiza indukált rezisztenciának (MIR) nevezik (Pozo és Azcón-Aguilar 2007).



7. ábra. Mikorrhiza indukált rezisztencia kialakulása (Pozo and Azcón-Aguilar 2007)

Hasonlóan egy biotróf kórokozó megjelenéséhez, az AM gombák is szalicilsav szint növekedését indukálják a növényben (7. ábra). Szemben a biotróf kórokozók által előidézett helyzettel, a mikorrhizált gyökerek belsőbb rétegeiben a szalicilsav szint nem emelkedik, hanem csökken, az arbuszkulumokat tartalmazó növényi sejtek jázmonsav képződése pedig fokozódik. Ezzel együtt gyakran észlelhető kallóz lerakódás, valamint olyan lokális rezisztencia, amelyet petespórás gombákkal (*Oomycetes*) fertőzött vagy gyökérrágó rovarok által megtámadott növényekben tapasztaltak. A helyi rezisztencia kiváltásán túl a növény gyorsabban és hatékonyabban reagál a patogén szervezetek támadásaira, mivel a mikorrhiza a növény védekező mechanizmusának „kiélesítése” révén egy energetikailag kedvezőbb, jázmonsav-függő védekezési útvonalat indukál a növényben (7. ábra).

A helyi és a szisztemikus mechanizmus révén az AM gombák közvetlen hatással vannak a talajban élő növénypatogének, nematódák és gyökérrágó rovarok előfordulására, közvetett hatással pedig a nekrotróf patogénekre és a generalista rágó rovarokra is. Az AM gomba izolátumok között a rezisztencia növelésére való képesség különböző – ezt a környezeti tényezők is jelentősen befolyásolják (Pozo és Azcón-Aguilar 2007).

Az eddig már ismertetett előnyös hatások mellett meg kell említeni a mikorrhizának a növényi diverzitásra és produktivitásra kifejtett hatását is, mely a földi ökoszisztémában betöltött nélkülözhetetlen szerepüket megkérdőjelezhetetlenné teszi (van der Heijden et al. 1998b, Kernaghan 2005).

2.3. Tápanyag és tápelem hozzáférés mikorrhiza gomba segítségével

2.3.1. Szervetlen tápelem mobilizálás és felvétel mikorrhiza gombák segítségével

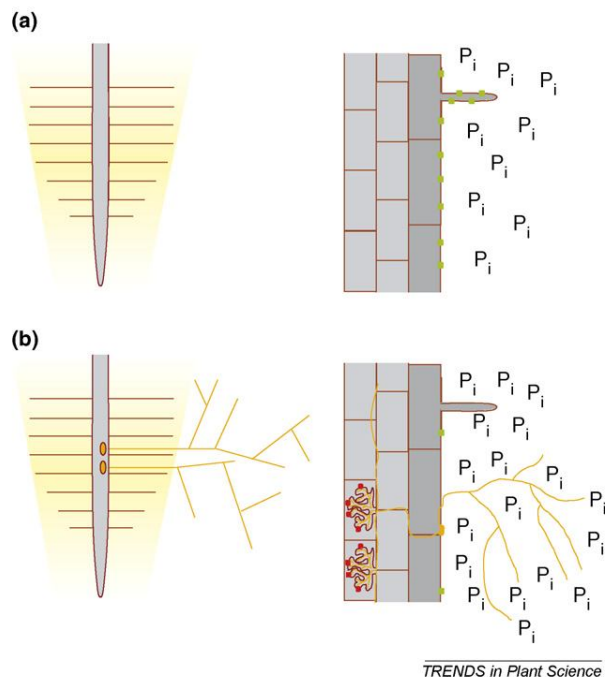
A mikorrhiza kapcsolat elsősorban a kevésbé mobilis foszfor, valamint a nitrogén felvételében játszik szerepet, de a Zn és bizonyos mértékig a K, Ca, Mg (Clark és Zeto 2000) valamint Mn (Posta et al. 1994) felvételéhez is hozzájárul.

A mikorrhiza által befolyásolt foszfor felvétele a leginkább tanulmányozott folyamatok közé tartozik; az így felvett P mennyisége elérheti az össz-foszfor mennyiségének a 80-100%-át is (Smith et al. 2003). A több elemből felépülő folyamatban szerepet játszik a mikorrhiza direkt és indirekt hatása egyaránt. Közvetlen hatásként az externális hifa által biztosított megnövelt felületet, a hajszálgökökernél kisebb méretet, illetve a mikorrhizált és nem mikorrhizált gyökér részek közötti fiziológiai eltéréseket kell figyelembe venni. Ide tartoznak még a szerves foszforvegyületek mobilizálásában résztvevő, az externális hifa által képzett foszfatázok. Indirekt hatásként jelentkeznek a mikorrhiza által előidézett fiziológiai és funkcionális változások a növényben illetve a rizoszférában indukált mikrobiológiai változások sora.

A nem mikorrhizált gyökerekben a foszfát felvétele (8.a ábra) a növény hajszálgököreinek külső membránjában elhelyezkedő foszfát transzporterek segítségével történik. Mikorrhizált gyökerek (8.b ábra) externális hifákon át történő foszfát felvétele után az ionok az arbuszkulumokhoz szállítódnak, ahol a periarbuszkuláris membránban lévő foszfát transzporterek biztosítják annak továbbítását (Sawers et al. 2008). A gombában a foszfor már polifoszfat formában transzportálódik és az internális hifa speciális részén újra

hidrolizálódik. Erre utal az a tény is, hogy a kolonizáció növekedésével nő a polifoszfát mennyisége a gyökérben (Ohtomo és Saito 2005).

A mikorrhiza kolonizációt követően a hajszálgökerek foszfát transzporterjeinek aktivitása gátlódik, és így a foszforfelvétel döntő részben az externális hifák segítségével történik. Egyre több adat van arra vonatkozóan, hogy a gazdanövény képes szabályozni a kolonizációt egyrészt az asszimilátumok gombához történő szállításával (Javot et al. 2007), szignál vegyületek segítségével és a növényi hormonok termelődésére gyakorolt befolyásolásával.



8. ábra. Normál (a) és mikorrhizált (b) gyökér foszfor felvétele (Sawers et al. 2008)

A mikorrhiza gombától a növény felé történő foszfor-áramlás kevésbé ismert jelenség. Az arbuszkulumon írták le először, de a Paris-típusú coil hifarészen is megfigyelték már (Karandashov et al. 2004). Érdekes megfigyelés, hogy bár a mikorrhiza megjelenése gátolja a gyökér foszfát transzporterjeinek aktivitását, az ilyen transzporterek egyik altípusa éppen a kolonizáció után lép működésbe (Javot et al. 2007). Feltételezhető, hogy a mikorrhiza indukálja e transzport-fehérjék működésének beindulását. A szabályozás pontos mechanizmusa nem ismert, az azonban valószínű, hogy a növény foszfor felvétele szabályozza a szimbiotikus úton történő foszfor felvételt (Smith et al. 2004, 2009).

A foszfor felvétel általánosan érvényes szabályai mellett különbség figyelhető meg az eltérő mikorrhiza gomba fajok foszfor felvétele között: a jelenség funkcionális diverzitásként

ismert. Így például eltérés van az AM fajok tápelemfeltáró képességében: a *Scutellospora* sp. a gyökérhez közelebbi régiók, míg a *G. caledonium* távolabbi területek foszfor feltárására is képesek (Smith et al. 2003). A *G. mosseae* és *G. intraradices* a gyökértől 15 cm, ugyanakkor *G. claroideum* csak 6 cm távolságra lévő területig képes a foszfor felvételére (Jansa et al. 2002a, 2005). Mindemellett a *G. intraradices* hifái egységnyi felületre kivetítve nagyobb mennyiségű foszfát felvételt biztosítanak, mint a *G. mosseae* hifái (Jansa et al. 2005).

Az arbuskuláris mikorrhiza gombák által kialakított szimbiózis aktivitását jelző gyökérkolonizáció mértékében is jelentős faji eltérések figyelhetők meg. A *G. mosseae* kolonizál a legagresszívebben, ezt követi a *G. intraradices* kolonizációs erélye, míg a legkevésbé agresszív a *G. claroideum* (Jansa et al. 2008). Érdekes azonban, hogy a kolonizációban mérhető különbségek csak az első hetekben jelentkeztek, és végül kiegyenlítődték.

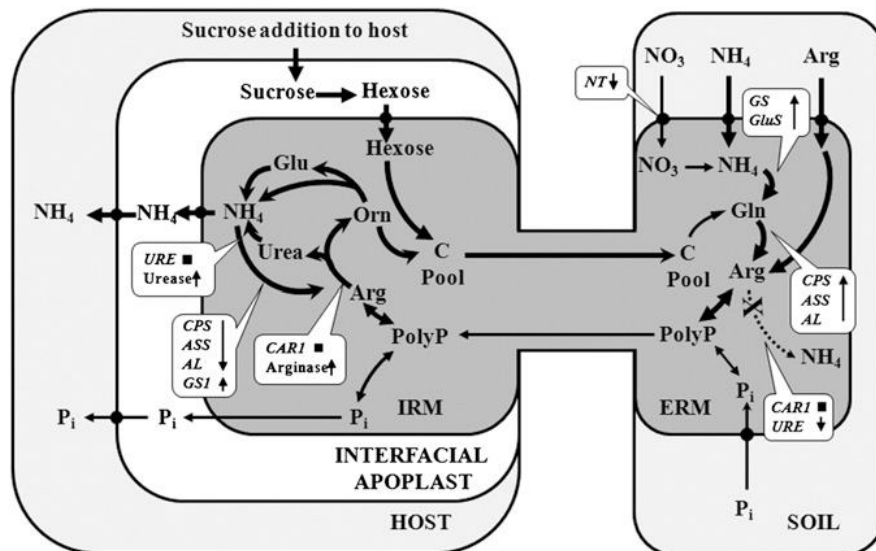
2.3.2. Az AM szerepe a nitrogén körforgalmában, a nitrogén hatása az AM diverzitásra

Legújabban Veresoglou et al. (2012) foglalta össze az arbuskuláris mikorrhiza gombák nitrogén körforgalmában játszott szerepére vonatkozó ismereteket. A kapcsolatot öt területen vizsgálták: (i) a rendelkezésre álló szubsztrát oldaláról, (ii) a talaj abiotikus tényezőinek a megváltoztatásán keresztül, (iii) mikrobiológiai oldalról, (iv) a gazdanövény és (v) magasabb szinten, a növényi diverzitás vonatkozásában, kihangsúlyozva az AM gomba hatását.

Az arbuskuláris mikorrhizának a nitrogén felvételben és továbbításban játszott szerepéről ellentmondásos eredmények állnak rendelkezésre. Ennek fő oka az, hogy a nitrát- és ammónium- ionok mobilitása viszonylag nagyobb, mint a foszfát ionoké, vagyis ezek felvétele mikorrhiza gombák nélkül is hatékony lehet (Tinker-Nye 2000). Bár az endomikorrhiza gombáknak a N-felvételében illetve a nitrogénnek a növényhez történő továbbításában játszott hatása közvetett úton jól észlelhető (Read és Perez-Moreno 2003), sokan ezt a szerepet elhanyagolhatónak tartják. Read 1991-ben megjelent munkájáig egyáltalán nem tekintették jelentősnek a mikorrhiza gombák szerepét a N feltárásban, és még ma is ellentmondásos beszámolók jelennek meg az AM gombák hifáinak N felvételéről (Whiteside et al. 2009, Hodge 2003). Leigh et al. (2009) eredményei szerint a növény nitrogénszükségletének közel egyötödét veszi fel a gombahifák segítségével, ha a nitrogénforrás szerves eredetű. Ma már ismert, hogy a mikorrhiza gomba egyaránt képes

NH_4^+ (Read és Perez Moreno 2003) és NO_3^- (Jin et al. 2005) valamint néhány szerves aminosav (Hawkins et al. 2000) felvételére, bár ezek a szimbionták az ammónium-ion formában levő N transzportját végzik a leghatékonyabban (Tanaka és Yano 2005). Ennek az az oka, hogy energetikailag kedvezőbb az NH_4^+ -hasznosítás; a nitrát iont ugyanis előbb ammóniává kell redukálni, mert csak ez a redukált forma építhető be aminosavakba (9. ábra). Minderre közvetett bizonyítékok is vannak: a növényi ammónium transzporter (AMT) mikorrhiza specifikus, és a mikorrhiza arbuszkulumban képződik nagy mennyiségben (Guether et al. 2009).

Hoeksema et al. (2010) multifaktoriális statisztikai módszert használva 1852 publikáció alapján keresett választ arra, milyen szerepet játszik a talaj nitrogéntartalma a mikorrhiza kialakulásában, s arra a következtetésre jutottak, hogy természetes rendszerekben a nitrogén nem befolyásolja lényeges mértékben a mikorrhizáltságot. Később bebizonyosodott, hogy a szén, nitrogén és foszfor ellátottságot egyaránt figyelembe véve juthatunk csak el, egy pontosabb modell megalkotásához.



9. ábra. N-transzport a mikorrhiza szimbiózisban.
(Fellbaum et al. 2012)

Ezen tényezők együttes figyelembe vételével már könnyebben értelmezhető a jó nitrogén ellátottságú talajban megjelenő, a foszfor trágyázás mértékétől függetlenül gyakran jelentkező kismértékű mikorrhiza függőség.

A mikorrhiza által biztosított előny akkor a legnagyobb, ha P-hiány és normális N-állapot van jelen a talajban. A megfelelő méretű fotoszintetizáló növényfelület biztosítása

ugyanis többlet nitrogént igényel. Ezután következhet csak az asszimilátumok növekedése, mely az obligát szimbionta gombapartner energiáját is képes fedezi. Kisebb mértékű előny származik a mikorrhizáltságból, ha se a nitrogénszint, se a foszforszint nem limitált. Ekkor a növény csökkenti a gyökérbe történő asszimilátum-áramlást, s egyben csökken a mikorrhiza függősége is. A N/P arány növelése eredményezi újra a mikorrhiza kapcsolat mértékének a növekedését. Gyakorlati következménye mindennek az, hogy a C4 típusú növények nagyobb mikorrhiza függőséget mutatnak, mint a C3 illetve szimbionta N-kötő mikroorganizmusokkal társult növények, melyeknek a baktérium-partnerei többé-kevésbé biztosítják a N ellátást.

A N-input általában magas a szántóföldi növénytermesztésben, mely elérheti akár a 80 Tg N évenként az egész agro ökoszisztémára vonatkoztatva (Fixen és West 2002). A szerves és szervesetlen trágyázás terméshozam növekedést eredményez, de mindez általában csökkenti a növényi (Gough et al. 2000), illetve mikroorganizmus diverzitást (Nakano et al. 2001). A talaj magasabb nitrogén szintjének az arbuskuláris mikorrhiza diverzitásra és mikorrhiza aktivitásra gyakorolt negatív hatásáról már több kutató is beszámolt (Cordiki et al. 2002, Treseder 2004). Treseder 17 mikorrhiza gombatörzset vizsgálva azt tapasztalta, hogy a közeg nitrogénkoncentrációjának növelése 15 %-os diverzitás csökkenést okozott. Ismerünk ezzel ellentétes eredményeket is, így például Dhillion és Ampornpan (1992) az AM kolonizáció növekedését tapasztalta nitrogén trágyázás hatására. Tu et al. (2006) több részre osztott edényben, alacsony N-tartalmú talajban végzett vizsgálataiban kétséget kizáróan megállapította, hogy kis nitrogéntartalmú talajban a hajtás növekedése limitált, N-pótlással a növekedés gyorsul, ezzel együtt az asszimilátumok mennyisége a gyökérben is nő, ami kedvez a mikorrhiza növekedésének is (Hawkins és George 1999). Ha nem limitált a nitrogén a talajban, akkor a gyökérbe jutó asszimilátum mennyisége nem fog nőni, így csökkenhet az AM externális hifa növekedése is. Vagyis nitrogéntrágyázással, a közegtől függően, növelhető a hifa növekedése, ami elősegítheti a hifa környezetében élő mikroorganizmusok, köztük a szaprofiton mikroorganizmusok növekedését, a mikrobiológiai folyamatoknak a felgyorsítását (ennek jelentőségét lásd a következő fejezetben). Tu és munkatársainak munkája azért is jelentős, mivel megállapításaik nem csak egy, hanem több AM faj vizsgálatára is kiterjednek, és azt is hangsúlyozzák, hogy ezek a folyamatok leginkább több faj együttes jelenlétekor jelentkeznek. Vagyis a korábbi, csak egy-egy fajt tartalmazó kísérletek eredményeinek a magyarázatát óvatosan kell kezelni. Továbbá rávilágítanak arra is, hogy gyenge foszfor ellátottságú talajban a N input növelésével közvetett módon, de megnöveljük a szerves anyag lebontást a talajban. Az externális hifa növekedésével ugyanis nő az extracelluláris enzimek termelődésének a lehetősége, AM gombáknál pedig a velük együtt élő szaprofitonok száma is.

Mindez arra a fontos tényre hívja fel a figyelmet, hogy a mikorrhiza a talaj nitrogén tartalmától függően vesz részt az ökoszisztéma C-körforgalmának kiegyenlítésében.

2.3.3. Szerves makromolekulák mobilizálódása mikorrhiza gombák jelenlétében

A talaj szervesanyag tartalmának bontása két részből áll: (i) a szerves polimerek monomerré történő alakítása extracelluláris enzimek segítségével (ii) a monomerek metabolizmusa mikroorganizmusok által, mely CO₂ képződésével jár. Mikorrhiza gombák közül csak az erikoid és ekto mikorrhizák rendelkeznek a makromolekulák extracelluláris bontására képes enzimekkel. Mindebből az is következik, hogy a szerves polimer molekulák mikorrhiza segítségével történő bontása az arktikus és boreal rendszerekben magasabb (1. ábra). Talbot et al. (2008) és Tu et al. (2006) munkája rávilágított arra, hogy bár az arbuskuláris mikorrhiza gombáknak nincsenek extracelluláris enzimeik, jelenlétük mégis megnöveli a lebontó folyamatok sebességét. Külső externális hifahálózatuk segítségével behálózják a talajban levő szerves anyagokat (gyökereket és növényi maradványokat), és az ott élő szaprofiton mikroorganizmusok számát és hatását is befolyásolják (Hodge et al. 2001).

A mikorrhiza gombák által közvetlenül, vagy közvetett módon, más mikroorganizmusok segítségével létrejövő kisebb, energiában gazdag szénforrásokat az AM gomba nem képes közvetlenül felvenni (10. ábra). Mint ahogy azt már korábbi fejezetekben is említettük, az externális hifa és az AM gomba energia ellátását nem külső szén és energiaforrásból, hanem az internális hifából kifelé áramló trigliceridekből fedezi (Lammers et al. 2001).

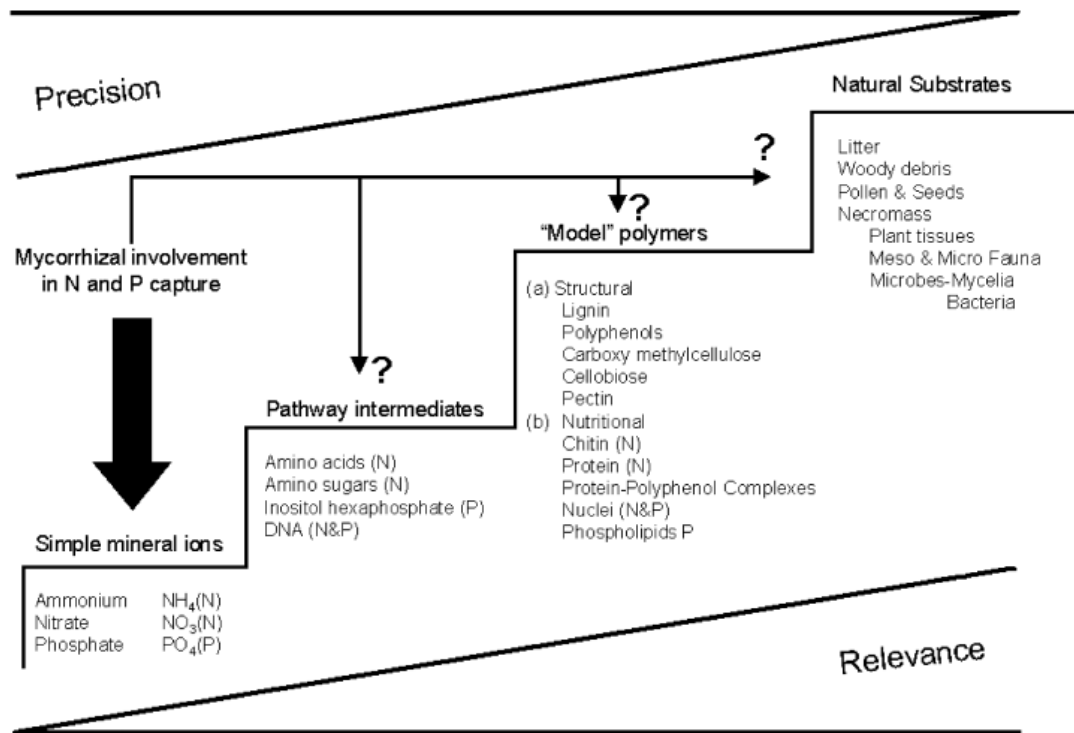
Az AM gombák tápelem és tápanyag transzportja még kevésbé ismert jelenség, de azért e folyamat több elemét azonosították már. Az intenzív kutatások ellenére is csak néhány transzporter fehérjét sikerült kimutatni, amelyek megerősítik az arbuskuláris mikorrhiza obligát jellegét. Ezek a már azonosított transzport fehérjék szerepet játszanak a *G. versiforma* (foszfát-GvPT, Harrison és van Buuren 1995) és a *G. intraradices* foszfátfelvételében (GiPT, Maldonado-Mendoza et al. 2001), valamint az ammónium ionok felvételében is (GintAMT1, Lopez-Pedrosa et al. 2006). Mikroelemek közül egyedül a Zn-transzportálásáért felelős fehérjét írták le (Gonzales-Guerrero et al. 2005), amely a víz bejutását biztosító csatorna felépítésében részt vevő proteinnel (GintAQP1, Aroca et al. 2009) lényegében lefedi az ezidáig azonosított transzport fehérjéket.

Az arbuskuláris mikorrhiza gombák valószínűleg azért alakították ki ezt a stratégiát, mert a szerves anyagok vonzzák a mikroorganizmusokat, elősegítik a lebontó mikroszervezet

megtelepedését, s ezek aktivitása tápelem felhalmozódáshoz vezet. A talaj megnövekedett foszfor koncentrációja következtében megindulhat a P-felvétel az externális hifák transzport fehérjéje segítségével, s ez közvetve elősegíti a növény asszimilátumainak a gomba felé történő áramlását is. Fordított irányú, gombától induló szénáramlás csak különleges körülmények között történik, a minimális klorofillt tartalmazó növények esetében.

A hifák morfológiailag is alkalmazkodtak ehhez a stratégiához. Bago et al. (2004) és Leigh et al. (2009) kísérletesen is bebizonyította, hogy a hifa kis tápelem tartalmú közegben sugárirányú növekedést követ, meghatározott szakaszoknál történő elágazással.

További előnyt biztosít a mikorrhizált növény részére az, hogy az externális hifa alacsony hőmérsékleten, 10-12 °C-on is biztosítja közvetett és vagy közvetlen úton a szerves anyagok lebontását és a nitrogén továbbítását (Barrett et al. 2011).



10. ábra. Arbuskuláris mikorrhiza bekapcsolódása a N és P mobilizálás folyamatába a rendelkezésre álló szubsztrátok függvényében (Read és Perez-Moreno 2003).

2.4. AM gombák és más talajmikroorganizmusok kapcsolata

2.4.1. Mikorrhiza gombák és szaprofiton mikroorganizmusok

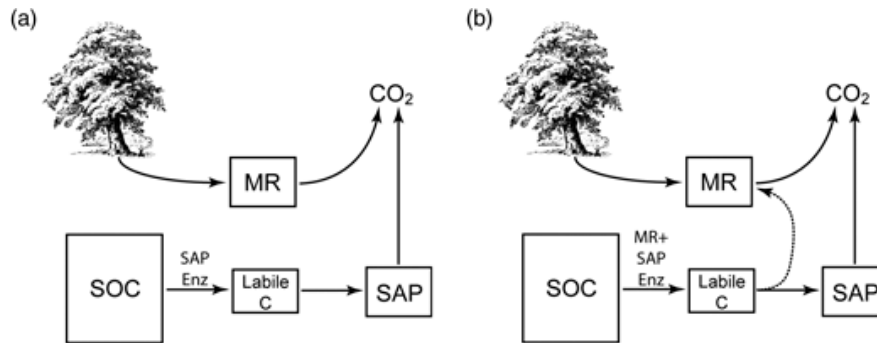
Az AM gomba jelenlétében tapasztalható megnövekedett mértékű szervesanyag bontás (Atul-Nayyar et al. 2009), illetve az externális hifáknak a szervesanyagban gazdag területek felé növekedése (Hodge et al. 2009) első pillanatban nehezen értelmezhető. Az arbuskuláris mikorrhiza gombák ugyanis – jelen ismereteink szerint – nem folytatnak szaprofiton életmódot (Smith és Read 2008). Megfigyelések szerint a szerves anyag csak akkor idézi elő az externális hifa növekedését, ha gyökér nincs jelen az adott mikro környezetben (Hodge 2003), és az externális hifa inkább növekszik a szerves „folt” felé, mint a nem kolonizált gyökér felé (Leigh et al. 2009).

Ezekben a folyamatokban az AM közvetett és közvetlen hatásai egyaránt szerepet játszanak. A mikorrhiza externális hifái által termelt váladékok hatására a rizoszférához hasonló terület, ún. hifoszféra jön létre (Toljander et al. 2007), amely nagy tápanyagtartalma miatt vonzza a talajmikroorganizmusokat. Az így kialakuló közösség tagjai részt vesznek a szerves anyagok lebontásában, és rövid idő múlva verseny alakul ki a mikroorganizmusok és a gyökér között a felvehető tápelemekért. Ilyenkor tapasztalható a mikorrhiza és szerves anyag együttes kijuttatásakor jelentkező növekedéscsökkenés, valamint az ezzel párosuló tápelem, elsősorban N-hiány (nem publikált saját eredmények).

Ismert, hogy az arbuskuláris mikorrhiza gombák képesek bizonyos aminosavak felvételére is (Hawkins et al. 2000). A talaj szerves N-tartalmának közel 20%-át kitevő aminosavak nemcsak a nitrogén-, hanem szénforrásként is szolgálnak a gombának (Chen és Xu 2006). Így a fehérjebontó szaprofiton szervezetek által leszakított aminosavak a növények N- igényének egy részét is biztosíthatják közvetve, az AM segítségével.

Az egymásra épülő tevékenységek miatt itt sem meglepő, hogy a mikorrhiza gombák és a szaprofitonok szeretnek egymás közelében élni, de bizonyos mértékű elkülönülést is mutatnak. Lindahl et al. (2007) északi erdőben történő vizsgálataival bizonyította, hogy az erikoid és ektomikorrhizák valamint a lebontó mikroorganizmusok térben elkülönülnek egymástól. A szaprofitonok a felsőbb friss és csak részben lebomló szerves hulladékanyag környékén tömörülnek, míg a mikorrhizák a kissé mélyebb talajrégiókban élnek, illetve már a bomlásnak indult hulladékot kolonizálják. Mindemellet azt is megállapították, hogy a C/N arány a mélységgel és az idő előre haladásával nő, s mindez a mikorrhiza gombák felszaporodásával jár együtt.

Ezek a vizsgálatok hozzájárultak ahhoz, hogy a folyamat egymásra épülését leíró elméletek szülessenek. Talbot et al. (2008) a klasszikus modell mellett kidolgoztak egy új modellt, amely a mikorrhizának a szerves C-körforgalomban való részvételén alapul (11. ábra). Ebben három, a mikorrhiza és szaprofita gombák együttműködését leíró rendszert alkottak meg. Ezekben az elméleti modellekben az arbuskuláris mikorrhizák közvetett szerepet játszanak csak, mégis fontosnak tartom ismertetni azokat.



11. ábra. A szerves szén körforgalmának klasszikus (a) és új modellje (b).

Jelölések: Mikorrhiza(MR), szaprofiton (SAP) gombák, szerves szén(SOC) (Talbot et al. 2008).

(i) *Alternatív C-forrás elmélet*

A mikorrhiza gombák (AM kivételével) a jelenlévő szerves makromolekulákat csak akkor kezdik lebontani, ha a gazdanövény gyökérfelszíne illetve asszimilátumai által biztosított C forrás limitált. Így nem meglepő, hogy a mikorrhizált gyökerek tavasszal erőteljes extracelluláris enzim-aktivitást mutatnak, ami hozzájárul a fiatal levelek kifejlődéséhez szükséges plusz C egy részének biztosításához (Courty et al. 2007).

(ii) *Egyidejű szervesanyag lebontás elmélet*

Ez a modell elsősorban magashegyi erdőkben és északi sarkkörü területeken érvényesül, ahol a talaj oldható szervesanyag tápelemkészlete nem elegendő. Ezekre a területekre az jellemző, hogy a mikorrhiza aktivitása során a nitrogénben gazdag szervesanyagot is mobilizálják, így biztosítva a megfelelő tápelem utánpótlást.

(iii) *„Növényi töltet” elmélet*

A mikorrhiza lebontó folyamatai akkor indulnak csak be, ha a növény által biztosított energia és szénforrás fedezi az enzimek termelődéséhez szükséges plusz energiát. Így lényegében a megemelkedett növényi C forrás biztosítja azt, hogy a mikorrhiza hozzáférjen olyan tápanyagforrásokhoz is, amely energetikailag, illetve a térbeli elhelyezkedés miatt nem volt elérhető a szaprofitonok és a gyökerek számára. A szaprofitonok elsősorban az energiában

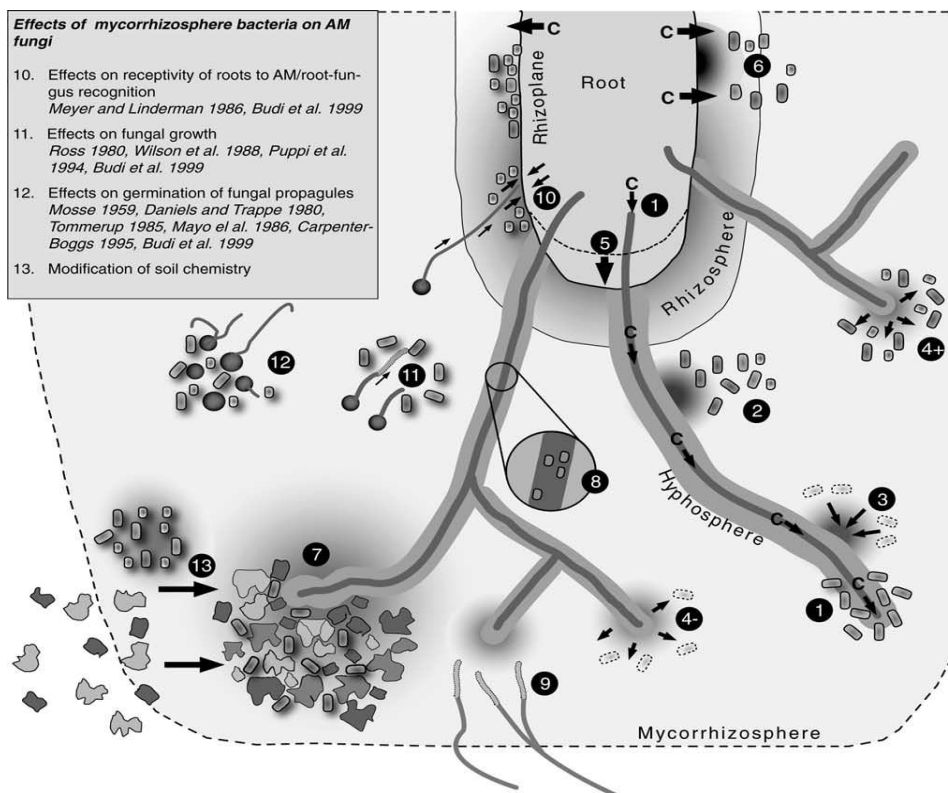
gazdag, labilis szén szubsztrátumot használják fel, a mikorrhizák pedig azokat a területeket tárják fel, ahol kevés a könnyen mobilizálható szénforrás.

Az AM gombák közvetett úton még a növényi diverzitást is befolyásolhatják. A változás a C3 növényektől a C4 típusúak felé történik, mivel a C4-típusú növények sokkal nagyobb mikorrhiza függőséget mutatnak (Collins és Foster 2009). Mindemellett érdekes megfigyelés az, hogy a C3 típusú növényekből létrejövő hulladék sokkal könnyebben bontható le, mint a C4 típusú növények hulladéka (Dijkstra et al. 2006), és a hulladék anyag befolyásolja a N mineralizációs folyamatokat is (van der Krift és Berendse 2001).

Megemlítjük még, hogy néhány szaprofiton mikroszervezet és mikorrhiza gomba szinergistaként kölcsönhatásba léphet. Így például a *Tametes* és *Trichoderma* fajok együttes jelenléte elősegítette az AM gomba aktivitását és a növényre gyakorolt előnyös hatását (Arriagada et al. 2009).

2.4.2. Az AM és a hasznos talajszerkezetek kapcsolata

A mikorrhiza gombák, mint a talaj mikroba közösségének részei, a velük együtt élő mikroorganizmusokkal sajátos kapcsolatot létesítenek. Ez a kapcsolat lehet mindkét fél számára kedvező, de azért előfordulnak parazitizmusra illetve antagonizmusra utaló jelek is ebben az együttélésben. A kapcsolat kialakításában fontos körülmény az, hogy az AM externális hifái által kibocsátott váladéknak köszönhetően a rizoszférához hasonló speciális terület jön létre, amely a mikorhizoszféra nevet kapta (Linderman 1988); ezt a területet a hifák közvetlen környezetére leszűkítve, hifoszférának is nevezik (Gryndler et al. 2000) (12. ábra).



12. ábra. Mikrobiológiai interakciók a mikorhizoszférában.
Magyarázatot lásd a szövegben (Johansson et al. 2004).

A mikorhizoszféra nagysága a gyökértől akár 12 cm-es távolságra is kiterjedhet, s erre a régióra a gyökér és az externális hifa egyaránt hatással van. Johansson et al. (2004) jó összefoglalását adja ezeknek a hatásoknak (12. ábra) és 13 olyan elemet sorol fel, amelyek közvetve vagy közvetlenül befolyásolják a terület biotikus (mikroorganizmusok) és abiotikus (talaj fizikai és kémiai) sajátosságait (Azcón-Aguilar és Bago 1994, Smith et al. 1994, Barea et al. 1997, 2000, Gryndler et al. 2000, Linderman 2000).

Közvetlen hatása van a hifa által képzett váladéknak, melynek szerves anyagai energiaforrásként is szolgálnak a mikróbák számára (12. ábra 1.), illetve a mikorrhiza gomba jelenléte megváltoztatja a gyökérváladék összetételét (12. ábra 6.). A közeg pH-ját is befolyásolják ezek az anyagok, általában savasabbá teszik azt (12. ábra 2.). A foszfor és számos más elem oldhatósága ezáltal javul, de egyszersmind nő a tápelemekért folyó verseny a gyökér és a mikroorganizmusok között (12. ábra 3.). A gyökérváladék a tápanyagokon kívül számos gátló, illetve stimuláló anyagot is tartalmaz (12. ábra 4.), amelyek hatással vannak a gyökér növekedésére (12. ábra 5.). Mindezek, kiegészülve a glomalinnal, a talaj szerkezetét is befolyásolják (12. ábra 7.). A mikorrhiza gombáknak jelentős szerepük van a velük együtt élő, gyakran endofiton életmódot folytató baktériumokra (12. ábra 8.) is. Ezek a

mikorrhiza-segítő baktériumok (MHB) élvezik a mikorrhiza által nyújtott előnyöket, de viszonzásul elősegítik a hifa növekedését (Garbaye 1994). Ismert, hogy a mikorrhiza spórákkal együtt több olyan ún. helper baktérium is együttél, amelyeknek szerepe van a mikorrhiza aktivitásában. Ezzel magyarázható, hogy a sterilizált (baktériummentes) spórák csírázóképesége általában gyenge (Mayo et al. 1986, Carpenter-Boggs et al. 1995).

Ames 190 db AM gombaspórát vizsgáltak behatóan, ezek közül százat egy vagy több kitinbontó mikroba-faj kolonizált; rendszertani besorolásukat tekintve e fajok 82%-a aktinomicetes, 16%-a egyéb baktérium, 1%-a pedig mikroszkópos gomba volt. Roesti et al. (2005) szerint a mikorrhiza spórát kolonizáló mikrobák fajösszetételét nem a gazdanövény gyökérváladéka, hanem inkább a spóra sejtfal kémiai összetétele, illetve a mikorrhiza hifaváladéka befolyásolja.

Toljander et al. (2008) nem a spórákat kolonizáló fajokat vizsgálták, hanem a mikorrhizált és nem mikorrhizált gyökérváladékokat, és ők is azt találták, hogy a mikorrhiza hifák váladéka határozza meg a baktérium-populáció összetételét. A hifoszférában az *Enterobacteriaceae* családba tartozó *Gammaproteobacteria* és a *Flavobacterium*ok domináltak, korábbi vizsgálatok eredményeinek megfelelően (Andrade et al. 1997, Artursson és Jansson 2003).

Bár a mikorrhiza környezetében a Gram-pozitív baktériumok dominálnak, több irodalmi utalás is van arra, hogy a PGPR (Plant growth-promoting rhizobacteria) baktériumok stimulálják az AM gombák fejlődését (Linderman 1997). A *Pseudomonas putida* és mikorrhiza gombák között szinergista hatást figyelt meg Meyer és Linderman (1986), s a kölcsönhatás okait gén szintű vizsgálatokkal próbálták elemezni. Megállapították, hogy a fluoreszkáló pszeudomonaszok és AM gombák kezdetben azonos géneket indukálnak a gazdanövényben, a gyökér kolonizációjával egyidőben azonos növényi sejt-program lép működésbe, melynek termékeit aztán ezek a mikrobák közösen hasznosítják, ami így számukra energetikailag kedvező megoldást jelent (Sanchez et al. 2004).

Három résztvevőt tartalmazó együttműködés a mikorrhiza gomba, a *Rhizobium* és a gazdanövény közötti kapcsolat, amely elsősorban a kolonizáció előtti állapotban, valamint a szimbiózis kialakulásának időpontjában a legjellemzőbb (Azcón-Aguilar és Barea 1992). Természetesen csak a mikorrhizagomba és a szabadon élő és/vagy szimbiotikus nitrogénkötő baktériumokkal is kialakulhat kapcsolat (Barea et al. 1997). Ez az együttélés, pontosabban egymás mellett élés azért is kedvező, mert a gomba által biztosított anyagok (szénhidrátok, aminosavak) fedezik a nitrogénkötéshez szükséges nagy mennyiségű energia egy részét. Így a nitrogén körforgalmába közvetlenül bekapcsolódó mikorrhizagombák közvetett módon részt

vesznek a N és P körforgalmába (Hodge et al. 2001). Nem meglepő a mikorrhiza gombával szinergista kapcsolatban lévő, talajban szabadon élő foszfát-oldó baktériumok együtt-élése sem (Barea et al. 1997, Kim et al. 1998).

A talajban élő mikroszervezetek mellett nem szabad elfelejtenünk a mikorrhiza gomba citoplazmájában élő baktériumokról, melyeket a *Glomus versiforme*, *Acaulospora laevis* és *Gigaspora margarita* fajoknál is kimutattak (Mosse 1970, MacDonald és Chandler 1981, Scannerini és Bonfante 1991, Bonfante et al. 1994). Az endoszimbionta baktériumok funkciója még nem tisztázott (Jargeat et al. 2004), de első képviselőjükön, a *Burkholderia* baktériumon végzett vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a foszfor felvételének folyamatában is szerephez juthatnak (Bianciotto et al. 2003).

Johansson et al. (2004) egyébként alapos összefoglaló munkájában nem találunk a mikorrhiza gombának más, nem a mikroorganizmusok körébe tartozó élőlényekre gyakorolt hatásokról szóló említést. Pedig a makrofauna és az AM-gomba közötti interakciók erősen befolyásolják az AM-gombák eloszlásának mintázatát, és hatását.

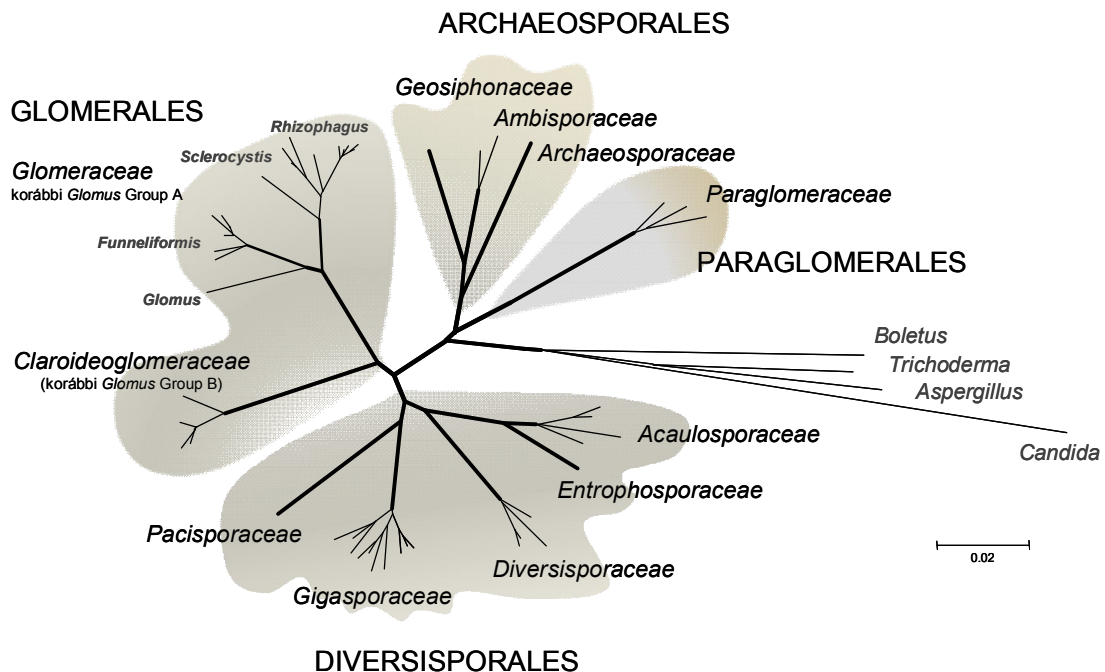
A mikroarthropodák közül az ugróvillások jelentős szerepet töltenek be a talaj mikroorganizmusok és köztük az AM gombák életében. A különböző táplálkozású ugróvillás fajok előszeretettel fogyasztják a különböző gombafajok spóráit, hifáit és baktériumsejteket is, ugyanakkor számos esetben táplálékpreferencia is kimutatható. A táplálékválasztásról a legtöbb faj esetében kevés adat áll a rendelkezésünkre, de az ugróvillások általában válogatnak a különböző AM-gombafajok között (Moore et al. 1985). Klironomos és Ursic (1998) ugyanakkor az ugróvillásoknak a szaprofita gombák előnyben részeítéséről számoltak be.

Ahogy az a táplálkozási vizsgálatok eredményei alapján várható, az ugróvillások AM-gomba fogyasztása következtében a mikorrhiza kolonizáció is változik (Hodge, 2000). Ebben a folyamatban szerepet játszhat még a Collembolák mikorrhiza gombákat terjesztő tevékenysége is. Noha az AM-gomba spórák túl nagyok ahhoz, hogy intakt módon átjuthassanak az ugróvillások bélcsatornáján, az állatok jelenléte mégis elősegíti a növények kolonizációját.

2.5. Az AM gombák filogenetikai rendszere, azonosításuk

2.5.1. Az AM gombák rendszere

Az AM gombák rendszertanában és elnevezésekben az elmúlt 20 év során számos változás történt (Melléklet M1). A legelfogadottabb irányzat szerint a *Glomeromycota*-k egy monofiletikus csoportot alkotnak a polifiletikus *Zygomycota* gombáktól elkülönülten. Az eddig leírt AM gombafajok száma csekély, amelyek a jelenlegi rendszertani besorolás (1. táblázat) alapján a tömlős és bazídiumos gombák testvércsoportjaként leágazó *Glomeromycota* törzs *Glomeromycetes* osztályának négy rendjébe (*Archaeosporales*, *Diversisporales*, *Glomerales*, *Paraglomerales*), tíz családjába és húsz nemzetségébe tartoznak (13. ábra) (Krüger et al. 2012).



13. ábra. Az AM gombák rDNS kis alegységének (SSU/18S) filogenetikai elemzése.

A törzsfá tartalmazza a taxonómiai változtatásokat is, melyek az eredeti törzsfán nem voltak feltüntetve (Schüßler et al. 2001, módosítva <http://www.lrz.de/~schuessler/amphylo/> alapján).

1. táblázat. Az AM gombák rendszertani besorolása Krüger et al. (2012) alapján
(törzs/*Glomeromycota*, osztály/*Glomeromycetes*)

Rend (4)	Család (10)	Nemzetség (20)
<i>Glomerales</i>	<i>Glomeraceae</i>	<i>Glomus</i> (sensu lato és sensu stricto)
		<i>Funelliformis</i> (korábbi <i>Glomus</i> Group Aa, ' <i>Glomus mosseae</i> csoport')
<i>Diversisporales</i>	<i>Claroideoglomeraceae</i>	<i>Rhizophagus</i> (korábbi <i>Glomus</i> Group Ab, ' <i>Glomus intraradices</i> csoport')
		<i>Sclerocystis</i> (alapvetően a korábbi <i>Glomus</i> Group Ab csoport)
		<i>Septoglomus</i> (korábbi <i>Glomus</i> Group Aa egy része, <i>Glomus constrictum</i> és <i>G. africanum</i>)
		<i>Simiglomus</i> (bizonytalan rendszertani pozíció)
		<i>Claroideoglomus</i> (korábbi <i>Glomus</i> Group B)
		<i>Gigaspora</i>
		<i>Scutellospora</i>
		<i>Racocetra</i>
		<i>Dentiscutata</i> (korábbi <i>Scutellospora</i> egy része)
		<i>Cetraspora</i> (korábbi <i>Scutellospora</i> egy része)
<i>Paraglomerales</i>	<i>Paraglomeraceae</i>	<i>Acaulospora</i> (tartalmazza a korábbi <i>Kuklospora</i> nemzetséget)
		<i>Pacispora</i>
		<i>Diversispora</i> (<i>Entrophospora nevadensis</i> és számos korábbi <i>Glomus</i> faj áthelyezve ide, pl.: BEG47)
<i>Archaeosporales</i>	<i>Geosiphonaceae</i>	<i>Redeckera</i>
		<i>Paraglomus</i>
		<i>Geosiphon</i>
	<i>Ambisporaceae</i>	<i>Ambispora</i>
		<i>Archaeospora</i> (tartalmazza a korábbi <i>Intraspora</i> nemzetséget)

2.5.2. Az AM gombák izolálása és meghatározása

Az AM gombák jelenlétének kimutatását leggyakrabban spóraizolálással (Gerdemann és Nicolson 1963, Oehl et al. 2003) illetve a gyökerek tripánkékes (Phillips és Hayman 1970) vagy tinta-ecetsavas (Vierheilig et al. 1998) festésével végzik. Rendszertani azonosításuk korábban csak a spóra morfológiája alapján történt. A spóráképzés azonban erősen függ az AM gombák fiziológiai paramétereitől és a környezeti tényezőktől, ezért alkalmazásuk óvatosságot igényel. Bizonyos körülmények között, illetve az év meghatározott szakában néhány AMF gomba sok spórát produkál, ezért domináns gyökérkolonizálónak tűnik, ugyanakkor más helyzetben egyáltalán nem sporulál. Mindemelllett a spóráképződés dinamikája a fajok között is eltérhet (Bever et al. 1996). A spóráprodukciónak sincs mindig összefüggésben a gyökérkolonizációval, vagyis a kimutatott spórák kevéssé reprezentálják az aktuális AM gomba összetételt a növényi gyökérben (Clapp et al. 1995, Merryweather és Fitter 1998).

A morfológiai azonosítás másik korlátozó tényezője az, hogy a szántóföldről gyűjtött spórák gyakran parazitákkal fertőzöttek, degradálódtak, ezáltal azonosíthatatlanná válnak. Ez a probléma az ún. „AMF trap” kultúra, vagyis csapdanövények beállításával kiküszöbölhető; e módszer segítségével a szántóföldön előforduló fajok ellenőrzött körülmények között felszaporíthatók, és friss spórák nyerhetőek.

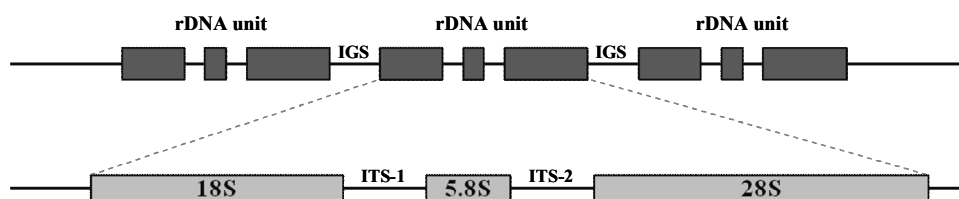
A spóra morfológiai jellemzőit jelentősen befolyásolja még a spóra kora és keletkezésének körülményei is (Kjøller és Rosendahl 2001), ami további problémát okozhat az azonosításban. Mindezek alapján érthető, hogy az azonosítás még az egészséges spórák esetében is nehézségekbe ütközik. Továbbá, néhány AM gombának nincs jól körülírható,

tipikus spóramorfológiai jellemzője, sőt nem is minden mikorrhiza gomba képez a talajban spórát. Tipikus morfológiai bélyegek híján vagy spórák hiányában az AM gombák intraradikális képleteinek jellemzőit használják a család azonosítására, de faj szintű meghatározás így nem lehetséges (Merryweather és Fitter 1998).

Az AMF gombák azonosítása a gyökérszövetekben történő azonosítása is sok bizonytalansággal jár (Clapp et al. 1995, Smith és Read 1997), de a molekuláris módszerek elterjedése új lehetőségeket teremtett a diagnosztikában.

Az elmúlt két évtized molekuláris biológiai fejlődésének köszönhetően elterjedtek a DNS-re alapozott molekuláris technikák, valamint az izoenzim analízis (Rosendahl és Sen 1992) és az immunológiai módszerek (Sanders et al. 1992), de – mint már utaltam rá – a két utóbbi módszer nem biztosít faj szintű azonosítást. A molekuláris munkáknak köszönhetően számos olyan filotípust (DNS vizsgálatokon alapuló rokonsági viszony) kimutattak, amelyek nem tartoznak az eddig leírt AM gombafajokhoz. Ezek a filotípusok valószínűleg még morfológiailag nem leírt AM gombák képviselői, olyan fajokat reprezentálnak, melyeket nehéz tenyészedény kultúrában felszaporítani, vagy olyan fajokhoz tartoznak, melyeket morfológiai karakterek alapján nem lehet elkülöníteni (Börstler 2010).

PCR módszerrel lehetséges a genom egy meghatározott részének felszaporítása. Erre a módszerre épül a molekuláris taxonómiai besorolás egyik alapja, a nrDNS szekvencia analízise is. A nrDNS régió génjei nagy kópiaszámban vannak jelen, és egyaránt tartalmaznak konzervált-, illetve variábilis részeket, amelyek lehetővé teszik a faji meghatározást és az elkülönítést (14. ábra). Az azonosításhoz egyaránt felhasználható a kis (SSU/18S), illetve a nagy (LSU/28S) riboszóma RNS-t kódoló szekvencia, valamint az ITS szekvencia (internal transcribed spacer) és az 5.8S RNS-t kódoló szekvencia is. A növényi gyökérből történő kimutatás során az obligát biotróf gomba DNS-ének növényi nukleinsavakhoz viszonyított kicsiny mennyisége miatt leginkább nested-PCR-t alkalmaznak, amely hatékonyabbá teszi a kívánt DNS szakasz felszaporítását.



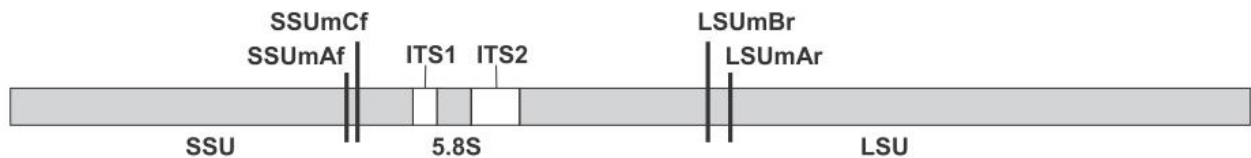
14. ábra. A sejtmagi riboszóma gének elhelyezkedése egy nrDNS egységen.
IGS, Intergenic spacer; ITS, Internal transcribed spacer (Reddy et al. 2005)

Az első PCR technikán alapuló mikorrhiza meghatározást Simon et al. végezték (1992), majd 1993-ban a nrDNS kis alegységére, a SSU/18S génre család-specifikus PCR oligonukleotid szekvenciákat terveztek, s megtervezték a mikorrhiza gombákra jellemző VANS1 szekvenciát is. Amikor már több SSU szekvencia vált elérhetővé, nyilvánvalóvá vált, hogy a VANS1 primer hely nem minden AMF csoportban konzervált (Clapp et al. 1999, Redecker et al. 2000, Schüßler et al. 2001), mely megnehezíti a mikorrhiza gombák PCR-es kimutatását.

A riboszóma DNS más területeit is bevonták a vizsgálatokba, így a mikológiában és ektomikorrhiza kutatásban gyakran alkalmazott ITS régiót, a 5.8S valamint a nagy alegység szekvenciáit is. Egger 1995-ben az ITS és IGS (nem átíródozó *intergenic spacer*) régiókra fejlesztett család-specifikus primereket, de további nehézséget okozott az, hogy néhány AM gombában az ITS régióknak eltérő kópiái vannak jelen (Lloyd-MacGilp et al. 1996, Redecker et al. 1997, Jansa et al. 2002a, Pawlowska és Taylor 2004). A biológiai adatbázis növekedésével egyre újabb és újabb indítószekvenciák tervezése történt, amelyekről gyakran kiderült, mint például az AM1 (Helgason et al. 1998) primerről is, hogy nem alkalmas minden AM család kimutatására (Daniell et al. 2001). Lee et al. (2008) szintén a nrDNS kis alegységére terveztek specifikus AM gomba primereket (AML1/AML2), melyek az *Archaeospora trappei* kivételével alkalmasnak tűntek az addig leírt összes AM gomba detektálására. A 28S nrDNS alapján már számos AM-nemzetségbe tartozó fajra fejlesztettek ki specifikus primereket (van Tuinen et al. 1998, Turnau et al. 2001, Jacquot-Plumey et al. 2001).

A PCR módszerrel nyert azonos méretű amplifikátumok további vizsgálatára több lehetőség kínálkozik. Különböző restriktív enzimekkel emésztve, majd azonosítva a nyert DNS szakaszokat (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) különböző csoportokat hozhatunk létre, amelyeket a természetes AM populációk leírására használnak (Helgason et al. 1998, 1999, 2002, Daniell et al. 2001, Husband et al. 2002, Vandenkoornhuyse et al. 2002). Másik lehetőséget biztosít az azonos méretű, de eltérő szekvenciák tanulmányozására az akrilamidós gélelektroforézis (DGGE, denaturing gradient gel electrophoresis; Myers et al. 1987), valamint az egyszálú DNS molekulák eltérő migrációs sebességén alapuló módszer (SSCP, single strand conformation polymorphism, Orita et al. 1989). A DGGE módszert széles körben használják a környezeti mikrobiológiában a mikrobiológiai diverzitás kimutatására, az SSCP pedig a fajszerű azonosításra alkalmas igen érzékeny módszer (Clapp et al. 2001, Rodriguez et al. 2001, Jansa et al. 2002b).

A természetes ökoszisztémákban előforduló AM gombák egyidejű kimutatására Dong és Zhao (2006) öt primerpárt tervezett a nrDNS nagy alegységének variábilis régiójára, és multiplex PCR segítségével sikerült azonosítaniuk a várt fajokat. Krüger et al. (2009) pedig az nrDNS minden régióját érintő, degenerált primerek tervezésével közelítette meg a már ismert AM családok egyidejű detektálását (15. ábra).



15. ábra. Degenerált nested-PCR primerek elhelyezkedése a *Glomus* sp. „*intraradices*” DAOM197198 nrDNS kis (SSU) és nagy (LSU) alegységén (Krüger et al. 2009).

Az AM gombafajok molekuláris meghatározását és az AM gomba diverzitás vizsgálatokat a különböző szerzők nem egységes markerekkel vagy marker kombinációkkal végzik, így eredményeik összehasonlítása nem könnyű (Stockinger et al. 2010). Az AM gomba DNS nukleotidszekvencia vizsgálatain alapuló módszerek alkalmazása során felmerülő problémák közé tartozik az is, hogy egy adatbázis rekord gyakran nem naprakész és téves információkat is hordoz (Clapp et al. 2002, Schübler et al. 2003), ezért a filogenetikai vizsgálatok referencia szekvenciáinak kiválasztásakor és az adatbázisokban történő BLAST keresés során körültekintően kell eljárunk. Öpik et al. (2010) kezdeményezése alapján egy olyan adatbázis jött létre, mely kizárólag *Glomeromycota* eredetű nukleotidszekvencia adatokra épül, és összegzi a különböző szerzők által publikált AM gomba izolátumokból tisztított DNS nukleotidszekvencia valamint a környezetből tisztított DNS-minták direkt meghatározásából eredő szekvencia adatokat egyaránt (Maarjam *Glomeromycota* adatbázis – <http://maarjam.botany.ut.ee/>).

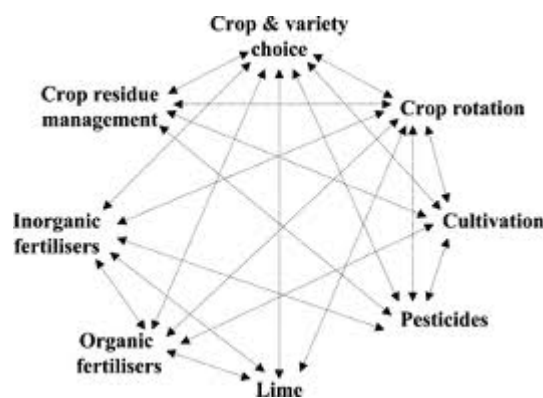
A korántsem teljes összefoglalásból látszik, milyen problematikus az arbuszkuláris mikorrhiza gombák azonosítása. Az AM gombák nrDNS régiójában tapasztalható nagyfokú polimorfizmus (Lanfranco et al. 1999, Clapp et al. 1999, 2001, Antonielli et al. 2000, Rodriguez et al. 2001, Jansa et al. 2002b, 2003) miatt joggal vetődik fel a kérdés, hogy használhatjuk-e a fenti módszereket diverzitás vizsgálatokra, illetve hol van az alkalmazhatóság határa. Stockinger et al. (2010) ezirányú összehasonlító vizsgálataiban megállapította, hogy a maximális intraspecifikus eltérés az LSU-D1 régióban 0,47-10,8% között változott, míg az ITS régió variabilitása 0,23-14,6%-os, az LSU-D2 szakaszé pedig 0-

15,7%-os volt. Vagyis a legalacsonyabb intraspecifikus variabilitás az LSU-D1 szakaszban van, és az AM gombák intraspecifikus és intraspórás változatossága minden nrDNS régióban jelentősen eltérő. A hosszabb régiók filogenetikai vizsgálata BLAST kereséssel kiegészítve kiküszöbölheti az AM gombák molekuláris technikákkal történő azonosításának problémáit, megbízhatóbb eredményt azonban a spóra morfológiai és molekuláris jellemzés együttesen ad.

2.6. Termesztési technológiák hatása az AM gomba diverzitásra

A talajművelés során végzett beavatkozások (forgatás, lazítás, porhanyítás, keverés, tömörítés és felszínalakítás), szerves- és műtrágyák, valamint peszticidok használatával befolyásoljuk a talajban élő mikroorganizmusok, így az arbuskuláris mikorrhiza gombák aktivitását és diverzitását (Lupwayi et al. 1998, Guggenberger et al. 1999, Palma et al. 2000). Általánosságban elmondható, hogy a mezőgazdasági művelés alá vont területek AM gomba diverzitása kisebb a természetes társulásokhoz képest, ez azonban nem minden esetben van így. Oehl et al. (2009) például – meglepő módon – közel azonos diverzitást mutatott ki természetes legelő és vetésforgóban művelt területek talajában.

Caruso és Rillig (2011) rámutatott, hogy a trágyázás módja, a trágyák típusa, a talaj mésztartalma, a talajművelés, a termesztett növény fajtája, a vetésforgó típusa, a peszticid használat és a növényi maradványok komplex módon befolyásolják az arbuskuláris mikorrhiza gombákat (16. ábra).



16. ábra. Mikorrhiza gombák hatását és diverzitását befolyásoló komplex rendszer (Caruso és Rillig 2011)

2.6.1. Szervetlen és szerves tápanyag utánpótlás hatása a mikorrhiza gombák aktivitásra és diverzitásra

A tápanyag utánpótlás jelentősen befolyásolja az AM gombák spóra képződését és diverzitását (Johnson és Pflieger 1992). A tápanyag utánpótlás minőségétől függően azonban külön kell vizsgálnunk a műtrágyázás és a szerves tápanyag utánpótlás mikorrhizára gyakorolt hatását. Korábbi tanulmányok egyértelműen a P-trágyázás negatív hatásáról számoltak be, mely elsősorban az AM gombák spóraszámának csökkenésében jelentkezett (Sieverding 1990, Ratnayake et al. 1978, Graham et al. 1981). Mindez közvetlenül a talaj megemelkedett foszfor szintjének a gombára gyakorolt gátló hatása mellett, a műtrágyázásnak a talaj pH-t csökkentő indirekt hatásának is tulajdonítható (Coughlan et al. 2000). A műtrágyázás hatása azonban nem egyértelműen érvényesül, a különböző AM gomba fajok eltérően reagálnak a tápelem utánpótlásra. A *Glomus intraradices* mennyisége például megnőtt, míg a *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora margarita*, a *Scutellospora calospora* és a *Paraglomus occultum* fajoké csökkent a szervetlen tápanyag utánpótlás hatására (Johnson 1993).

A külső közeg mikorrhiza gombákra gyakorolt közvetlen hatása mellett a hajtás nitrogén- és foszforkoncentrációja is jelentősen befolyásolja ezt a folyamatot. A hajtás N/P arányának eltolódása a foszfor irányába fokozza a P-toleráns *Glomus intraradices* gyakoriságát, míg a N felé történő eltolódás a *Gigaspora margarita* és az *Acaulospora longula* fokozott sporulációját váltja ki (Doude és Schenck 1990). Olyan beszámolót is ismerünk, amely szerint jó foszfor-ellátottságú talajban nem jelentkezik a tápelem utánpótlásnak a mikorrhiza gombára gyakorolt negatív hatása (Franke-Snyder et al. 2001). Hijri et al. (2006) kukorica monokultúrában alacsony AM diverzitást találtak, de szerves tápanyag utánpótlás biztosításával jelentősen növekedett a diverzitás, és szezonális változások is kimutathatók voltak.

Molekuláris technikával Hijri et al. (2006) a szervetlen tápanyag-utánpótlásban részesült kukorica monokultúrában alacsony (3 filotípus), míg vetésforgóban magasabb (4-5 filotípus) AM diverzitást talált, amely tovább fokozódott (6 filotípus) a szerves tápanyag-utánpótlás hatására. Míg a szervetlen trágyázásban részesült kukorica monokultúrában csak a *Glomeraceae* család filotípusai fordultak elő, addig a szervesen trágyázott vetésforgóból az *Acaulosporaceae*, a *Paraglomeraceae* és a *Gigasporaceae* családokba tartozó filotípusokat is találtak. A gomba rDNS kis alegységének (SSU) vizsgálatával Toljander et al. (2008) a szervetlen tápanyag-utánpótlású tartamkísérletekből származó kukorica gyökerét aktívan kolonizáló AM gombaközösség meghatározása során összesen 8 filotípust különített el, de az

általuk használt primerkombináció nem volt alkalmas az *Archaeosporaceae* és a *Paraglomeraceae* családokhoz tartozó gombák kimutatására, így eredményeiket óvatos kritikával kell kezelni.

A mezőgazdasági rendszerek közül az ökológiai gazdálkodásnak kiemelt szerepe van az AM gombák faji sokszínűségének megőrzésében. Oehl et al. (2010) hagyományos, spóra-morfológián alapuló vizsgálatokkal ilyen területeken tapasztalta a legmagasabb AM gomba diverzitást, magasabbat, mint a természetes gyepék talajában. Verbruggen et al. (2010) nem talált ilyen mértékű AM-diverzitás fél-természetes gyep-állományban, illetve hagyományos és ökológiai gazdálkodással művelt táblákban; ennek az lehet a magyarázata, hogy idézett szerzők más T-RFLP technikát használtak.

2.6.2. A talajművelés hatása az AM-diverzitásra

A talajművelés AM gombákra gyakorolt hatásában több tényező is szerepet játszik. A talajművelés hatása közvetett úton, a talaj tápanyagtartalmában bekövetkezett változáson, a mikroorganizmus közösségen, és/vagy a megváltozott gyomösszetételen keresztül érvényesül (Jansa et al. 2003, O'Donovan és McAndrew 2000, Streit et al. 2000). Közvetlen hatásként a micélium hálózat összerombolását, feldarabolódását kell elsőként megemlíteni (Jasper et al. 1989).

A talajművelés általában csökkenti az AM gombák spóraszámát, az externális micélium (ERM) hosszát, valamint a mikorrhiza gomba által termelt glomalin koncentrációját a talajban (Wright et al. 1999, Boddington és Dodd 2000). Éppen ezért az ökogazdálkodásban alkalmazott csökkentett talajmunkálás nagyobb kolonizációs potenciált és fajgazdagságot biztosít (McGonigle és Miller 1996), ami a spóra mennyiség és diverzitás növekedésében is megnyilvánul.

A természetes gyep-állományokban a gomba spórák száma a talaj felső 10 cm-es rétegében 69-84 db/1 g talaj értékek között mozog, míg művelt, kukoricatermesztésre használt talajban ez a szám 7-14 db spóra/g talaj értékre csökken (Oehl et al. 2005). Ez a mennyiségi redukció a mélységgel fokozódik, és gyakran diverzitásbeli csökkenéssel is együtt jár.

Az AM gombaközösség összetételében is jelentős különbségek figyelhetők meg a művelt és nem művelt mezőgazdasági területek között. Így például a művelt talajokban a *Glomus etunicatum* és a *G. caledonium* spórái dominálnak, míg a nem művelt talajokban a *Glomus occultum*, a *Scutellospora pellucida*, az *Acaulospora paulinae* és az *Entrophospora*

infrequens fajok spórái gyakoribbak (Galvez et al. 2001, Jansa et al. 2002a). Ezeket a megfigyeléseket molekuláris módszerekkel végzett diverzitásvizsgálatok is megerősítették (Jansa et al. 2003). A különböző AM gombák tehát eltérő érzékenységgel válaszolnak a talajbolygatásra; a *Scutellospora* nemzetség fajainak alacsony egyedszámát például micélium hálózat talajművelés következtében történt feldarabolódásával magyarázták (Jansa et al. 2003). Ezeknek a gombáknak ugyanis ép micélium-hálózatra van szükségük a gyökérszet sikeres kolonizációjához (Jasper et al. 1993). Az *Acaulospora* és a *Glomus*¹ fajok sokkal jobban tűrik a talajbolygatást, ami részben annak köszönhető, hogy a *Glomeraceae* család tagjai képesek az externális hifából kinduló gyors regenerálódásra (Morton 1993).

2.6.3. Vetésforgó és monokultúra rendszerek hatása a mikorrhiza populációra

Habár az AM gombák nem mutatnak szoros gazdaspecifitást, preferált asszociációs hajlam azért megfigyelhető náluk is, s ezzel magyarázható, hogy maga a termesztett növény is hatással van az AM gombaközösség diverzitására és összetételére (Johnson et al. 1991, Hendrix et al. 1995). Így ha a vetésforgóban olyan növény szerepel, amely mikorrhizát nem, vagy kismértékben képez, akkor ez negatív hatással van az AM gombák kolonizációs potenciáljára (Black és Tinker 1979, Harinikumar és Bagyaraj 1988, Douds et al. 1997, Gavito és Miller 1998). Emellett az AM gombák spóráképzése szezonálisan és szukcesszionálisan is változatos dinamikát mutat, ami a különböző AM gombafajok különböző életstratégiájára utal. Ez magyarázza egyúttal a különböző termesztési és talajhasználati eljárásokkal szoros összefüggésben lévő eltérő AM gomba diverzitásokat (Oehl et al. 2009).

A vetésforgóban – bár nem ugyanazon időben – több növényfaj is szerepel, s ennek hatására sokszínűbb AM gombaközösség alakulhat ki a talajban, meggátolva a növény fotoszintetikus produktumait egyoldalúan kihasználó ún. „cheaters” (hamiskártyás) AM gombafajok előretörését (Johnson et al. 1992).

Intenzív mezőgazdasági művelés alatt álló kukorica monokultúra, vetésforgó és eltérő trágyázási (szervetlen és istállótrágya) rendszerek hatását vizsgálva Oehl et al. (2003) 45 AM gombafaj közül a *Glomus mossae*, a *G. geosporum*, a *G. albidum*, a *G. etunicatim*, a *G. diaphanum*, a *G. constrictum*, a *G. fasciculatum* és a *Scutellospora calospora* fajokat azonosították spóramorfológia alapján. Ezek mindegyike előfordult az eltérő művelési

¹ A korábbi *Glomus* nemzetséget a *Glomus*, a *Funneliformis*, a *Rhizophagus*, a *Sclerocystis*, a *Simiglomus*, a *Septoglomus* és a *Claroideoglomus* nemzetségekre bontották (KRÜGER et al. 2012).

rendszerekben, a spóraszám azonban eltéréseket mutatott. Ettől kissé különböző képet mutat a szántóföldi talajokban csapdanövény technikával megállapított AM diverzitás; ebben a felmérésben az erélyesen sporuláló fajok (*G. mossae*, *G. geosporum*, *G. etunicatim*) bizonyultak dominánsnak.

Az AM gombaközösség vetésforgó hatására bekövetkező változását többen is vizsgálták molekuláris módszerekkel, és kémélő (low input) technológiával művelt táblákban viszonylag diverz AM gomba közösséget találtak (Hijri et al. 2006, Oehl et al. 2003, Oehl et al. 2009).

2.6.4. A növényi egyedsűrűség hatása az AM gomba diverzitásra

A növényesűrűségnek a talaj mikroszervezeteire, köztük a mikorrhiza gombákra kifejtett hatását kevesen vizsgálták. Az eddigi felmérések elsősorban a gyökérkolonizációra és az externális AM-hifa abundanciájának megállapítására irányultak (Eissenstat és Newman 1990, Allsopp és Stock 1992). Schroeder és Janos (2005) a felvehető foszfor, a különböző tőszám és azok együttes hatását vizsgálta arbuszkuláris mikorrhizával oltott és oltatlan növényeken, köztük kukoricán is. A foszfor tápanyag-utánpótlás mindegyik gazdanövény esetében, a tőszám növelése pedig a kukorica és a fűszerpaprika esetében okozott jelentős gyökérkolonizáció-csökkenést.

A szervesetlen foszfor gyakran alacsony koncentrációban van jelen a talajban és elsődlegesen diffúzióval mozog a gyökér felé. Ha a növények gyorsan veszik fel a foszfort, akkor foszforhiányos zónák alakulnak ki mind a gyökér, mind pedig a gomba hifák körül (Vance et al. 2003). Alacsony tőszám esetén az extraradikális AM gomba hifák kiterjednek a foszfor hiányos zónán kívülre is, így képesek a gazdanövény foszfor ellátását továbbra is biztosítani, míg a magas tőszám növeli a gyökerek közötti átfedéseket, növelve ezzel a foszfor hiányos zónák közötti átfedéseket is. Az AM gombák növény növekedésére gyakorolt pozitív hatása akkor érvényesül, ha az általuk nyújtott előnyök felülmúlják szénhidrát igényüket (Fitter 2001). A nagyobb növényi egyedsűrűség azonban a lombzat átfedéseinek következtében csökkenti az állomány fotoszintézisét, s ez az AM gombák számára elérhető növényi szénhidrátok mennyiségében is csökkenést eredményez (Allsopp és Stock 1992). A foszforhiányos zónák közötti átfedések erősödése és a növényi szénhidrátok csökkenése így a két partner kölcsönös tápanyagcserén alapuló egyensúlyának felborulásához vezethet (Koide és Dickie 2002).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER²

3.1. Kísérleti helyek bemutatása

3.1.1. Martonvásári tartamkísérletek bemutatása

A kísérleti talajok főbb paramétereit a melléklet tartalmazza (M3).

3.1.1.1. Kukoricaszáras tartamkísérlet kukorica monokultúrában

Az 1957-ben 36 parcellán (1 parcella 6m x 10m) beállított kísérlet célja volt, hogy a kukoricaszár talajba forgatásával annak trágyahatását önállóan és műtrágyával kombináltan megvizsgálják a kukorica termésére és a talaj termőképességére. A latin négyzet elrendezésű (17. ábra) kísérlet kezelése:

VI.	5.	6.	2.	1.	4.	3.
V.	2.	1.	6.	5.	3.	4.
IV.	4.	3.	5.	6.	1.	2.
III.	6.	5.	4.	3.	2.	1.
II.	3.	4.	1.	2.	6.	5.
I.	1.	2.	3.	4.	5.	6.

17. ábra. A kukoricaszáras tartamkísérlet elrendezése

(1) 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszár, (2) 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszár + 150 kg ha⁻¹ N, (3) 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszár + 300 kg ha⁻¹ N, (4) kontroll, trágyázás nélkül (5) 150 kg ha⁻¹ N, (6) 300 kg ha⁻¹ N. Alapműtrágyázást (80 – 80 kg NP ha⁻¹) és talajművelést (szárzúzás + tárcsázás + szántás) ősszel, szántás-elmunkálást, talajfertőtlenítést és kombinátoros bedolgozást (Force 1.2 l ha⁻¹) vetés előtt, preemergens (Acenit A 880 EC – 2,0 l ha⁻¹) és posztemergens gyomirtást (Motivell – 0,8 l ha⁻¹ + Cambio – 2,0 l ha⁻¹ + Dasch – 0,6 l ha⁻¹) tavasszal végeznek évenként. A kísérletünkben vetett kukorica Norma SC hibrid volt.

² A felhasznált táptalajok-, tápoldatok- és pufferek receptjeit, valamint a felhasznált antibiotikumokat és baktérium törzseket a melléklet (M2) tartalmazza.

3.1.1.2. Trágyázási tartamkísérlet kukorica monokultúrában

A különböző műtrágyaszintek kukorica termésére és talaj termőképességre gyakorolt hatásainak vizsgálatára 1967-ben beállított kísérlet, 4 ismétléses randomizált blokk elrendezésű (1 parcella 8m x 7m) kísérlet került beállításra (18. ábra). A kísérlet elrendezését az alkalmazott kezelésekkel – (1.) kontroll, (2.) 100 kg ha⁻¹ NPK, (3.) 200 kg ha⁻¹ NPK, (4.) 300 kg ha⁻¹ NPK, (5.) 400 kg ha⁻¹ NPK, (6.) 600 kg ha⁻¹ NPK, (7.) 800 kg ha⁻¹ NPK – a 11. ábra szemlélteti. A kísérletünkhöz vetett kukorica Norma SC típusú volt. A talaj-előkészítés és növényvédelem megegyezik a kukoricaszáras tartamkísérletnél leírtakkal. A tartamkísérletből a 400 kg ha⁻¹ NPK kezelés valamint kontroll, műtrágyában nem részesülőt kezeléseket vizsgáltuk csak meg.

7.	6.	5.	2.
6.	3.	3.	4.
5.	2.	7.	1.
4.	1.	2.	5.
3.	7.	1.	6.
2.	4.	6.	3.
1.	5.	4.	7.
I.	II.	III.	IV.

18. ábra. A trágyázási tartamkísérlet elrendezése

3.1.1.3. Vetésforgó és monokultúra tartamkísérletek

Az 1961-ben kéttényezős, osztott parcellás elrendezésben, négy ismétlésben beállított kísérletek célja a különböző vetésforgók és trágyázási rendszerek hatásának vizsgálata volt a kukorica és a búza termésére valamint a talaj termőképességére (19. ábra).

I.							III.								
e.							c.								
d.							d.								
c.							b.								
b.							a.								
a.							e.								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.		5.	4.	7.	1.	2.	3.	6.
II.							IV.								
d.							c.								
e.							b.								
c.							d.								
b.							e.								
a.							a.								
	4.	6.	1.	2.	7.	3.	5.		7.	3.	6.	5.	1.	4.	2.

19. ábra. Vetésforgó és monokultúra tartamkísérlet elrendezése

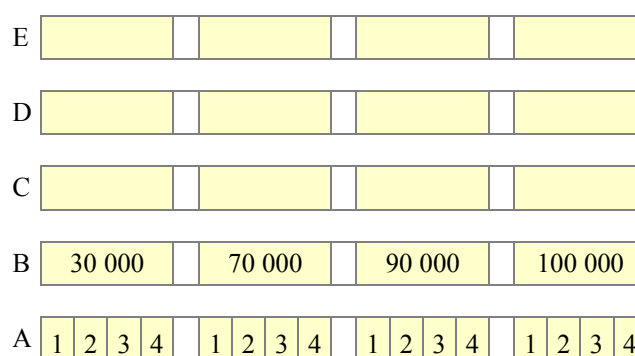
A főparcella 7 növényi sorrendet foglal magában: (1.) kukorica monokultúra, (2.) búza monokultúra, (3.) 3 év lucerna – 5 év kukorica, (4.) 3 év lucerna – két év kukorica, (5.) 2 év

búza – 2 év kukorica, (6.) 3 év lucerna – 3 év kukorica – 2 év búza, (7.) kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú vetésforgó). A kísérlet alparcellái öt eltérő trágyázási rendszert képviselnek: (A) kontroll, trágyázás nélkül; (B) 60 t ha⁻¹ istállótrágya 4-évenként + NPK kiegészítés; (C) 5 t ha⁻¹ szalma, illetve 7 t ha⁻¹ kukoricaszár évente + NPK kiegészítés; (D) NPK műtrágya; (E) felvett NPK, 15 t ha⁻¹ kukorica- és 10,5 t ha⁻¹ búzaterméshez. A vetett kukorica Norma SC hibrid, az őszi búza Mv Magvas. A talaj-előkészítés őszi alpműtrágyázásból, talajművelésből (tárcsázás + szántás), magágykészítésből (őszi búza – kombinátorozás), tavaszi szántáselmunkálásból (tavaszi vetésűek alá), műtrágyaszórásból, talajfertőtlenítésből és kombinátoros bedolgozásból (kukorica alá, Force 1,2 l ha⁻¹) áll. Az őszi búza növényvédelme posztemergens gyomirtásból, gombaölő szeres védelemből és rovarkártevők elleni védelemből tevődik össze (Granstar 15 g ha⁻¹ + Starane 0,5 l ha⁻¹ + Artea 0,5 l ha⁻¹ + Karate 0,3 l ha⁻¹). A kukorica növényvédelme megegyezik a fentebb részletezett tartamkísérletnél leírtakkal, kiegészítve egy második, nyári posztemergens gyomirtással (Mikado 1.5 l ha⁻¹).

A tartamkísérletből a kukorica monokultúra, 3 év lucerna – 5 év kukorica, 2 év búza – 2 év kukorica valamint a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú vetésforgó) területéről vettünk mintákat.

3.1.1.4. Növénytermesztési tényezők hatása a kukorica termésére tartamkísérlet

1961-ben, 4 ismétlésben beállított tartamkísérlet, melynek célja a különböző növénytermesztési tényezők (trágyázás: A-E, a növényszám: 30000-100000 növény ha⁻¹ és a kukorica hibridek: 1-4) hatásának vizsgálata volt. A 8 x 7 m parcellák elrendezése a 20. ábrán látható. A talaj-előkészítés és növényvédelem megegyezik a 3.1.1.3. bemutatott tartamkísérletnél leírtakkal.



20. ábra. Növénytermesztési tényezők hatását vizsgáló tartamkísérlet elrendezése

Az eltérő trágyázási rendszerek közül a kontroll, trágyázás nélküli (A) parcellák, 70 000 és 100 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűségű, Norma SC hibridkukorica növények gyökereit vizsgáltuk.

3.2. Nehézfém szennyezés hatása az arbuskuláris mikorrhiza gombára

Az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézete Nagyhörcsöki Kísérleti telepén beállított nehézfém terheléses kísérlet adatait Kádár idevonatkozó cikke (1995) tartalmazza. A kísérleti területről származó talajok segítségével beállított növényházi vizsgálat pontos leírását a Bíró et al. (2005, 2006) munkái tartalmazzák.

3.3. Az ugróvillások és arbuskuláris 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 spóraszámváltozást sztereomikroszkóp segítségével követtük nyomon. A fogyott spórák számát a részben, illetve teljesen elfogyasztott spórák számának az összege adta meg. A fogyasztás megállapítására az állatok behelyezését követő 48 óra múlva került sor.

Az adatokat Kruskal-Wallis teszttel elemeztük, a STATISTICA V. 5. számítógépes programcsomag segítségével.

Az ugróvillásoknak az arbuskuláris 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 módszereit, tenyészedényeit az ide vonatkozó referenciákban közöljük.

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

A kísérletet a Szent István Egyem, Növényvédelmi Intézetének kísérleti területén állítottuk be (hosszúság 19°21'39.85'', szélesség 47°35'37'63''), 2009-ben. A terület kontinentális klímájú, évi 10,6 °C-os átlaghőmérséklet és 539 mm-es átlagos mennyiségű csapadékkal jellemezhető.

A vizsgálatához használt paprika palántákat (*Capsicum annuum* L. var. Longum cv. Szegedi, *Capsicum annuum* L. var. Longum cv. Kalocsai) üvegházban neveltük fel. A magokat

speciális kertészeti szubsztrátba (Klasmann TS3: 80 % fehér tőzegmoha tőzeg és 20 % fagyasztott fekete tőzegmoha tőzeg, lassú feltáródó képességgel rendelkező NPK trágya (14:16:18 w/w/w), pH 6.0) vetettük, majd 7 hét növekedés után, május 26-án ültettük ki őket a kísérleti telep mérsékelt foszfortartalmú homokos talajába. A talaj felső, 0-20 cm rétegének legfontosabb paraméterei az alábbiakban foglalhatók össze: pH (KCl) 6,67; humusztartalom 1,56; sótartalom 0,05%; AL-P₂O₅ 84 mg/kg; AL-K₂O 113 mg/kg; AL-Ca 1347 mg/kg; AL-Mg 142 mg/kg; MH₄⁺-N 0,59 mg/100g; NO₃⁻-N 2,19 mg/100g; Cu 3,63 mg/kg; Fe 1016 mg/kg; Mn: 263 mg/kg; Zn: 6,49 mg/kg. A foszfor, kálium és nitrogén koncentrációjának meghatározására Egner és munkatársainak (1960) módszere alapján került sor, ammónium-laktát-ecetsavas és CaCl₂-os extrakció után. A talaj cc. HNO₃-as kezelését követően Jobin-Yvon JY24ICP típusú plazmaemissziós spektrométerrel határoztuk meg annak fémtartalmát.

A kísérletbe bevont területen gabonaféléket termesztettek, de a vizsgálat előtti két évben fű borította, hogy a talaj visszanyerje termőképességét. Talajművelésként minden aratás után 25cm-es szántást alkalmaztak, hagyományos magágy készítéssel, tárcsázással lezárva.

A palánták kiültetésekor, a növények gyökeréhez palántánként 15 g (400 spóra/g) engedélyezett, a kereskedelemben is kapható mikorrhiza oltóanyagot, Symbivit-et adagoltunk. A Symbiom Ltd. (Lanskroun, Csehország; www.symbiom.cz) által gyártott 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 kísérletben összesen 300 növényt, 50 Symbivittel oltott (AM+) és 50 oltás nélküli (AM-) növényt vizsgáltunk három ismétlésben, random blokk elrendezésben.

3.5. AM gomba oltóanyag tesztelése gyökeres muskátli dugványokon

3.5.1. AM gomba hatása kiindulási állapotban alkalmazott oltáskor

A kísérletet a Szent István Egyetem Kertészeti Intézetének növényházában állítottuk be (19°21'38,85", 47°35'37,63") 2009. február 17 és április 4. között. A vizsgált periódusban az üvegház átlaghőmérséklete 19,5 °C volt (minimum 14 °C, maximum 25 °C).

Muskátli gyökérdugványokat (*Pelargonium hortorum* var. Greco) 500 cm³ térfogatú műanyag cserepekbe ültettünk, melyeket előző nap 10 %-os hypo-oldattal fertőtlenítettünk, majd alaposan steril csapvízzel átöblítettünk. Az edényeket muskátli nevelésére alkalmas szusztráttal töltöttük fel, melynek főbb összetevői az alábbiak voltak: pH (H₂O) 6,47; NO₃-N

71,5 mg/kg; P₂O₅ 230 mg/kg; K₂O 192 mg/kg; szervesanyag-tartalom: 5,37%. A foszfor, a kálium és a nitrogén meghatározása Egner és munkatársainak (1960) módszere alapján, ammónium-laktát-ecetsavas és CaCl₂-os extrakció után került sor.

A tenyészedények felében a szubsztrátot hosszú feltáródó képességgel rendelkező műtrágyával (Osmocote) egészítettük ki, 2g l⁻¹ (15N + 9P + 12K + 2,5MgO + mikroelemek) koncentrációban. Az Osmocote 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 mikorrhizagombát (*G. intraradices* BEG140, *G. mosseae* BEG95, *G. etunicatum* BEG92, *G. claroideum* BEG96, *G. microaggregatum* BEG56) tartalmazott gyökérdarabok, hifák és spórák formájában a Symbiom Kft. (Lanskroun, Csehország; www.symbiom.cz) bocsátotta rendelkezésünkre 200 spóra/g oltóanyag koncentrációban.

A négy kezelés (1: AM1+OSM+; 2: AM1+OSM-; 3: AM1-OSM+; 4: AM1-OSM-) kezelésként 25 növény egyedszámú ismétlésben került beállításra, vagyis összesen négy kezelés 100 növényét random módon helyeztünk el a növényházban.

A növekedés időszakában csepegtető öntözést alkalmaztunk, hogy a talajnedvességet állandó szinten tartsuk (20 % w/w). A muskátli növényeket 6 hét növekedés után nagyobb méretű tenyészedényekbe átültettük, és kezelésként 5-5 növényt, a hozzá tartozó rizoszféra talajt feldolgoztuk. A gyökér és hajtás nedves valamint száraz (60°C-on 72h át súly-állandóságig) tömegének meghatározása mellett a hajtás foszfor és kálium koncentrációját is megmértük a növényi részek HNO₃ + H₂O₂ kezelését követően. Az elemek mennyiségét plazma atom emissziós spektrométer (ICP-AES, FY-238-as típus) segítségével határoztuk meg. A N-koncentrációját módosított Kjeldahl módszerrel végeztük el a hajtás cc. H₂SO₄ + H₂O₂ kezelését követően.

A rizoszféra talajban élő mikroorganizmusok számának meghatározása a 3.8 pontban leírt módszer szerint, a mintákban a gyökérekolonizáció meghatározása a 3.7.2. pontban leírtaknak megfelelően történt.

3.5.2. Átültetéskor alkalmazott mikorrhiza oltás hatása

A 3.5.1. pontban leírt kísérlet folytatásaként a muskátli növényeket párosával 4000 cm³ térfogatú műanyag konténerekbe átültettük. Ültető közegként a kiinduláskor használt szubsztrátot használtuk, de további tápelem (Osmocote) adagolás nem, csak a mikorrhiza oltóanyaggal történő inokuláció történt, konténerenként 15 g/növény mennyiségben. A

kezelések összefoglalását a 2. táblázat tartalmazza. A nyolc kezelést, 10-10 növényismétléssel beállítva további hat héten keresztül üvegházban neveltük, a 3.5.1 pontban leírt kísérleti feltételek mellett. A gyökerek és hajtások száraz és nedves tömegét, a gyökérkolonizáció mértékét, valamint a levelek tápanyagtartalmát a 3.5.1 kísérletben leírtak alapján elemeztük.

A kísérlet befejezésekor, a poszt-inokulációt követő 6 hét után illetve a 3.5.1 mintáiból is meghatároztuk a rizoszférában élő baktériumok PCR-RFLP mintázatát a 3.9 pontban leírt módszer szerint.

2. táblázat. Az átültetéskor alkalmazott mikorrhiza oltás kezelések jelölése

Kezelések

1. AM1-OSM+: mikorrhiza oltóanyag nélküli, tápelemutánpótlásban részesült
2. AM1-OSM+AM2+: kiinduláskor tápelemutánpótlásban, átültetéskor mikorrhiza oltásban részesült
3. AM1-OSM-: mikorrhiza oltóanyag nélküli, tápelemutánpótlásban nem részesült
4. AM1-OSM-AM2+: kiinduláskor nem kezelt, átültetéskor mikorrhiza oltásban részesült
5. AM1+OSM-: kiinduláskor mikorrhiza oltásban igen, tápelemutánpótlásban nem részesült
6. AM1+OSM-AM2+: kiinduláskor és átültetéskor AM oltásban igen, tápelemutánpótlásban nem részesült
7. AM1+OSM+: kiinduláskor tápelemutánpótlásban és mikorrhiza oltásban részesült
8. AM1+OSM+AM2+: kiinduláskor és átültetéskor AM oltásban és tápelemutánpótlásban részesült

3.6. Mintavételezések

3.6.1. Mintavételezések a martonvásári tartamkísérletekből

3.6.1.1. Mintavétel a tápanyag-utánpótlás (kukoricaszár beforgatás és szervesetlen műtrágyázás) AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálatához

A tápanyag-utánpótlás hatásának vizsgálatához mintáink a MTA Mezőgazdasági Kutatóintézet kísérleti területén, Martonvásáron beállított tartamkísérletekből származtak. A „Trágyázási tartamkísérletből” (3.1.1.2. fejezet) a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyával kezelt (IF), a „Kukoricaszáras tartamkísérletből” (3.1.1.1. fejezet) pedig a kontroll (NON) és a 7.5 t ha⁻¹ ha kukoricaszárral kezelt (OF) Norma SC hibridkukorica növények gyökereit gyűjtöttük be, kukorica monokultúrából, 4 ismétlésben, 25-30 cm-es földlabdával együtt. A mintavétel 2008-ban 4 mintavételi időpontban történt: virágzáskor (1. mintavétel, június 13.),

a szemtelítődés kezdetekor (2. mintavétel, július 3.), biológiai éréskor (3. mintavétel, augusztus 7.) és közvetlenül a betakarítás utáni időben (4. mintavétel, október 20.). Molekuláris vizsgálatokat a júniusi és az augusztusi mintavételi időpontokhoz tartozó gyökérmintákon végeztünk.

3.6.1.2. Mintavétel a monokultúra és vetésforgó rendszerekből

Mintavételkor a „Vetésforgó és monokultúra” martonvásári tartamkísérlet (3.1.1.3. fejezet) kukorica monokultúrájából (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, míg a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgóból az Mv Magvas őszi búza növények gyökereit³ gyűjtöttük be, 4 ismétlésben, 2008-ban, a 3.6.1.1. fejezetnél leírt négy mintavételi időpontban. Molekuláris vizsgálatokat a júniusi és az augusztusi mintavételi időponthoz tartozó mintákon végeztünk.

3.6.1.3. Mintavétel a növényi egyedsűrűség AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálatához

Mintáink a MTA Mezőgazdasági Kutatóintézet kísérleti területén, Martonvásáron beállított „Növénytermesztési tényezők hatása a kukorica termésére” tartamkísérletből (3.1.1.4. fejezet) származtak. A tartamkísérletből a 70 000 növény ha⁻¹ (normál, ND), illetve 100 000 növény ha⁻¹ (magas, HD) tőszámú, kontroll kezelések (a trágyázási rendszerek közül) Norma SC hibridkukorica gyökereit gyűjtöttük be a kukorica virágzását követően, egy mintavételi időpontban, 2007. június 16-án. A mintázott parcellákból négy-négy növény gyökerét 25-30 cm-es földlabdával együtt ástuk ki. Közvetlenül a mintavétel után minden egyes növényi gyökérről eltávolítottuk a talaj nagy részét. Ezeket a talajmintákat szobahőmérsékleten tömegállandóságig szárítottuk az 1 gramm talajban található spórák számának meghatározásához. A növényi gyökerekről csapvizes mosással eltávolítottuk a maradék földet, majd minden egyes megtisztított gyökérzet 5 különböző laterális gyökérrészből azonnal elvégeztük a DNS izolását, többi részét pedig 4 °C-on tároltuk a mikorrhizáltsági százalékok meghatározásáig.

³ A Norfolk típusú vetésforgónál ebben az évben búza volt soron.

3.6.1.4. Mintavételezés a mikorrhiza oltóanyag paprika terméshozamára és a talaj rizoszféra AM közösségére gyakorolt hatásának kísérletéből

A gyökérekolonizáció mértékének meghatározásához 4 időpontban, június 26-án, július 27-én, augusztus 14-én és szeptember 3-án vettünk mintát. Minden alkalommal 3-3 random módon kiválasztott (3 ismétlésben) növényt ástunk ki 25 x 25 x 25 cm-es földlabdával. Kezelésenként 36, összesen 72 növényt dolgoztunk fel. A gyökér és talajmintát 4 °C-on tároltuk, törekedve a 24 órán belüli feldolgozásukra. Az AM gomba gyökérekolonizáció mértékének kezeléstől függő meghatározása a 3.5.2. pontnak megfelelően történt.

A hajtás és gyökér nedves valamint száraz tömegének meghatározása az utolsó betakarításakor, szeptember 3-án begyűjtött növényekkel történt. Kezelésenként 5-5 véletlenszerűen kiválasztott növényt a talajból gyökérezettel együtt kiástunk; majd alapos csapvizes mosás után a hajtásokat és gyökereket különválasztottuk, és nedves tömegüket megmértük. A növényi részeket 60°C-on súlyállandóságig (72 h) történő szárításuk után újra lemértük, a száraz tömeg meghatározása céljából.

A kézi szüretelésből származó termés mennyiségi adatok (kezelésenként 100 növényről, összes tömeg) is meghatározásra kerültek.

A júniusi és augusztusi (első és harmadik mintavétel) mintáknál a növények hajszálgyökereiből kezeléseknként 5-5 ismétlésben DNS-t izoláltunk a 3.8.1 pontnak megfelelően, majd a kezelések mikorrhiza populációra gyakorolt hatását vizsgáltuk meg PCR-RFLP profiljuk alapján a 3.10.2 pontban írtak szerint.

3.7. Klasszikus módszerek a mikorrhiza aktivitás jellemzésére

3.7.1. AM gomba spóra-izolálás talajból, spóraszám meghatározás

A kezelésenként négy-négy ismétlésben végzett, szobahőmérsékleten tömegállandóságig szárított 5-5 gramm talajmintából „nedves szitálást” (Gerdemann és Nicolson 1963) követően cukorsűrűség-grádiens módszerrel (Ianson és Alleen 1986) izoláltuk az AM gomba spórákat, majd sztereomikroszkóp segítségével, 100-szoros nagyítással határoztuk meg a talaj 1 grammjára vonatkoztatott spóraszámot.

3.7.2. AM gomba gyökérkolonizáció mértékének meghatározása

A növények gyökereinek alapos csapvizes mosása után minden egyes növény gyökérzetéről reprezentatív mintaként 5 különböző (körülbelül 1,5 g nedves tömegnek megfelelő) gyökérrészt gyűjtöttünk, melyek festését tinta-ecetsavas vagy tripánkékes módszerrel végeztük el (Vierheilig et al. 1998). A szimbiotikus kapcsolat erősségére utaló mikorrhizáltsági százalékok becslését sztereomikroszkóp segítségével, 100-szoros nagyítással végeztük el „gridline intersection” módszerrel (Giovanetti és Mosse 1980), négy ismétlésben.

3.7.3. AM gomba hifahosszának meghatározása

Az AM- gomba hifahosszának meghatározása Baath és Söderström módszere alapján történt (1979). A száraz talaj 1 grammját 100 ml desztillált vízben egy percig kevertettük, majd a gomba hifákat nedves szitálással és centrifugálással elkülönítettük. A 30 mikrométeres szitán fennmaradó gomba hifát 5ml desztillált vízzel Petri csészébe mostuk, majd 10 ml trypán-kéket tartalmazó (0,05%) agar oldattal (0,75%) felöntöttük. Ezután a Petri-csészéket 24 órán keresztül 70 °C-on szárítottuk, és a kiszáritott agarfilmben lévő hifa hosszának meghatározása Tennant (1975) interszekciós módszerével történt sztereomikroszkóp segítségével.

3.8. A baktérium közösség meghatározása klasszikus mikrobiológiai módszerrel

A 3.5.1 pont minden kezeléséből random mintavételezéssel 5-5 g rizoszféra talajt steril üvegedénybe helyeztünk, mely 25 cm³ 0,9 %-os NaCl oldatot tartalmazott, majd szobahőmérsékleten 10 percig ráztuk 150 rpm fordulatszámon. A rázatott talajszuszpenzióból hígítási sort készítettünk, és 0,1 cm³ mennyiségét szélesztettük különböző sterilizált (121°C, 20 perc) táptalajokra. A rizoszféra aerob összgomba-, összbaktérium (aerob)- telepképző egységeit Czapek Dox (Duchefa Biochemia BV, NL) illetve BD Difco™ nutrient (Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, CH) agaron határoztuk meg. A *Pseudomonas* fajok számának meghatározására speciális *Pseudomonas* izolációs agart (Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, CH) használtunk. A Petri-csészéket 28 °C-on 2 napon (összbaktérium, *Pseudomonas* fajok) illetve 5 napon át (gombák) inkubáltuk. Minden tesztet öt ismétlésben végeztünk.

3.9. A rizoszféra baktérium közösségének PCR-RFLP képének meghatározása

A 3.5.1 és 3.5.2 pontokban leírt kezelésekből származó mintáknál a gyökerekkel együtt eltávolított rizoszféra talajt steril dörzscsészékben homogenizáltuk. Minden minta 500 mg mennyiségét használtuk fel DNS izoláláshoz, melyet a FastDNA SPIN Kit for Soil (Q-Biogene Inc., Irvine, CA) utasításai alapján végeztünk el.

A baktériumok 16S rRNS-ének meghatározott szakaszát sokszorosítottuk PCR reakcióval. A reakció össztérfogata 20 μ l volt, mely az alábbi összetevőket tartalmazta: 2 μ l 10 x PCR puffer (Fermentas, Vilniusz, Litvánia), 1,5 μ l 25 mM MgCl₂, 2 μ l dNTP mix, 1-1 μ l primer (40 mM) - 24f (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') és 534r (5'- ATT ACC GCG GCT GCT GG-3') (Muyzer és mtsai. 1993) - 1 μ l templát DNS, 0,2 μ l (5U) Taq polimeráz (Fermentas, Vilniusz, Litvánia) és 11,3 μ l milliQ víz. A PCR program a következő volt: denaturáció, 95 °C 5 perc; 25 ciklus: 94 °C 30s, 56 °C 45s, 72 °C 60s; elongáció 72 °C 7 perc. Az amplifikátumokat 1,5 %-os agaróz gélen választottuk el etídium-bromid jelenlétében. A tisztított PCR termékeket restriktációs endonukleázos emésztéseknek vetettük alá 37 °C-on, Hin6I (HinP1I) és BsuRI (HaeIII) enzimek használatával (Promega, Madison, WI, USA). A baktérium populációra jellemző RFLP profil megállapítása kapilláris elektroforézises futtatás alapján történt Agilent 2100 Bioanalyser-rel, DNA 12000 Kit (Agilent Technologies, Waldbronn, Németország) alkalmazásával.

3.10. Molekuláris módszerek

3.10.1. DNS izolálás növényi gyökérből, és oltóanyagból

A 70 000 és a 100 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűség AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata során a négy ismétlésben gyűjtött (3.4.1.3. pont) kukorica gyökerek 5 különböző laterális gyökérrészből forralásos módszerrel végeztük az ún. „crude DNS” kinyerését (Di Bonito et al. 1995; Saito et al. 2000, 2001), az így kapott templátokat (1 x 2 x 4 x 5 = 40) a PCR amplifikáció elvégzéséig -20 °C-on tároltuk.

A 2008. évi minták (3.4.1.1. és 3.4.1.2. pontok) közül a júniusi és az augusztusi mintavételi időpontokhoz tartozó növényi gyökerek 5-5 különböző laterális gyökérrészből, a 2009-es mintáknál a júniusi és augusztusi mintavételből végeztünk DNS izolálást a Qiagen által forgalmazott DNeasy[®] plant Mini Kit-tel, a gyártó utasításai alapján. A 2009-es paprika

kísérlethez alkalmazott oltóanyag (Symbivit) 2 g mennyiségéből is hasonló módon DNS izoláltunk.

A nukleinsav-kivonás minőségének ellenőrzését agaróz gélelektroforézissel végeztük 1%-os agaróz gélen, 0.1 µl/ml etidium-bromid jelenlétében. A kapott tiszta DNS izolátumokat -20 °C-on tároltuk a PCR reakciók elvégzéséig.

3.10.2. Nested-PCR a mikorrhiza gombák, PCR a baktérium populáció kimutatására

A mikorrhiza gomba 18S rDNS gén egy részének nested-PCR amplifikálását, első lépésben eukarióta, majd második lépésben AM gomba specifikus indítószekvenciákkal végeztük. Az indítószekvenciákat a mikorrhiza gombákra a 3. a táblázat, a baktériumokra a 3.b táblázat tartalmazza. A reakcióelegy végtérfogata minden reakciónál 20 µl volt, mely 2 µl 10x-es reakció puffert (Fermentas), 1,5 µl 25 mM-os MgCl₂-ot, 2 µl 2,5 mM-os dNTP mixet, 1-1µl 40 µM-os primereket, 1 µl templát DNS-t, 0,2 µl (5U) Taq DNS polimeráz enzimet (Fermentas) és 11,3 µl steril desztillált vizet tartalmazott. A nested-PCR illetve a sima PCR programok lépéseit a 4. táblázat tartalmazza. A kapott PCR amplifikátumokat agaróz gélelektroforézissel mutattuk ki és választottuk el, 2%-os agaróz gélen, 0,1 µl ml⁻¹ etidium-bromid jelenlétében. Az etidium-bromidot tartalmazó agaróz gélben a DNS mintázatot UV-transzilluminátoron vizsgáltuk.

3.a. táblázat. A felhasznált indítószekvenciák mikorrhiza gombák kimutatásához

Primer név	Szekvencia (5'-3')	bp	Primer	Specifitás	Referencia
AMW4.5F	5'-AATTGGAGGGCAAGTCTGG-3'	19	forward	Eukaryota	Saito et al. 2004
AMW4.5R	5'-AGCAGGTTAAGGTCTCGTTCGT-3'	22	reverse	Eukaryota	Saito et al. 2004
AMW4.5NF	5'-AAGCTCGTAGTTGAATTTTCG-3'	20	forward	Glomeromycota	Saito et al. 2004
AMW4.5NR	5'-CACCCATAGAATCAAGAAAGA-3'	21	reverse	Glomeromycota	Saito et al. 2004

3.b. táblázat. A felhasznált indítószekvenciák baktériumok kimutatásához

Primer név	Szekvencia (5'-3')	bp	Primer	Specifitás	Referencia
24f	5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3'	20	forward	Prokaryota	Muyzer et al. 1993
534r	5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3'	17	reverse	Prokaryota	Muyzer et al. 1993

4a. táblázat. A nested-PCR program beállításai (Saito et al. 2004)

Nested-PCR I. kör				Nested-PCR II. kör			
Kezdeti denaturáció	95 °C	10 min	1 ciklus	Kezdeti denaturáció	95 °C	10 min	1 ciklus
Denaturáció	94 °C	20 sec	} 20 ciklus	Denaturáció	94 °C	20 sec	} 40 ciklus
Primerkötés	60 °C	30 sec		Primerkötés	60 °C	30 sec	
DNS szintézis	72 °C	1 min		DNS szintézis	72 °C	1 min	
Végső szintézis	72 °C	10 min	1 ciklus	Végső szintézis	72 °C	10 min	1 ciklus

4b. táblázat. PCR program beállításai a 3.b. táblázathoz (Muyzer et al. 1993)

PCR program beállításai			
Kezdeti denaturáció	95 °C	5 min	1 ciklus
Denaturáció	94 °C	30 sec	} 25 ciklus
Primerkötés	56 °C	45 sec	
DNS szintézis	72 °C	60 sec	
Végső szintézis	72 °C	7 min	1 ciklus

3.10.3. DNS fragment izolálás agaróz gélből, ligálás és *E. coli* plazmid transzformáció

Az agaróz gélből a megfelelő méretű (~650 bp) fragmenteket GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit-tel (GE Healthcare, Amersham Biosciences) visszaizoláltuk, az ugyanazon kezelésekhez és mintavételi időpontokhoz tartozó PCR fragmenteket egy „pool”-ban – és pGEM®-T Easy Vector System-mel (Promega) pGEM®-T Easy vektorba (3015 bp) építettük, majd *E. coli* DH5α törzsbe transzformáltuk.

Kompetens *E. coli* DH5α sejtek előállítása (Inoue et al. 1990):

Frissen növesztett *E. coli* DH5α baktérium sejtekből oltókacs segítségével 250 ml SOB tápoldatba oltottunk, majd 18 °C-on rázattuk (200-250 rpm), míg a minta OD₆₀₀ értéke elérte a 0.4-0.6-ot. Ezt követően 10 percig jégen hűtöttük a tenyészetet, és előhűtött centrifuga-csővekben 4000 rpm-en, +4°C-on centrifugáltuk 10 percig. A felülúszót leöntöttük, és a pelletet felszuszpendáltuk 160 ml jéghideg TB oldatban, majd 10 percig jégen tartottuk. Ezután újra centrifugáltuk a sejteket, mint előzőleg, és a pelletet felszuszpendáltuk 40 ml jéghideg TB oldatban, mely 7% DMSO-t tartalmazott. A sejtuszpenziót 200 µl-enként előhűtött Eppendorf csövekbe adagoltuk. Az így előállított kompetens sejteket felhasználásig -70°C-on tároltuk.

A kompetens sejtek transzformálása plazmid DNS-sel (Inoue et al. 1990):

A pGEM®-T Easy Vector System-mel (Promega) végzett 10 µl végtérfogatú ligálási reakciót hozzáadtuk a kompetens sejtuszpenzióhoz és 30 percig jégen inkubáltuk. Ezután 1 percre 42°C-os vízfürdőbe tettük, majd azonnal 2 percre jégre helyeztük. A sejteket 1 ml LB oldathoz adtuk, és 60 percig folyamatos rázatás mellett (200-250 rpm) növesztettük 37°C-on, végül 100 µl-enként szelektív táptalajra (LB_{AmpIPTG X-gal}) szélesztettük. A beépített ~650 bp fragmentek meglétét a transzformáns sejtekben kolónia PCR-rel és agaróz gélelektroforézissel – 1%-os agaróz gélen – ellenőriztük. A kolónia PCR paraméterei megegyeztek a nested-PCR II. körénél leírtakkal.

3.10.4. Plazmid DNS izolálás és DNS nukleotid szekvencia meghatározás

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 oligóval, a 2007. évben a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont (Gödöllő) DNS szekvenáló és oligonukleotid szintetizáló laboratóriumában (Biomi Kft.), ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems) típusú szekvenáló készülékkel, a 2008. évben az IIT Biotech szekvenáló laboratóriumában (Bielefeld, Németország) ABI 3130XL (Applied Biosystems) szekvenátorral történt.

3.10.5. Plazmid DNS izolálás és RFLP csoportok meghatározása paprika kísérletben

A pozitív klónokból, a Wizard® *Plus* SV Minipreps DNA Purification System Kit (Promega) segítségével izolált plazmidokat BsuR1-el (Fermentas) emésztettük a restrikciós fragment hossz polimorfizmus (RFLP) osztályok azonosításához. Emésztés után gélelektroforézises futtatást végeztünk 0,8 %-os agaróz gélen, 0,1 µl/ml etídium-bromid jelenlétében. Minden kezelésnél 96 klón emésztését végeztük el, és az azonos ribo-típusokhoz tartozó klónok összegzése után meghatároztuk a gyökérmintákban előforduló típusok előfordulásának relatív gyakoriságát.

3.11. Szekvencia-analízis, statisztikai adatelemzés

A szekvenálás eredményeként kapott kromatogram görbék elemzését és a szekvenciák javítását ChromasLite 2.01 (<http://www.techne.lysium.com.au/>) programmal végeztük. A javított szekvenciákat az NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) adatbázisban tárolt szekvenciákkal vetettük össze BLASTN kereséssel (Altschul et al. 1997). A feltételezett kimérákat CHIMERA_CHECK 2.7 (Ribosomal Database Project II; <http://rdp.cme.msu.edu>) programmal ellenőriztük. A kimérákat, a nem *Glomeromycota* eredetű, valamint a rossz minőségű szekvenciákat minden esetben kizártuk a filogenetikai elemzésekből. A nukleotid szekvenciák illesztésére a MUSCLE (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>) programot használtuk, a filogenetikai fa készítését MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) 4.0 szoftverrel végeztük (Tamura et al. 2007) neighbor-joining algoritmussal (Saitou és Nei 1987), Kimura 2-paraméteres modellel (Kimura 1980), 1000 véletlenszerű ismétléses bootstrap analízissel. A törzsfá készítéséhez a 97%-os hasonlósági szinten Mothur v.1.4.0 programmal (Schloss et al. 2009) elkülönített „molekuláris operatív taxonómiai egység”-ek, MOTU-k⁴ (molecular operational taxonomic unit) reprezentánsait használtuk a referencia szekvenciák mellett. A MOTU-k reprezentatív szekvenciáit összevetettük a MaarjAM (<http://maarjam.botany.ut.ee/>) *Glomeromycota* adatbázisban megtalálható virtuális taxonokkal. A legmagasabb szekvencia azonosságot mutató virtuális taxonok főbb taxonómiai egységeit reprezentáló leírt fajok szekvenciáit referenciaként használtuk a filogenetikai elemzés során.

A nem paraméteres fajszámbecslő görbéket (ACE és Chao1), a ritkasági ún. „rarefaction” görbéket, a Shannon-Wiener diverzitás index (H') értékeket⁵ és az AM gombaközösségek között lévő átfedések mértékét kifejező Théta indexeket (θ) (Yue és Clayton 2005) szintén a Mothur v.1.4.0 programmal határoztuk meg 97%-os hasonlósági szinten. Az AM gombaközösségek hierarchikus osztályozását szintén Mothur programmal végeztük, UPGMA algoritmussal.

A kukorica gyökér mikorrhizáltsági százalékainak és a rizoszféra talajok AM gomba spóraszámának meghatározásával kapott eredményeink statisztikai elemzésére az R Statisztikai Szoftver 2.13.2. –es verzióját használtuk (R Development Core Team 2011; <http://www.r-project.org/>). A különböző kezelések közötti összefüggéseket lineáris modellezéssel vizsgáltuk, a korreláció meglétét vagy hiányát $p=0$ ‘***’; 0,001 ‘**’; 0,01 ‘*’ és 0,05 ‘.’ szignifikancia szinteken határoztuk meg.

⁴ Optimális esetben egy MOTU egy filotípust reprezentál, de az elemzési módok miatt ezek nem szinonim fogalmak.

⁵ A fajok számának és abundanciájának egyidejű figyelembe vételével kapott érték.

dc_469_12

A mikorrhiza oltás bennszülött mikorrhiza gombákra gyakorolt hatásának a vizsgálatokor a kezelések mért változókra gyakorolt hatását a normalitásra ANOVA-val végeztük és összevetettük a Tukey HSD teszttel ($P < 0,05$). Az adatokat Statistica 6.1 (StatSoft, Tulsa, Okla.) software-rel végeztük.

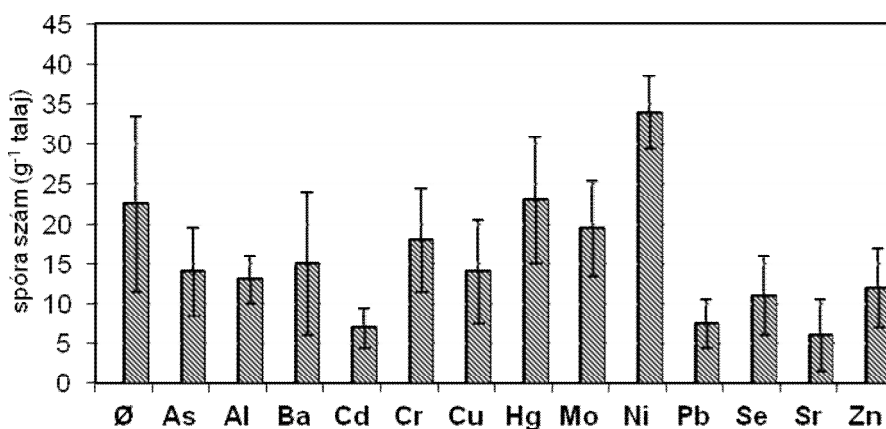
4. EREDMÉNYEK

4.1. Nehézfém stressz hatása az arbuskuláris mikorrhiza gombákra⁶

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) arbuskuláris 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 kezelésekből 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 gyökérekolonizáció és arbuskulum valamint spóra mennyiségének mérésével vizsgáltuk.



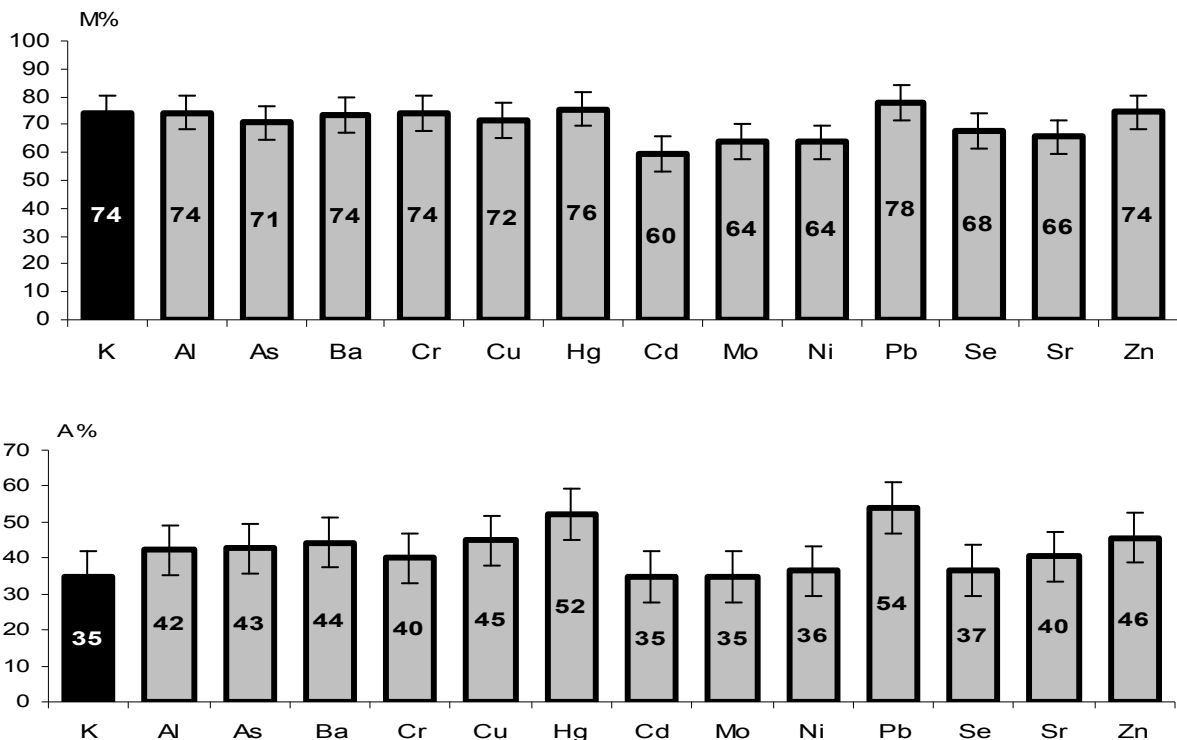
21. ábra. Az AM spóraszám a fémion fajtájától kumulatív mennyiségének alakulása 12 évvel a nehézfém kezelés után, őszi árpa gyökérszónájában ($LSD_{5\%}=3,21$).

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 nikkelszulfáttal kezelt talajban tapasztaltunk spóraszám növekedést a kontrollhoz képest (21. ábra).

⁶ Biró, Posta, Füzy, Kádár, Németh (2005): *Acta Biol. Szegediensis*; Biró, Füzy, Kádár, Posta (2006): *Trace elements in the Food Chain*, Biró B., Füzy A., Posta K. (2010) *Agrokémia és Talajtan*, 59: 175-184

A gyökérkolonizáció átlagos mértéke megközelítette a 70 %-ot, és csak a Cd terhelés okozott szignifikáns kolonizáció csökkenést a kontrollhoz viszonyítva (22. ábra).

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 arbuszkulumgazdagságra 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.



22. ábra. Nehézfémkezelés hatása 12 év után a mikorrhiza gyökérkolonizáció (M%) és az arbuszkulum gazdagság (A%) kumulatív értékeire. ($LSD^{M\%}_{5\%}=12$, $LSD^{A\%}_{5\%}=14$)

4.2. Arbuszkuláris mikorrhiza gombák és talajlakó Collembolák közötti kapcsolatok⁷

Arbuszkuláris mikorrhiza gombák és talajlakó Collembolák közötti kapcsolatban elsőként a *Sinella coeca* és a *Folsomia candida* (Collembola, Insecta) ugróvillás fajok felnőtt egyedeinek spórafogyasztását vizsgáltuk *in-vitro* kísérleti modell rendszerben. Mindkét ugróvillás faj számára két, törzsgyűjteményből származó AM gomba faj spóráját kínáltuk fel

⁷ Bakonyi, Posta et al. (2002): *Soil Biology and Biochemistry*; Seres, Bakonyi, Posta (2006): *Ecological Research*; Seres, Bakonyi, Posta (2007): *Polish Journal of Ecology*; Seres, Posta et al. (2009): *Ekologia*

táplálékként. Petri-csészékbe *Glomus mosseae* (BEG 12), illetve *Glomus intraradices* (BEG2) spórákat helyeztünk sterilizált vizes agar felszínére, majd a kifejlett állatok kerültek kihelyezésre. A spóraszám változást sztereomikroszkóp segítségével követtük nyomon, a két Collembola faj szignifikánsan eltérő spórafogyasztását megállapítva.

5. táblázat. *S. coeca* ugróvillás faj AM-gomba spórafogyasztása. A számok (3 ismétlés átlaga \pm SD) a fogyott spórák számát mutatják.

AM-gomba	Spóraszám db/petricsésze	Kontroll	<i>Folsomia candida</i>	t-teszt
<i>Glomus mosseae</i>	40	0	0,2 \pm 0,22	n.sz.
<i>Glomus intraradices</i>	50	0,2 \pm 0,22	1,4 \pm 1,09	n.sz.

***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$, n.sz.: nem szignifikáns

48 óra elteltével nem tapasztaltunk spórafogyasztást *F. candida* jelenlétekor, ugyanakkor a *Sinella coeca* ugróvillás faj tagjai a *G. mossea* spórák 45,5 %, a *G. intraradices* spórák 71,2 %-át elfogyasztották (5. táblázat).

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 egyedét 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 volt, hogy mind a két faj képes a mikorrhiza talajban történő terjesztésére (6. táblázat), de a terjesztés mértékében eltérés figyelhető meg. A *F. candida* faj hatékonyabb volt a mikorrhiza képletek átvitelében, ami minden mért paraméterben (arbuszkulum, apresszórium, internális hifa, externális hifa) megfigyelhető volt (6. táblázat).

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 bebizonyításaként, két részre osztott tenyészedény segítségével tanulmányoztuk a kukorica nitrogén-felvételét AM-gomba és ugróvillások jelenlétében. A

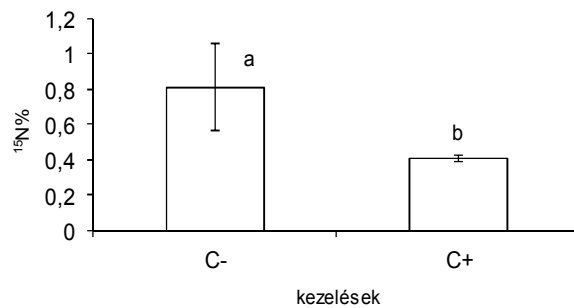
tenyészedény egységeinek elválasztását 42 µm lyuk átmérőjű háló biztosította, mely az AM-gomba externális hifáinak szabad átjutását és a növény gyökereinek elkülönítését is lehetővé tette.

6. táblázat. A kolonizáció mértéke a különböző kezelések mellett (5 ismétlés átlaga ± SD).

	Kezelések	Externális hifa	Apresszórium	Internális hifa	Arbuszkulum
1.	Ugróvillás nélkül	0,2 ± 0,1	0,0	0,0	0,0
2.	<i>F. candida</i>	2,8 ± 0,2	2,4 ± 0,3	2,4 ± 0,3	0,4 ± 0,3
3.	<i>S. coeca</i>	1,2 ± 0,2	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,2	0,0
4.	Mesterségesen oltott	3,0 ± 0,0	1,5 ± 0,3	1,8 ± 0,3	0,3 ± 0,3
Mann-Whitney U-teszt					
	1-2	**	**	**	n.SZ.
	1-3	*	**	**	n.SZ.
	1-4	*	*	*	n.SZ.
	2-3	**	**	*	n.SZ.
	2-4	n.SZ.	n.SZ.	n.SZ.	n.SZ.
	3-4	*	n.SZ.	n.SZ.	n.SZ.

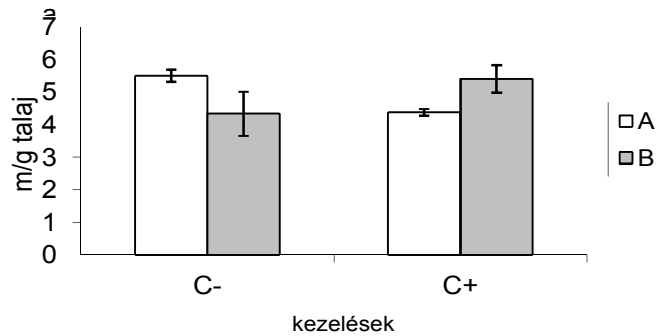
** : P<0.01, * : P<0.05, n.sz.: nem szignifikáns

Kategóriák: 0=hiányzik, 1=gyengén fejlett, 2=közepesen fejlett, 3=jól fejlett.



23. ábra. $^{15}\text{N}\%$ mennyiségének kezeléstől függő változása a hajtásban. Jelölések: C- ugróvillások nélkül, C+ ugróvillásokat tartalmazó. (p<0,05).

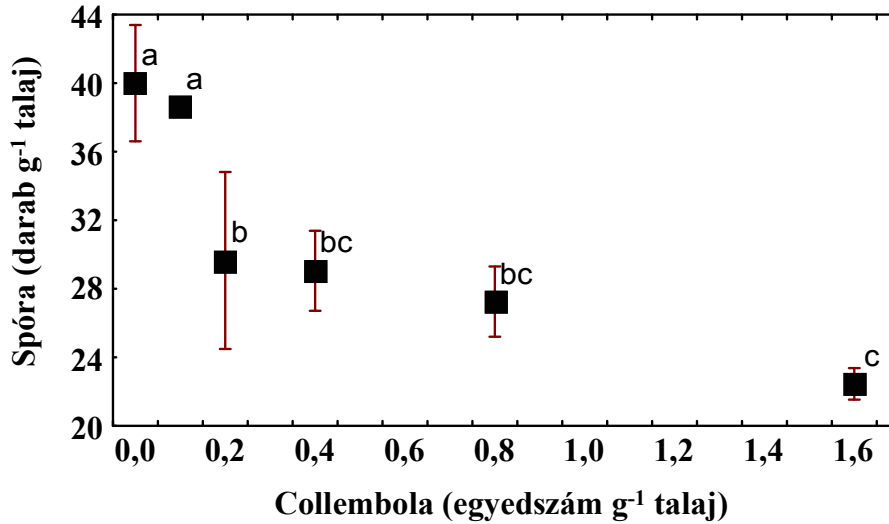
Hat héttel a mikorrhiza oltást követően ^{15}N -el jelölt ammónium-szulfátot adagoltunk a gyökérmentes részbe, és Collembolák jelenlétében illetve hiányában vizsgáltuk a kukorica N-felvételét. Eredményeink alapján megállapítható, hogy az ugróvillások (*Sinella coeca*) jelenléte csökkentette mind a kukorica növény N tartalmát (23. ábra), mind pedig és AM-gomba hifahosszát a gyökérmentes, csak hifákat tartalmazó részeken (24. ábra).



24. ábra. Hifahossz kezelésektől függő változása a talajban.

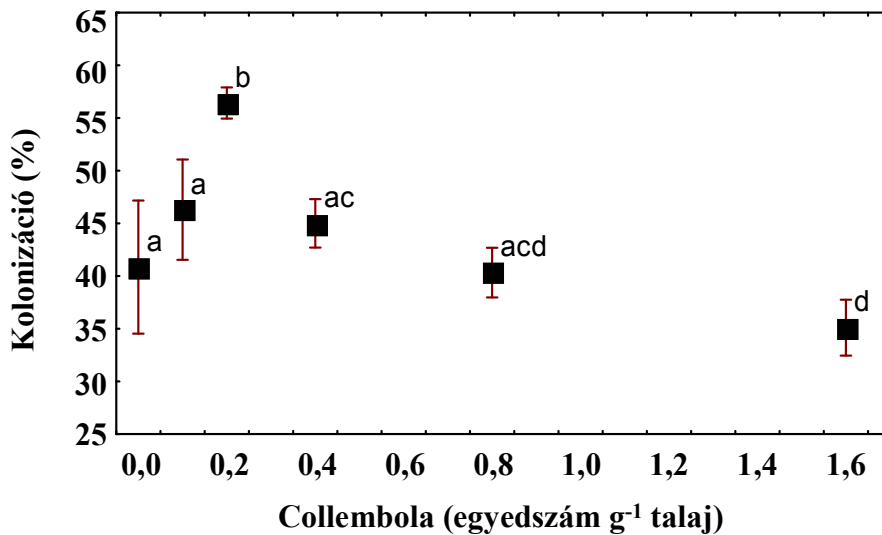
Jelölések: C-ugróvillások nélkül, C+ ugróvillásokat tartalmaz. B: gyökérrel is tartalmazó egység, A: gyökérmentes egység ($p < 0,05$).

Az ugróvillások hatása az arbuskuláris 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 arbuskuláris mikorrhiza spóra volt kimutatható a talajban, de a spóraszám a Collembolák egyedszámának növekedésével drasztikus mértékben csökkent (25. ábra).



25. ábra. A talaj 1 gramjában mért mikorrhiza spóra darabszámának változása a Collembolák mennyiségével.

A gyökérkolonizáció ugróvillások mennyiségétől függő változása ettől eltérő képet mutatott (26. ábra). A Collembolák számának növelésével 0,2 egyed g⁻¹ denzitás értékig gyors kolonizáció növekedés mutatkozott, de nagyobb egyedszám esetén a kolonizáció drasztikus mértékben csökkent.



26. ábra. Mikorrhiza kolonizációjának változása a Collembolák mennyiségével.

Az ugróvillások arbuskuláris mikorrhiza aktivitására gyakorolt hatását cinkkel szennyezett talajban is megvizsgáltuk.

Arbuszkuláris mikorrhiza gombával történt oltás jelentős mértékben befolyásolta a mikorrhiza kolonizáció mértékét, a hifahosszt és a spóraszámot (7. táblázat). Eredményeink alapján megállapítható volt, 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. A hifahossz mérésekor hasonló tendenciát figyeltünk meg.

A kis mennyiségben jelenlévő ugróvillások nem befolyásolták az AM-gomba kolonizációját, és hifahosszat, ugyanakkor csökkentették a spóraszámot a cinkkel szennyezett kezelések esetében. Az ugróvillások jelenléte mindkét Collembola egyedszám esetén csökkentette az AM- spóraszámot a szennyezett talajban.

7. táblázat. A mikorrhizált növények mikorrhizáltsági adatai a különböző ugróvillás és Zn kezelések mellett (átlag \pm SD).

Kezelések	Zn	Ugróvillás denzitás	AM-gomba kolonizáció %	Spóraszám db g talaj ⁻¹	Hifahossz m g talaj ⁻¹
N1	-	-	49,1 \pm 5,1	8,3 \pm 1,7	5,0 \pm 0,5
N2	-	alacsony	50,8 \pm 5,7	8,5 \pm 1,1	5,3 \pm 0,6
N3	-	magas	29,4 \pm 3,7	5,9 \pm 0,6	3,2 \pm 0,4
Z1	+	-	67,2 \pm 1,3	11,6 \pm 0,7	7,0 \pm 0,3
Z2	+	alacsony	62,1 \pm 1,8	4,8 \pm 0,7	7,5 \pm 0,6
Z3	+	magas	36,8 \pm 7,2	4,9 \pm 1,0	3,3 \pm 0,4
Két-utas ANOVA F-értéke					
Zn			7,58*	0,06 ^{n.sz.}	1417**
Ugróvillás			10,42***	13,23***	30,61***
Zn x Ugróvillás			0,51 ^{n.sz.}	4,95*	3,50 ^{n.sz.}
Tukey HSD (Ugróvillás hatás)					
nincs-alacsony			n.sz.	>**	n.sz.
nincs-magas			>**	>***	>***
alacsony-magas			>**	n.sz.	>***

***: p<0.001, **: p<0.01, *: p<0.05, n.sz.: nem szignifikáns

A két-utas ANOVA és a Tukey HSD post hoc teszt eredményei.

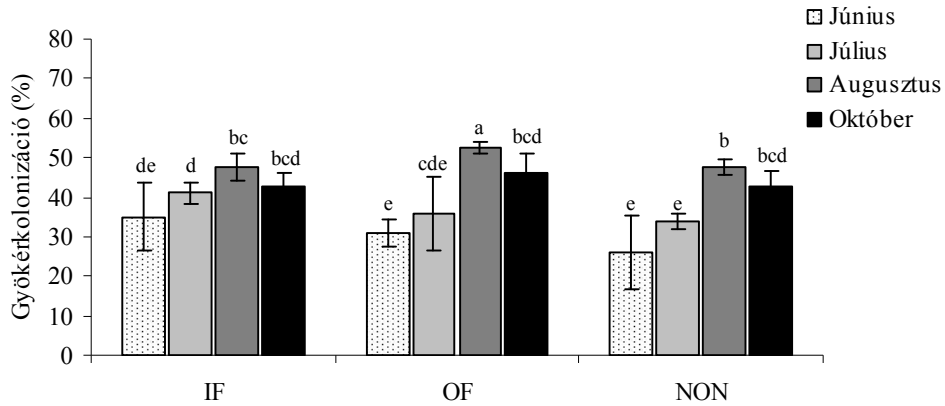
4.3. Martonvásári tartamkísérletek eredményei⁸

4.3.1. A tápanyag-utánpótlás AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata kukorica monokultúrában

A kukoricaszáras tartamkísérletből származó (3.1.1.1.) szerves (7,5 t ha⁻¹ ha kukoricaszár beforgatásos: OF) és a trágyázási tartamkísérletből származó (3.1.1.2.) szerves (a 400 kg ha⁻¹ NPK szerves műtrágyázott: IF) tápanyag-utánpótlás AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata céljából 4 mintavételi időpontban határoztuk meg a kukorica növények gyökérkolonizációjának mértékét (21. ábra), és a rizoszféra-talajok 1 grammjára vonatkoztatott AM gomba spóraszámot (27. ábra). Kontrollként a kukoricaszáras tartamkísérletből a kezelésben nem részesült (NON)⁹ parcellát választottuk ki. Az adatok statisztikai elemzése során kimutattuk, hogy a kezeléseknél és az időpontoknak is szignifikáns hatása volt a gyökérkolonizáció alakulására. A vegetációs periódus során a kontroll (NON) és a trágyázott kezeléseknél is (IF, OF) növekvő mikorrhizás kolonizáció volt mérhető, mely maximális értéket a kukorica biológiai érésének fázisában, augusztusban mutatott. Júniusban a kontroll és a trágyázott növények gyökérkolonizációs értéke átlag 30 %, októberben 42 % volt. Ebben a két időpontban nem mutattunk ki szignifikáns különbséget a kolonizációs értékekben a kontroll és a trágyázott kezelések között, míg júliusban (41%) a szerves (IF), augusztusban (52,5%) a szerves (OF) tápanyag-utánpótlásból származó növények gyökérkolonizációs értékei szignifikánsan magasabbak voltak a kontroll (NON) kezelésből származó növények ugyanazon időpontokban mért gyökérkolonizációs értékeinél (júliusban 34%, augusztusban 47%).

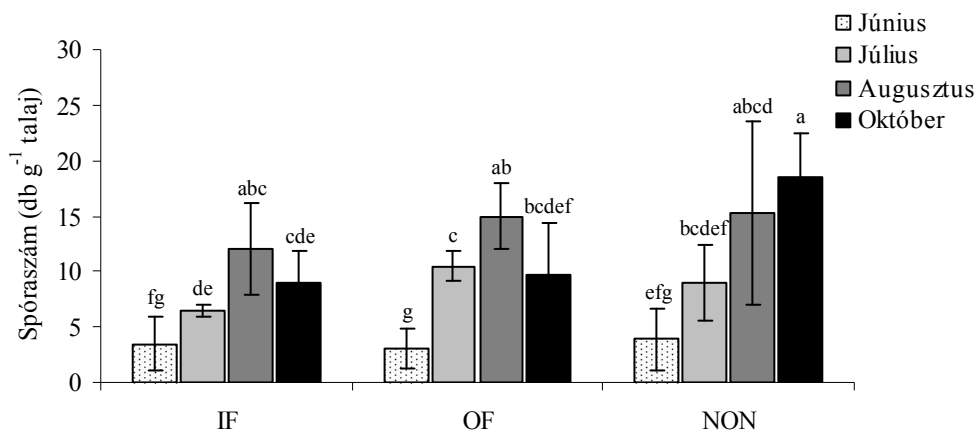
⁸ Sasvári és Posta (2010) *Spanish Journal of Agricultural Research*; Sasvári, Hornok, Posta (2011) *Biology and Fertility of Soils*; Sasvári Z., Magurno F., Posta K (2012) *Tájökológiai lapok*

⁹ Mindkét tartamkísérletnek külön kontroll (trágyázás nélküli) kezelése volt, de mivel a „Trágyázási tartamkísérletben” nagy mennyiségű szerves műtrágyát kapott parcellák voltak a kontroll parcellák közvetlen szomszédságában, nem vontuk be ez utóbbiakat a vizsgálatokba.



27. ábra. A kontroll (NON), a szerves (OF) és a szervesetlen (IF) eredetű tápanyag-utánpótlásban részesült kezelésekben gyűjtött kukorica növények gyökérekolonizációja

A rizoszféra talajok AM gomba spóraszámja is változott a vegetációs periódus során (28. ábra). Júniusban az 1 gramm talajra vonatkoztatott átlagos spóra mennyisége minden kezelésnél 3-4 db spóra volt, ami a szerves és a szervesetlen eredetű tápanyag-utánpótlásban részesült kukoricanövényeknél 12-15 spóra g^{-1} talajra növekedett augusztusra, vagyis a gyökérekolonizáció eredményeihez hasonlóan a kukorica biológiai érésekor, augusztusban mértük a legmagasabb értékeket. Szemmel is látható, hogy augusztus és október között a trágyázott kezelésekénél csökken a spóraszám, a kontrollban pedig növekszik. A kontroll parcelláknál szintén 15 db átlagos spóraszámot állapítottunk meg augusztusban, ez viszont tovább növekedett 19 db spóra g^{-1} talajra az októberi mintavételi időpontig. Októberben tehát a trágyázott kezelések rizoszféra-talajaiban szignifikánsan alacsonyabb AM gomba spóraszám volt, mint a kontroll parcellák rizoszféra-talajaiban.



28. ábra. A kontroll (NON), a szerves (OF) és a szervesetlen (IF) eredetű tápanyag-utánpótlásban részesült kezelésekben gyűjtött kukorica 1 gramm rizoszféra-talajában lévő spórák száma.

Az eltérő tápanyag-utánpótlásban részesült kukorica növények AM gombaközösségeinek molekuláris meghatározása során DNS izolálás két időpontban, kiinduláskor, júniusban valamint a legnagyobb gyökérekolonizációt mutató időpontban, augusztusban történt. Az AMV4.5F-AMV4.5R eukarióta, majd AMV4.5NF-AMV4.5NR *Glomeromycota* specifikus indítószekvenciákkal a kontroll (NON) és a trágyázott (OF, IF) kezelésekhez tartozó kukorica növények 5 különböző laterális gyökérrészből izolált 120 DNS templátról (2 mintavétel x 3 különböző tápanyag-utánpótlás x 4 ismétés x 5 laterális gyökérrész) nested-PCR módszerrel sikeresen amplifikáltuk a mikorrhiza gomba 18S rDNS gén egy részét. A kezelésként és időpontként kapott (20 pozitív PCR/kezelés/időpont) nested-PCR (~650bp) DNS szakaszainak együttes klónozását követően összesen 252 klón (42/kezelés/időpont) nukleotid sorrendjét határoztuk meg.

Nyers szekvenciák elemzése

A szekvenciák 15 %-a – az NCBI adatbázisban történő BLASTN keresés eredménye alapján – nem *Glomeromycota* eredetű szekvenciának bizonyult. Ezek közé legnagyobb számban *Blastocladiomycota* (26,5%), *Basidiomycota* és *Zygomycota* (31,5-31,5%) valamint *Chytridiomycota* (10,5%) eredetű szekvenciák tartoztak. A nem *Glomeromycota* eredetű szekvenciák 78%-át az augusztusi mintavételi időpontban végzett molekuláris vizsgálatok során kaptuk. Kimérákat 8,5%-ban találtunk, rossz minőségű szekvenciák 5,5%-ban fordultak elő. Ezeket és az összes nem AM gomba eredetű szekvenciát kizártuk a további elemzésből.

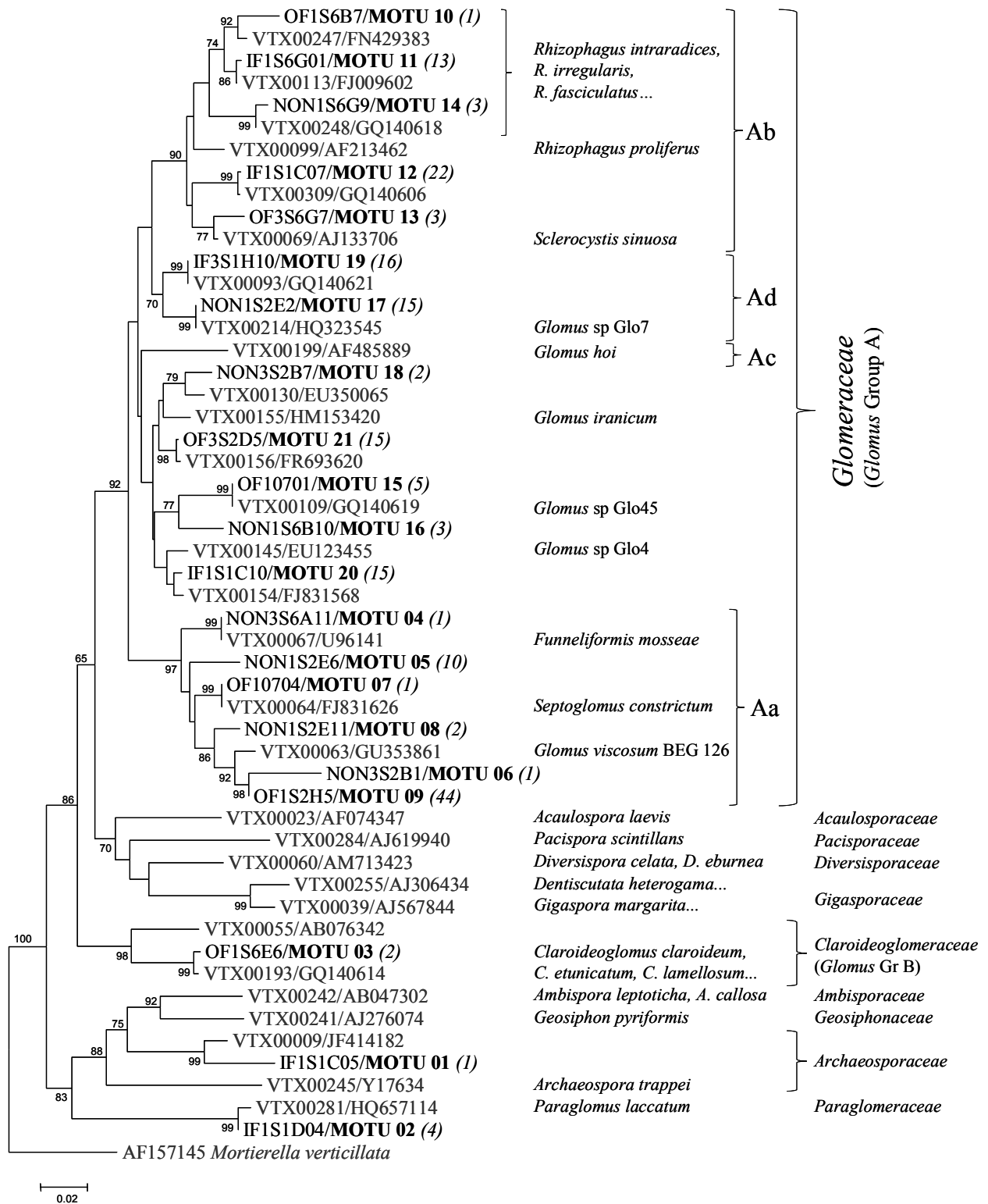
A BLASTN keresés alapján a *Glomeromycota* szekvenciák a *Glomerales* rend *Claroideoglomeraceae* családjának *Claroideoglopus*, *Glomeraceae* családjának *Funneliformis*, *Septoglopus*, *Rhizophagus*, *Sclerocystis* és *sensu lato Glomus* nemzetségeihez, az *Archaeosporales* rend *Archaeosporaceae* családjának *Archaeospora*, valamint a *Paraglomerales* rend *Paraglomeraceae* családjának *Paraglopus* nemzetségeihez tartoztak. A *Glomeromycota* szekvenciák elérhetőek az NCBI adatbázisában a GU598262-GU598313 a GU598365-GU598641 és a GU598415-GU598464 azonosító kódok alatt.

A *Glomeromycota* eredetű szekvenciák elemzése

252 szekvenciából 179 (71%) a *Glomeromycota*-khoz tartozott. A szekvenciák szerkesztését követően Mothur programmal 97%-os hasonlósági szinten 21 MOTU-t sikerült elkülönítenünk. A 21 MOTU reprezentáns szekvenciáit összevetettük a MaarjAM adatbázisban megtalálható virtuális taxonokkal. 19 szekvencia mutatott $\geq 97\%$ szekvenciaazonosságot a keresés eredményeképpen. A legmagasabb szekvenciaazonosságot

mutató virtuális taxonokhoz tartozó leírt fajok szekvenciáit referenciaként használtuk a 21 MOTU reprezentáns *Glomeromycota* 18S nrDNA szekvencia filogenetikai elemzése során (29. ábra).

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 *Glomeraceae* családon belül a szekvenciák 9,88%-a a *Rhizophagus*, 14,53%-a a *Sclerocystis* nemzetségbe (ezek a korábbi *Glomus* Group Ab), 0,56%-a a *Funneliformis*, 33,72% a *Septoglomus* nemzetségbe (ezek a korábbi *Glomus* Group Aa), 18,02%-a a *Glomus* Group Ad „fajcsoporthoz”, és 23,26%-a a *Glomeraceae* család bizonytalan rendszertani pozícióval rendelkező *sensu lato* *Glomus* nemzetségének tagjaihoz tartozott. A *Diversisporales* rendcsaládjaiból nem mutattunk ki MOTU-kat.



29. ábra. A 97%-os hasonlósági szinten elkülönített 21 MOTU reprezentáns *Glomeromycota* 18S rDNA szekvencia alapján, szomszéd-összevonás módszerrel készült konszenzus törzsfá 30 virtuális taxon bevonásával

Külcsoport: *Mortierella verticillata*. A fa szerkesztése, 1000 véletlenszerű ismétlést (bootstrap) figyelembe véve, a MEGA4 programcsomag „Neighbor-Joining” algoritmusának felhasználásával történt. A 65%-nál nagyobb bootstrap-értékek az elágazásoknál vannak feltüntetve. A távolság mátrixot a 'Kimura 2-Parameter' opcióval számítottuk. A végső adatsor 436 pozíciót tartalmazott. Skála: 0,02 szubsztitúció nukleotid pozícióként. A MOTU-kban található szekvenciák száma zárójelben, dőlttel szedve látható.

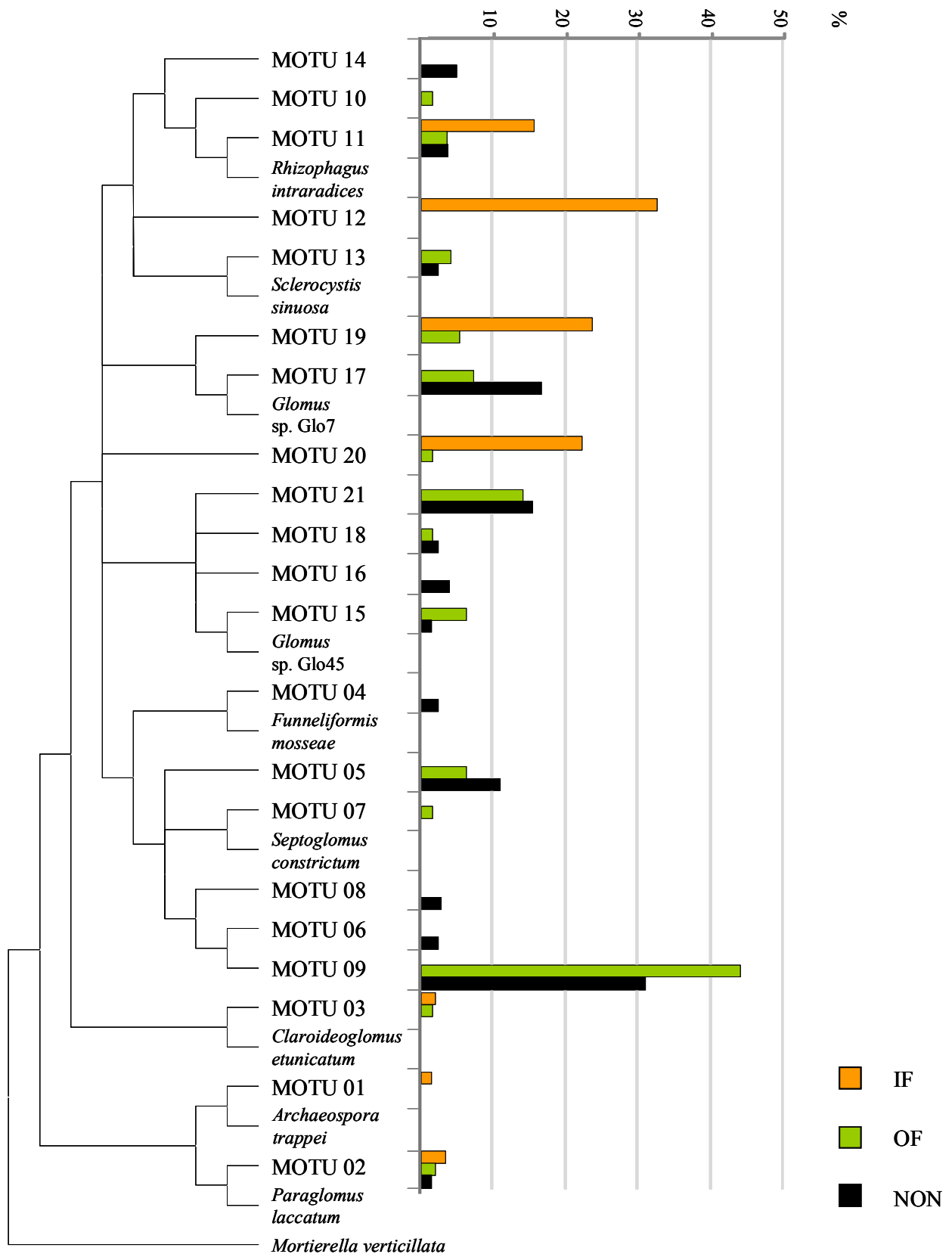
A legtöbb szekvenciát (24,58%) magába foglaló MOTU 09 a MaarjAM adatbázisban megtalálható, *Glomus viscosum* BEG 126 izolátumot képviselő VTX00063 virtuális taxonhoz tartozik, és a *Septoglomus* nemzetségben helyezkedik el. A *Glomeromycota* szekvenciák 12,29%-a a MOTU 12-ben foglal helyet, mely a *Sclerocystis sinuosa* izolátumot képviselő VTX00069 virtuális taxonhoz közel álló VTX00309-es virtuális taxonnal áll szoros filogenetikai rokonságban. A harmadik legtöbb szekvenciát (8,94%) tartalmazó MOTU 19 a *Glomus* Group Ad „fajcsoportban” elhelyezkedő VTX00214 (*Glomus* Glo7 filotípust reprezentáló) virtuális taxonnal rokon VTX00093 virtuális taxonhoz tartozik. A szekvenciák eloszlását a MOTU-kban kezelésként és mintavételi időpontoként, valamint a MOTU-k százalékos eloszlását a *Glomeromycota* szekvenciák között a Melléklet (M4) tartalmazza.

MOTU-k eloszlása a különböző kontroll és a trágyázott kezelések között

A különböző tápanyag-utánpótlást kapott kezelésekből származó MOTU-k reprezentánsainak filogenetikai elemzése információt nyújthat az AM gombák tápanyag-utánpótlás iránti érzékenységre vonatkozóan.

A 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát (IF) kapott kezelésből összesen 7 MOTU-t, a kontroll (NON) és a 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszárat (OF) kapott kezelésekből egyaránt 14-14 MOTU-t mutattunk ki. Míg a NON és az OF kezelésekből származó szekvenciák 30,74% és 43,88%-a egy ugyanazon domináns MOTU-ban, a MOTU 09-ben található, addig az IF kezelésből származó szekvenciák többsége 4 főbb abundáns MOTU-ban (MOTU 11-, 12-, 19- és 20) oszlik el (30. ábra).

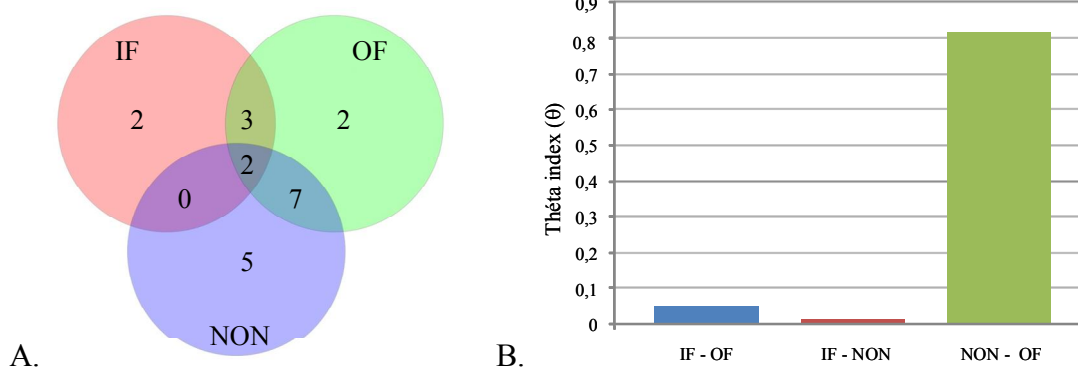
dc_469_12



30. ábra. A kontroll (NON), valamint a szerves (OF) és a szervetlen (IF) eredetű tápanyag-utánpótlásban részesült kukorica növények gyökereiből kimutatott MOTU-k %-os eloszlása.

Az AM gombaközösségek összehasonlítása

A kontroll (NON), valamint a szerves (OF) és a szervesetlen (IF) eredetű tápanyag-utánpótlásban részesült kezelések között megoszló MOTU-k számát (31.A. ábra) és a különböző kezelések páronkénti összehasonlításával kapott Théta indexeket (31.B. ábra) Mothur program segítségével határoztuk meg.

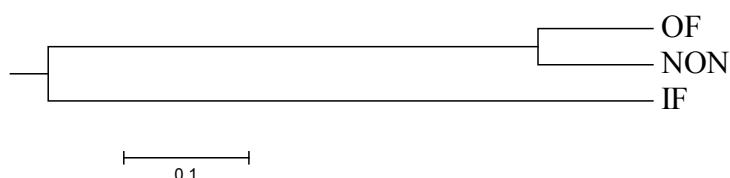


31. ábra. A kontroll (NON), valamint a szerves (OF) és a szervesetlen (IF) eredetű tápanyag-utánpótlásban részesült kezelések között megoszló MOTU-k száma (A.) és a különböző kezelések páronkénti összehasonlításával kapott Théta indexek (B.).

A kontroll (NON), valamint a szerves (OF) és a szervesetlen (IF) eredetű tápanyag-utánpótlásban részesült kezelések között megosztott MOTU-k számából látszik, hogy a kezelések között hány közös, vagy az egyes kezeléseknél hány egyedi MOTU található. A kontroll (NON) kezelésnél például 5 ritka (arányuk 5% alatt) MOTU (MOTU 04, 06, 08, 14 és 16) is megtalálható volt (lásd 31.A. ábra), melyek mind a szerves, mind a szervesetlen tápanyag-utánpótlás hatására teljesen eltűntek. Míg 3 MOTU, a MOTU 03 (*Claroideoglomus* nemzetség tagjai), a MOTU 19 (*Glomus* Group Ad „fajcsoport” egyik tagja) és a MOTU 20 (*sensu lato Glomus*) csak a tápanyag-utánpótlásban részesült kezeléseknél fordult elő. Ez utóbbi a MaarjAM adatbázisban megtalálható 145-ös virtuális taxonnal (VTX00145) áll filogenetikai rokonságban. A kontroll (NON) és a szerves (OF) kezelés 9 MOTU-n osztozott, a kontroll (NON) és a szervesetlen (IF) kezelés 2 MOTU-n, a szerves (OF) és a szervesetlen (IF) kezelések 5 MOTU-n osztoztak.

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 (OF) és a kontroll (NON) kezelések között mutatkozik. A legkisebb hasonlóság (1,52%) pedig a kontroll (NON) és a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát (IF) kapott kezelések AM gombaközösségei között figyelhető meg. A szervesetlen

tápanyag-utánpótlás hatására tehát jelentős mértékben megváltozott az AM gombaközösség összetétele. A kontroll (NON) és a trágyázott (OF, IF) kezelések AM gombaközösségeinek hierarchikus osztályozását dendrogram segítségével ábrázoltuk (32. ábra), melyen jól látszik, hogy a szerves tápanyag-utánpótlás (IF) AM gombaközössége jelentősen eltér a szerves (OF) és a kontroll (NON) kezelések közel hasonló AM gombaközösségétől.



32. ábra. A 400 kg ha^{-1} NPK szervesen műtrágya (IF), a $7,5 \text{ t ha}^{-1}$ kukoricaszár beforgatás (OF) és a kontroll (NON) kezelések AM gomba-közösségeinek Mothur programban UPGMA algoritmussal végzett hierarchikus osztályozása.

Archaeospora eredetű szekvenciát (MOTU 01) csak a szervesen trágyázott területről detektáltunk, ugyanakkor kis mennyiségben, de minden kezelésből azonosítottunk *Paraglomus* nemzetséghez tartozó szekvenciát, melyek mindegyike az MOTU 02-ben található. A másik olyan filotípus, amely minden kezelésnél jelen van, a MOTU 11, mely a *Rhizophagus intraradices* és a *R. fasciculatum* AM gombafajokat képviselő virtuális taxonnal áll szoros filogenetikai rokonságban. Ez a MOTU, igaz minden kezelésből, de többségében a szervesen tápanyag-utánpótlásból tartalmaz szekvenciát, utalva a szakirodalomból már ismert generalista jellegére. Míg a *Sclerocystis* nemzetséghez tartozó domináns MOTU 12 kizárólagosan szervesen tápanyag-utánpótlásból eredő szekvenciákat foglal magába. A *Rhizophagus* és a *Sclerocystis* nemzetségek (a kettő együtt a korábbi *Glomus* Group Ab fajcsoport) tagjai tehát megtalálhatóak voltak mind a kontroll mind pedig a trágyázott területek kukorica gyökereiben, az AM gombaközösség 47,73%-át alkották a szervesen műtrágyázott, 10,77%-át a kontroll és 9,13%-át a kukoricaszár beszántásánál. A szervesen műtrágyázott területek kukorica gyökereiben nem tudtuk *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.

Eltérő tápanyag-utánpótlásban részesült kukorica növények AM gomba-közösségeinek diverzitása

A kontroll (NON), valamint a szerves (OF) és a szervesetlen (IF) eredetű tápanyag-utánpótlásban részesült kezeléseknél külön a júniusi és az augusztusi mintavételi időpontokra vonatkoztatva is – Mothur programmal 97% hasonlósági szinten – meghatároztuk a nemparaméteres fajszámbecslő (ACE és Chao1) értékeket és a ritkasági ún. „rarefaction” görbéket, valamint a Shannon-Wiener diverzitás index (H') értékeket (8. táblázat).

A legalacsonyabb értékeket a szervesetlen eredetű tápanyag-utánpótlásnál (IF) kaptunk mind a júniusi, mind az augusztusi mintavételi időpontban (6-6 MOTU és H' : 1,64-1,82). Júniusban a ténylegesen kimutatott MOTU-k száma és a Shannon-Wiener diverzitás index értékek a kontroll (NON) és a szerves tápanyag-utánpótlásban részesült (OF) állományoknál megegyeztek (10-10 MOTU), a becsült MOTU-k számát tekintve viszont az OF felülmúlta a kontroll kezelést. Augusztusban az OF kezeléskor lecsökkent a ténylegesen kimutatott MOTU-k száma és a H' érték is, míg a kontroll esetében a lehetséges MOTU-k száma és a diverzitási index értéke is megemelkedett. Az első 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 állíthatjuk fel a kontroll (NON), valamint a szerves (OF) és a szervesetlen (IF) eredetű tápanyag-utánpótlásban részesült kezeléseik között. Míg a harmadik mintavételi időpontban mind a ténylegesen kimutatott MOTU-k alapján, mind a becsült MOTU-k alapján (mind pedig a Shannon-Wiener diverzitás index értékek alapján)¹⁰ a NON>OF>IF sorrendet állíthatjuk fel.

8. táblázat. Nemparaméteres fajszámbecslő (ACE és Chao1) értékek, a ténylegesen elkülönített MOTU-k száma és a Shannon-Wiener diverzitás index (H') értékek.

	Becsült MOTU-k száma			K/B ^a	Kapott MOTU-k száma	Diverzitás index
	ACE	CHAO	Átlag	%		Shannon (H')
IF-1	7,83	7,00	7,42	80,90	6	1,64
IF-3	7,26	7,00	7,13	84,16	6	1,82
OF-1	13,26	11,50	12,38	80,77	10	2,20
OF-3	10,75	8,00	9,38	74,67	7	1,87
NON-1	11,85	11,00	11,42	87,54	10	2,20
NON-3	29,24	17,50	23,37	42,79	10	2,38

a: a ténylegesen elkülönített MOTU-k száma és a nemparaméteres fajszámbecslő átlag értékek hányadosa százalékban

Kezelések: 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágya (IF), 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszár beforgatás (OF), kontroll (NON).
Mintavételi időpont: Június (-1), Augusztus (-3)

¹⁰ A kontroll augusztusi mintavételénél a szekvenciák száma nem elegendő, hogy rangsoroljuk augusztusban a kezeléseket Shannon-Wiener diverzitás index értékek szerint.

Az átlagolt nemparaméteres fajszámbecslő értékek (ACE és Chao1) 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. A ritkasági ún. „rarefaction” görbék telítettségét bemutató ábrákat a Melléklet (M5) tartalmazza.

A különböző kezelések mikorrhiza diverzitásra gyakorolt hatását bemutató 8. táblázat alapján megállapíthatjuk, hogy a kontroll, trágyázatlan kukorica monokultúra rendelkezett a legmagasabb diverzitás értékekkel ($H': 2,2-2,38$). A 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott (IF) kukorica monokultúrában alacsonyabb ($H': 1,64-1,82$), míg a 7,5 t ha⁻¹ ha beforgatott kukoricaszárat (OF) kapott kukorica monokultúrában kezdetben megegyező ($H': 2,2$), majd a vegetációs idő előrehaladtával szintén alacsonyabb ($H': 1,87$) AM gomba diverzitást mutattunk ki a kontroll kezeléshez képest.

4.3.2. A növényi egyedsűrűség AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata

A vizsgálatokba a „Növénytermesztési tényezők hatását vizsgáló tartamkísérletből” (3.1.1.4. fejezet) a 70.000 növény ha⁻¹ (normál, ND), illetve a 100.000 növény ha⁻¹ (magas, HD) tőszámú, a kontroll, trágyázás nélküli parcellák Norma SC hibridkukorica növényeket vontunk be intenzív kukorica monokultúrából.

A kukorica gyökerek mikorrhizáltságának vizsgálata során négy ismétlésben meghatároztuk a szimbiotikus kapcsolat erősségére utaló gyökérkolonizációk mértékét és az 1 gramm rizoszféra-talajokra vonatkoztatott AM gomba spóraszámokat, melyeknek átlag értékei a 9. táblázatban vannak feltüntetve eltérő tőszámonként.

9. táblázat. A két különböző növényi egyedsűrűségű kukorica monokultúra állományból gyűjtött növények átlagos gyökérkolonizációja és az 1 gramm rizoszféra-talajokban lévő spórák száma.

	Gyökérkolonizáció (%)	Spóraszám (db g ⁻¹ talaj)
70 000 növény ha ⁻¹ (ND)	36,50 ± 4,12	2,75 ± 0,50
100 000 növény ha ⁻¹ (HD)	37,50 ± 3,42	2,50 ± 0,58
	n.sz.	n.sz.

n.sz.: nem szignifikáns

A normál 70.000 növény ha⁻¹ (ND) és a magas 100.000 növény ha⁻¹ (HD) tőszámú parcellákról gyűjtött kukorica gyökerek kolonizációs értékei között, valamint a rizoszféra-talajok 1 grammjában található spórák számában sem találtunk szignifikáns különbséget.

A kukorica gyökereket aktívan kolonizáló AM gomba fajok azonosítása – a rRNS gének 18S konzervatív régióira Saito et. al. (2004) által tervezett oligonukleotidokkal kivitelezett – nested-PCR reakcióval történt. A 40 izolált DNS templátról (1 mintavétel x 2 különböző tőszám x 4 ismétés x 5 laterális gyökérrész) az első PCR reakcióban eukarióta specifikus AMV4.5F-AMV4.5R primerekkel ~750 bp-, majd ezt templátként felhasználva a második PCR reakcióban a *Glomeromycota* specifikus AMV4.5NF-AMV4.5NR primerekkel ~650 bp nagyságú fragmenteket kaptunk minden reakcióban, a várt méreteknél megfelelően. Összesen 80 PCR reakciót végeztünk. A ~650 bp méretű PCR fragmenteket agaróz gélelektroforézissel történő elválasztást követően visszaizoláltuk, és az ugyanazon tőszámokhoz tartató 20 pozitív PCR fragmenteket együttesen pGEM®-T Easy vektorba (3015 bp) építettük, majd *E. coli* DH5 α törzsbe transzformáltuk. A rekombináns plazmidot hordozó transzformáns telepek kiválogatását ún. „kék-fehér” szelekcióval végeztük (az IPTG és X-gal tartalmú táptalajon felnövő rekombináns plazmidot hordozó transzformáns telepek fehér színűek lettek, mivel az inszert DNS beépülése elrontja a β -galaktozidáz gént). A beépített fragment meglétét a transzformáns sejtekben kolónia PCR-rel és agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük. A 70 000 növény ha⁻¹ (ND) és a magas 100 000 növény ha⁻¹ (HD) tőszámú kukorica monokultúrákból 20-20 rekombináns plazmid nukleotidsorrendjét határoztuk meg a klónozó hely egyik oldaláról kiindulva T7 oligóval. A megszekvenált klónok adatai elérhetőek az NCBI adatbázisában az FJ794820 - FJ794852 azonosító kódok alatt. Az NCBI adatbázisban történő BLASTN keresés eredménye alapján a kapott szekvenciák 7,5%-a nem *Glomeromycota* (*Chytridiomycota*) eredetű szekvenciának bizonyult. Kimérákat 5%-ban találtunk, rossz minőségű szekvenciák szintén 5%-ban fordultak elő. Ezeket és az összes nem AM gomba eredetű szekvenciát kizártuk a filogenetikai elemzésből. 33 *Glomeromycota* szekvencia¹¹ (82,5%) került további elemzésre. A BLASTN keresés eredménye előzetes információt szolgáltatott a különböző tőszámokhoz tartozó AM gombaközösségek összetételéről, mely alapján a *Glomeromycota* szekvenciák a *Glomerales* rend *Claroideoglomeraceae* családjának *Claroideoglomerus* nemzetségéhez, valamint a *Glomeraceae* család *Septoglomerus*, *Rhizophagus* és a *sensu lato* *Glomus* nemzetségeihez tartoztak.

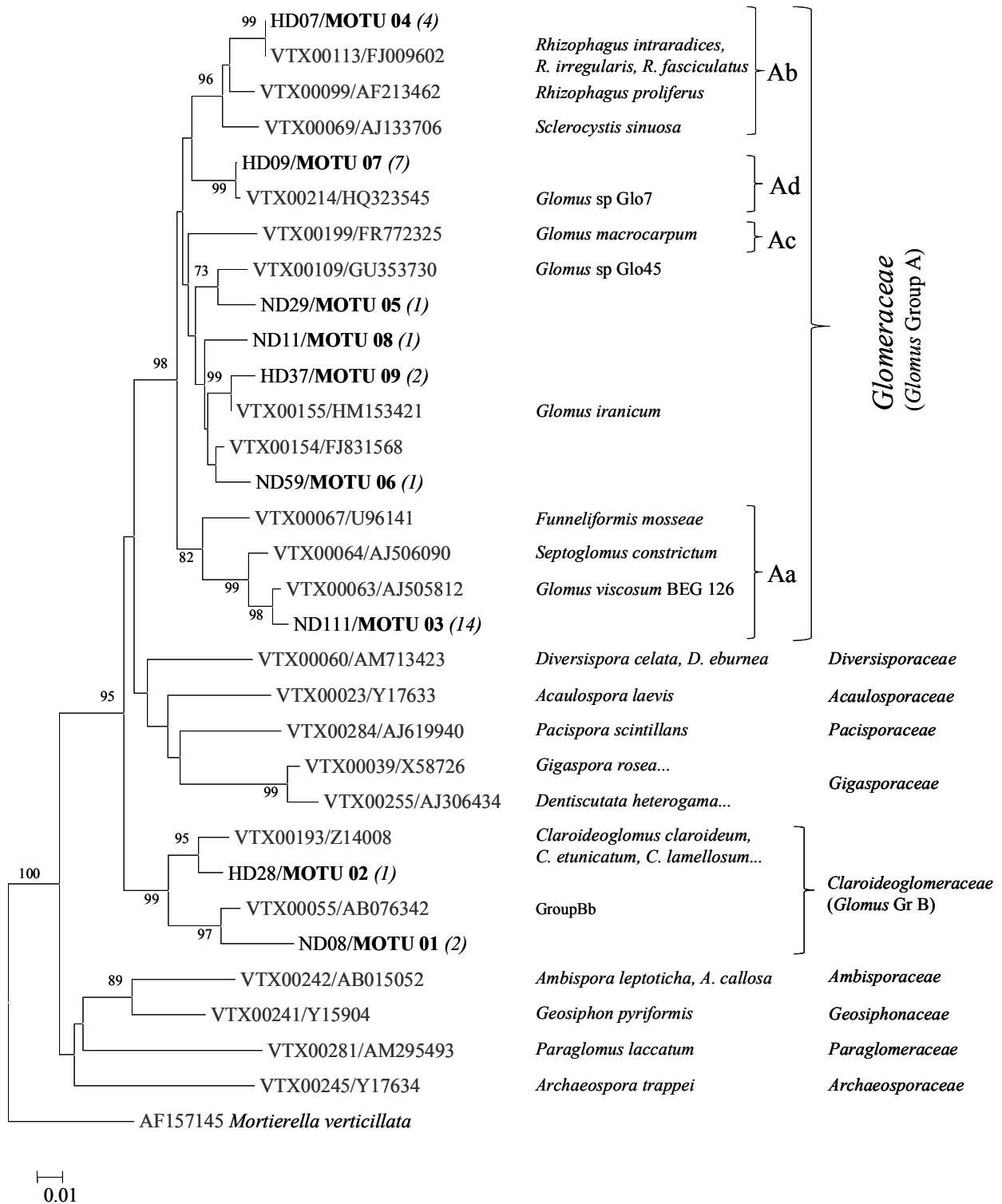
A *Glomeromycota* eredetű szekvenciák elemzése

A 33 *Glomeromycota* szekvencia szerkesztését követően Mothur programmal 97%-os hasonlósági szinten 9 MOTU-t sikerült elkülönítenünk, melyek mindegyikéből 1-1

¹¹ A normál (ND; 70 000 növény ha⁻¹) növényi egyedsűrűséghez 18, a magas (HD; 100 000 növény ha⁻¹) növényi egyedsűrűséghez 15 szekvencia tartozott.

dc_469_12

reprezentáns szekvenciát választottunk. Mind a 9 reprezentáns $\geq 97\%$ szekvenciaazonosságot mutatott virtuális taxonokkal a MaarjAM adatbázisban történő keresés eredményeképpen. A filogenetikai elemzésbe a Mothur programmal 97% hasonlósági szinten elkülönített 9 MOTU egy-egy reprezentáns képviselőjét, illetve referenciaként az ezekkel legmagasabb szekvenciaazonosságot mutató virtuális taxonokhoz tartozó leírt fajok szekvenciáit vontuk be (33. ábra).



33. ábra. A 97%-os hasonlósági szinten elkülönített 9 MOTU reprezentáns *Glomeromycota* 18S rDNA szekvencia alapján, szomszéd-összevonás módszerrel készült konszenzus törzsfá 22 virtuális taxon bevonásával

Külcsoport: *Mortierella verticillata*. A fa szerkesztése, 1000 véletlenszerű ismétlést (bootstrap) figyelembe véve, a MEGA4 programcsomag „Neighbor-Joining” algoritmusának felhasználásával történt. A 65%-nál nagyobb bootstrap-értékek az elágazásoknál vannak feltüntetve. A távolság mátrixot a 'Kimura 2-Parameter' opcióval számítottuk. A végső adatsor 429 pozíciót tartalmazott. Skála: 0,01 szubsztitúció nukleotid pozícióként. A MOTU-kban található szekvenciák száma zárójelben, dőlttel szedve látható.

A filogenetikai elemzés alapján hét MOTU (a szekvenciák 90,9 %-a) a *Glomeraceae* (korábbi *Glomus* Group A), 2 MOTU (9,1%) a *Claroideoglomeraceae* (korábbi *Glomus* Group B) családhoz tartozott. A *Glomeraceae* családon belül a szekvenciák 46,67%-a a *Septoglomus* nemzetségbe (korábbi *Glomus* Group Aa egy része), 13,33%-a a *Rhizophagus* nemzetségbe (korábbi *Glomus* Group Ab egy része), 23,33%-a a *Glomus* Group Ad „fajcsoporthoz”¹², és a maradék 16,67%-a a *Glomeraceae* család bizonytalan rendszertani pozícióval rendelkező, *sensu lato Glomus* nemzetségének tagjaihoz tartozott. A *Diversisporales*, az *Archaeosporales* és a *Paraglomerales* rend családjaiból nem mutattunk ki MOTU-kat.

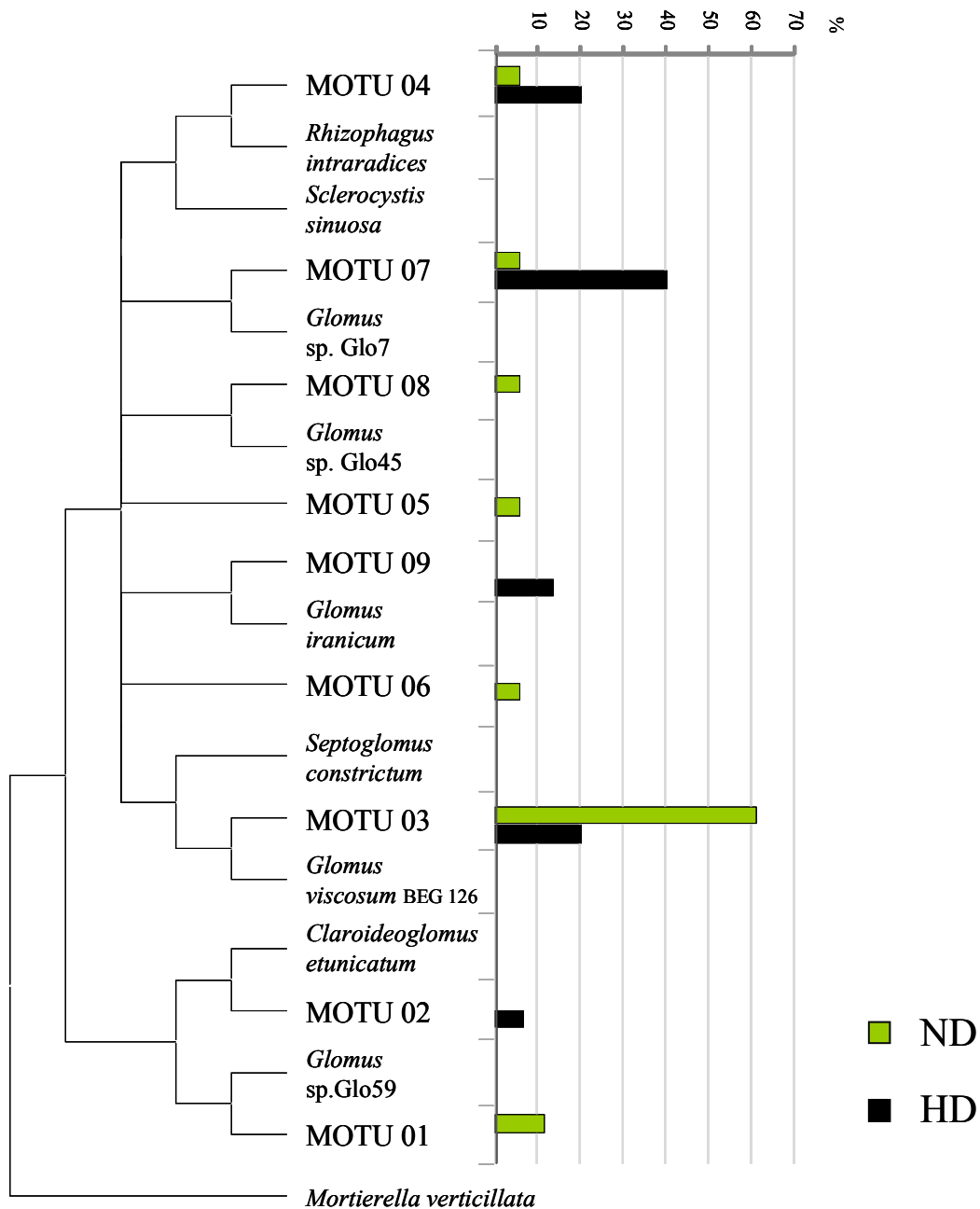
A legtöbb szekvenciát (42,42%) magába foglaló MOTU 03 a MaarjAM adatbázisban megtalálható *Glomus viscosum* BEG 126 izolátumot¹³ képviselő VTX00063 virtuális taxonhoz tartozik, és a *Septoglomus* nemzetségben helyezkedik el. A *Glomeromycota* szekvenciák 21,21%-a a MOTU 07-ben foglal helyet, mely a *Glomus* Group Ad „fajcsoportban” elhelyezkedő VTX00214, *Glomus* Glo7 filotípust reprezentáló virtuális taxonhoz tartozik. A harmadik legtöbb szekvenciát (12,12%) tartalmazó MOTU 04 a VTX00113, *Rhizophagus intraradices* izolátumot reprezentáló virtuális taxonnal áll szoros filogenetikai rokonságban.

MOTU-k eloszlása a különböző tőszámú kukorica monokultúrák között

A normál tőszámú parcellákról összesen 7 MOTU-t, míg nagyobb növényesűrűségűnél összesen 5 MOTU-t mutattunk ki (34. ábra.) A 70 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűségű állományokban az AM gombaközösség 61,11%-át (MOTU 03) a *Septoglomus* (korábbi *Glomus* Group Aa fajcsoport egy része) nemzetséghez 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 „fajcsoporthoz” tartozik, de a *Rhizophagus* és a *Septoglomus* nemzetségekhez tartozó két másik MOTU is (MOTU 04 és MOTU 03) a szekvenciák 20-20%-át foglalják magukba.

¹² A *Glomus* Group Ad „fajcsoport” jelenleg még a bizonytalan rendszertani pozícióval rendelkező *sensu lato Glomus* nemzetség tagjaihoz tartozik, ettől függetlenül a dolgozatban külön rendszertani egységként kezeljük.

¹³ DNS szekvencia elemzés alapján a *Septoglomus constrictum* izolátummal filogenetikai rokonságban álló *Glomus viscosum* BEG 126 egyértelműen különbözik az ugyanezen néven ismert *Glomus viscosum* BEG 27-től, mely utóbbi a *Claroideoglomus* nemzetséghez tartozik. Feltehetőleg két különböző AM gombáról van szó, a *Glomus viscosum* BEG 126 átnevezése és végleges rendszertani pozíciójának tisztázása még várat magára.



34. ábra. A normál, 70 000 növény ha⁻¹ (ND) és a magas, 100 000 növény ha⁻¹ (HD) tőszámú kukorica monokultúrából származó MOTU-k %-os eloszlása.

Eltérő tőszámú kukorica monokultúrák AM gomba-közösségeinek diverzitása

A 70 000 növény ha⁻¹ (ND) és a magas 100 000 növény ha⁻¹ (HD) tőszámánál is – 97% hasonlósági szinten alkalmazott Mothur programmal – meghatároztuk a nemparaméteres fajszámbecslő (ACE és Chao1) értékeket és a ritkasági ún. „rarefaction” görbéket, valamint a Shannon-Wiener diverzitás index (H') értékeket (10. táblázat). Az átlagolt nemparaméteres fajszámbecslő értékek (ACE és Chao1) és a ténylegesen elkülönített MOTU-k számát

összevetve, a kettő hányadosaként (százalékban kifejezve) kiszámítottuk, hogy az általunk kimutatott biodiverzitás hány százaléka a lehetséges biodiverzitásnak. Ebből és a ritkasági ún. „rarefaction” görbék telítettségéből következtethetünk a szekvenáltatás intenzitásának hatékonyságára is, ami alapján el tudjuk dönteni, hogy a megszekvenált klónok mennyisége elegendő volt-e a biodiverzitás feltérképezésére, így ha a görbék közel vannak a plató eléréséhez, a megszekvenált klónok számát is elegendőnek tekinthetjük.

10. táblázat. Nemparaméteres fajszámbecslő (ACE és Chao1) értékek, a ténylegesen elkülönített MOTU-k száma és a Shannon-Wiener diverzitás index (H') értékek.

	Becsült MOTU-k száma			K/B ^a	Kapott MOTU-k száma	Diverzitás index
	ACE	CHAO	Átlag	%		Shannon (H')
ND	22,00	12,00	17,00	41,18	7	1,35
HD	5,50	5,00	5,25	95,24	5	1,46

Jelölések: ND: 70 000 növény ha⁻¹, HD: 100 000 növény ha⁻¹

a: a ténylegesen elkülönített MOTU-k száma és a nemparaméteres fajszámbecslő átlag értékek hányadosa százalékban

Az általunk elkülönített és becsült MOTU-k száma is magasabb volt a normál 70 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűségű állományokban, de mivel a MOTU-kban lévő szekvenciák száma egyenletesebben oszlott meg a magas, 100 000 növény ha⁻¹ tőszám esetén, ezért ez utóbbi esetben magasabb Shannon-Wiener diverzitás index értéket kaptunk.

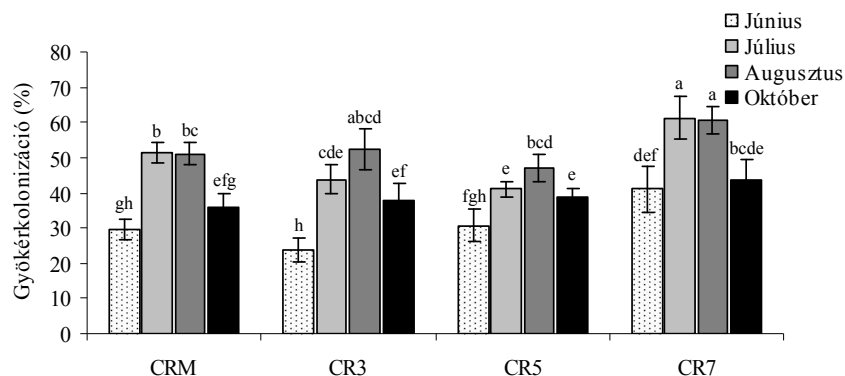
Az átlagolt nemparaméteres fajszámbecslő értékek (ACE és Chao1) és a ténylegesen elkülönített MOTU-k számának összevetése alapján elmondhatjuk, hogy a magas, 100 000 növény ha⁻¹ (HD) állománysűrűségnél sikerült az AM gomba közösség jelentős részét, 95,24%-át feltérképezni, míg a normál 70 000 növény ha⁻¹ tőszámnál (ND) ez az érték csak 41,18% volt. Ez utóbbi esetében a ritkasági ún. „rarefaction” görbe sem érte el a telítettséget (Melléklet M6), így ennél a növényi egyedsűrűségnél a megszekvenált klónok száma kevésnek bizonyult. A két tőszámhoz tartozó AM gombaközösség diverzitásának összevetésével kapott eredményeinkből így messzemenő következtetéseket nem vonhatunk le.

A normál (70 000 növény ha⁻¹; ND) és a magas (100 000 növény ha⁻¹; HD) tőszámú kukorica monokultúrákban végzett vizsgálataink eredménye alapján az általunk választott molekuláris módszereket alkalmasnak találtuk diverzitás vizsgálatok végzésére, néhány szükségszerű változtatással. A forralásos módszerrel nyert (Di Bonito et al. 1995) ún. „crude” DNS – tisztaságából és így eltarthatóságából kifolyólag – számos probléma forrásává vált, ezért a 2008-as évben vett mintáinkból a DNS izolálást a Qiagen által forgalmazott DNeasy[®] plant Mini Kit-tel végeztük, emellett törekedtünk a kezelésenkénti szekvenciaszámok optimalizálására is.

4.3.3. Monokultúra vetésforgó rendszerekkel történő összehasonlítása

A kukorica monokultúra (CRM), 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) és kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) trágyázásban nem részesült vetésforgókból¹⁴ gyűjtöttünk mintákat 4 ismétlésben, 4 mintavételi időpontban –június, július, augusztus és október -, hogy meghatározzuk a növények gyökérkolonizációjának mértékét és az 1 gramm rizoszféra-talajban lévő AM gomba spóraszámot.

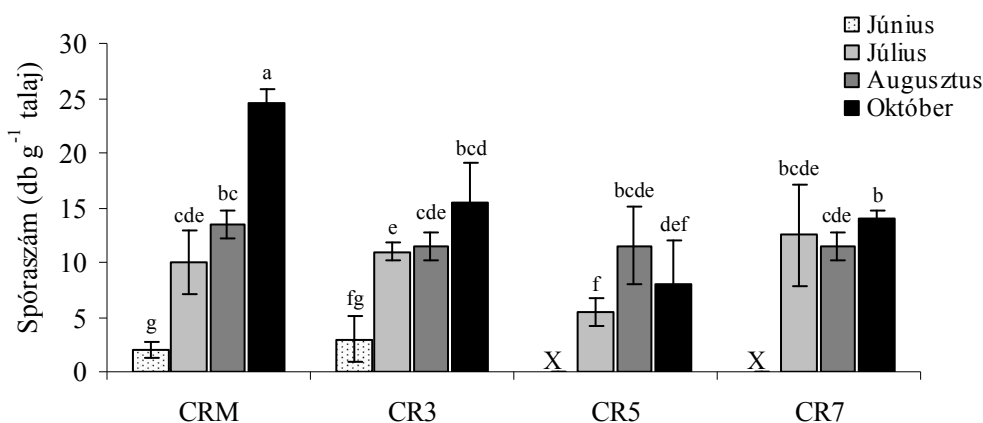
A kukorica monokultúrából és a vetésforgó rendszerekből származó növények gyökereinek kolonizációs értékei a 35. ábrán láthatóak. A mintavételi időpontoknak és a kezeléseknek egyaránt szignifikáns hatása volt mind a gyökérkolonizáció, mind a spóraszám alakulására. A legalacsonyabb kolonizációs százalékokat júniusban (CRM: 23,75% - CR7: 41,00%) a virágzásban lévő kukorica és a teljes érésben lévő búza gyökereken, valamint októberben a tarlókból származó kukorica és a búza gyökereken mértük (CRM: 35,75% - CR7: 43,75%). A Norfolk típusú (CR7) vetésforgóból származó búza növények gyökérkolonizációjának értékei – melyek a búza viaszérésében és a sárgulásában elérték a 61,25% és a 60,50%-ot is – szignifikánsan magasabbak voltak a monokultúrában termesztett kukorica növények gyökérkolonizációs értékeihez képest minden mintavételi időpontban. Júliusban a lucerna-kukorica (CR3) és a búza-kukorica (CR5) vetésforgó rendszerekből szignifikánsan alacsonyabb átlagos gyökérkolonizációs százalékokat (43,88% és 41%) kaptunk, a kukorica monokultúrából származó növények átlagos gyökérkolonizációs értékéhez (51,25%) képest.



35. ábra. A kukorica monokultúra (CRM) és a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) vetésforgókból származó kukorica növények, valamint a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgóból származó búza növények átlagos gyökérkolonizációja.

¹⁴ A megelőző évben (2007-ben) a CR3 és a CR5 vetésforgókban szintén kukorica volt soron, a Norfolk típusú vetésforgóban borsó.

Júniusban a rizoszféra-talajok AM gomba spóraszámát átlagosan 3 db spóra volt 1 gramm talajban, kivéve a CR5 és CR7 vetésforgókat, melyeknél ekkor egyáltalán nem találtunk spórát (36. ábra). Júliusban a kukorica monokultúrából (CRM) származó kukorica növények rizoszféra talajaira átlagosan 10 db spóra g⁻¹ talaj volt jellemző, ekkor csak a búza-kukorica (CR5) vetésforgóból mitattunk ki ennél szignifikánsan alacsonyabb átlagos AM gomba spóraszámot (5,5 db spóra g⁻¹ talaj). Augusztusban a kukorica monokultúra (CRM) 13,5 db g⁻¹ talaj átlagos spóraszámával rendelkezett és ettől a rotációs rendszerek egyike sem tért el szignifikánsan ebben az időpontban. Októberben minden rotációs rendszerből szignifikánsan alacsonyabb spóraszámot mutattunk ki (CR3: 15,5; CR5: 8; CR7: 14 db spóra g⁻¹), mint a kukorica monokultúrából, ahol ekkor átlagosan 24,5 db AM gomba spórát találtunk a rizoszféra talajok 1 grammjában.



36. ábra. A kukorica monokultúra (CRM) és a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) vetésforgókból származó kukorica növények, valamint a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgóból származó búza növények rizoszféra-talajainak 1 grammjára vonatkoztatott átlagos AM gomba spóraszám. X: nulla

A kukorica monokultúra (CRM) és a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) vetésforgókból származó kukorica növények, valamint a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgóból származó búza növények AM gomba-közösségeinek molekuláris meghatározását – a gyökérkolonizációs százalékok alapján – a júniusi és az augusztusi mintákon végeztük. 160 DNS templátról (2 mintavétel x 4 különböző termesztési rendszer x 4 ismétés x 5 laterális gyökérrész) nested-PCR módszerrel sikeresen amplifikáltuk az AM gomba 18S rDNS gén egy részét. A termesztési rendszerenként és időpontonként kapott 20 pozitív nested-PCR (~650bp) DNS szakaszainak

együttes klónozását követően összesen 340 klón (42-44 klón/kezelés/időpont) nukleotid sorrendjét határoztuk meg.

Nyers szekvenciák elemzése

A kapott szekvenciák 35%-a (29% a harmadik mintavételi időponthoz tartozott) – az NCBI adatbázisban történő BLASTN keresés eredménye alapján – nem *Glomeromycota* eredetű szekvenciának bizonyult. Ezek közé legnagyobb számban *Blastocladiomycota* (33%), *Basidiomycota* (22%), *Amoebozoa* (17%) és *Chytridiomycota* (15%) eredetű szekvenciák tartoztak. Kimérákat 6%-ban találtunk, rossz minőségű szekvenciák szintén 6%-ban fordultak elő. Ezeket és az összes nem AM gomba eredetű szekvenciát kizártuk a filogenetikai elemzésből. 179 AM gomba szekvencia (52%) került további elemzésre. A BLASTN keresés eredménye alapján a *Glomeromycota* szekvenciák a *Glomerales* rend *Claroideoglomeraceae* családjának *Claroideoglomerus*, *Glomeraceae* családjának *Funneliformis*, *Septoglomerus*, *Rhizophagus*, *Sclerocystis* és *sensu lato Glomus* nemzetségeihez, a *Paraglomerales* rend *Paraglomeraceae* családjának *Paraglomerus*, valamint a *Diversisporales* rend *Diversisporaceae* családjának *Diversispora* nemzetségeihez tartoztak.

A *Glomeromycota* szekvenciák adatai elérhetőek az NCBI adatbázisában a GU810731 – GU810537 azonosító kódok¹⁵ alatt.

A *Glomeromycota* eredetű szekvenciák elemzése

A 179 *Glomeromycota* szekvencia szerkesztését követően Mothur programmal 17 MOTU-t sikerült elkülönítenünk, melyekből 15 reprezentatív szekvencia mutatott $\geq 97\%$ szekvenciaazonosságot virtuális taxonokkal a MaarjAM adatbázisban történő keresés eredményeképpen, 3 – ezek 2 vagy 1 szekvenciát tartalmazó, ritka MOTU-k (arányuk 5% alatt) reprezentánsai – pedig 95-96% közötti értéket mutatott. A filogenetikai elemzésbe a Mothur programmal 97% hasonlósági szinten elkülönített 18 MOTU egy-egy reprezentáns képviselőjét és az ezekkel legmagasabb szekvenciaazonosságot mutató virtuális taxonokból egy-egy főbb taxonómiai egységet reprezentáló leírt fajok szekvenciáit vontuk be (38. ábra).

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. A *Glomeraceae* családon belül a szekvenciák

¹⁵ Az következő azonosító kódok alatt megtalálható szekvenciákat kiméra szerkezetük miatt visszahívtuk az NCBI adatbázisából, és a további elemzésekbe nem vontuk be: GU810540, GU810547, GU810554, GU810555, GU810558, GU810566, GU810568, GU810587, GU810613, GU810623, GU810626, GU810629, GU810639, GU810643, GU810661, GU810663

32,52%-a a *Rhizophagus*, 1,23%-a a *Sclerocystis* nemzetségbe (ezek a korábbi *Glomus* Group Ab), 5,52%-a a *Funneliformis*, 17,79% a *Septoglomus* nemzetségbe (ezek a korábbi *Glomus* Group Aa), 1,84%-a a *Glomus* Group Ad „fajcsoporthoz”, és 41,10%-a a *Glomeraceae* család bizonytalan rendszertani pozícióval rendelkező *sensu lato* *Glomus* nemzetségének tagjaihoz tartozott. Az *Archaeosporales* rend családjából nem mutattunk ki MOTU-kat.

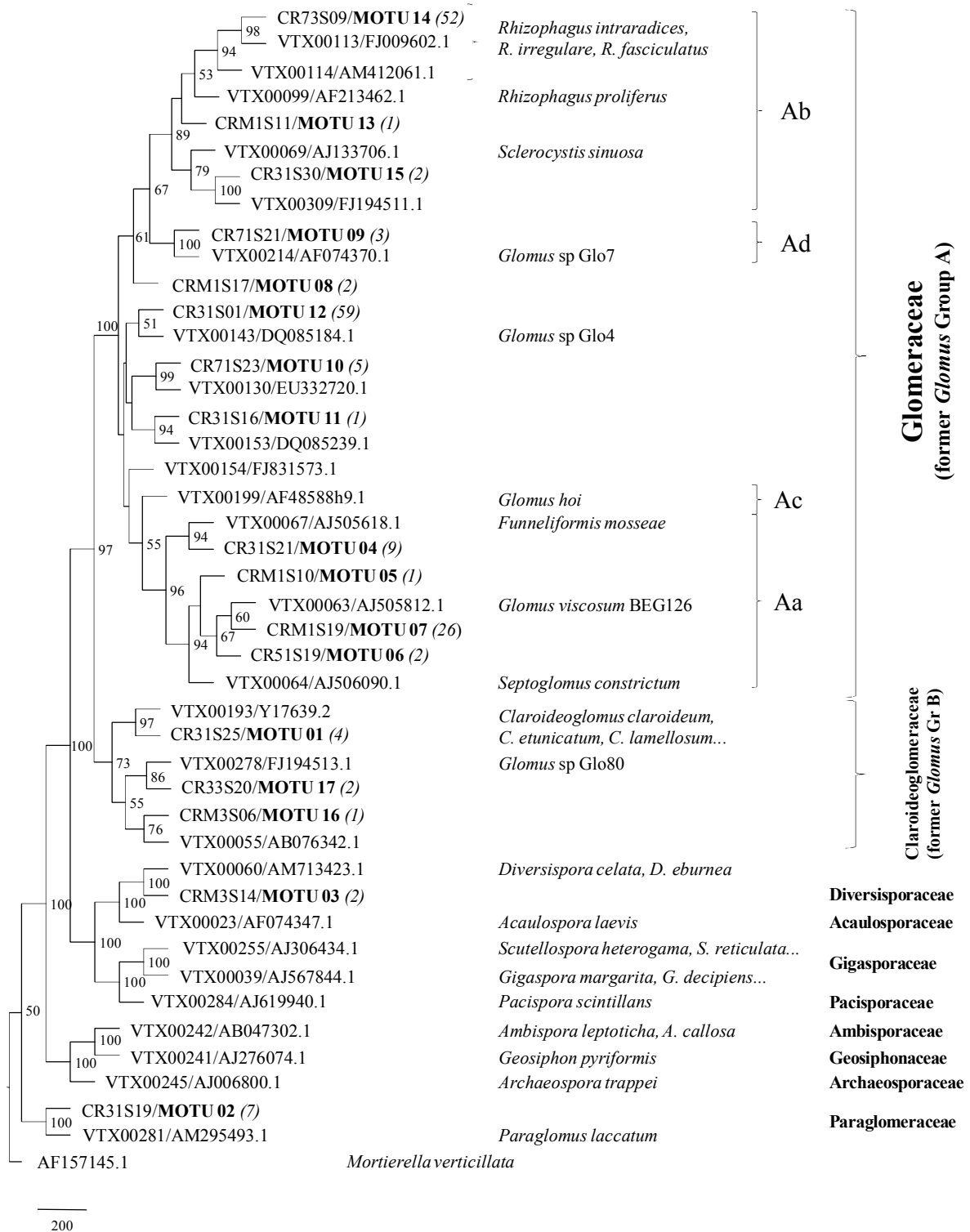
A legtöbb szekvenciát (32,96%) magába foglaló MOTU 12 a MaarjAM adatbázisban megtalálható 145-ös virtuális taxonnal (VTX00145) mutatott legmagasabb homológiát, amibe a tápanyag-utánpótlást kapott kezeléseknél már kimutatott Glo4 filotípus is tartozik. A *Glomeromycota* szekvenciák 29,5%-a a MOTU 14-ben foglal helyet, mely a VTX00113 (*Rhizophagus intraradices* és a *R. fasciculatum* izolátumokat tartalmazó) virtuális taxonnal áll szoros filogenetikai rokonságban. A harmadik legtöbb szekvenciát (14,53%) tartalmazó MOTU 07 a *Glomus viscosum* BEG 126 izolátumot képviselő VTX00063 virtuális taxonhoz tartozik, mely a *Septoglomus constrictum* izolátumot képviselő VTX00064 virtuális taxonnal együtt a *Septoglomus* nemzetségben helyezkedik el.

A szekvenciák eloszlását a MOTU-kban, valamint a MOTU-k százalékos eloszlását a *Glomeromycota* szekvenciák között a Melléklet (M7) tartalmazza.

MOTU-k eloszlása a kukorica monokultúra és a vetésforgó rendszerek között

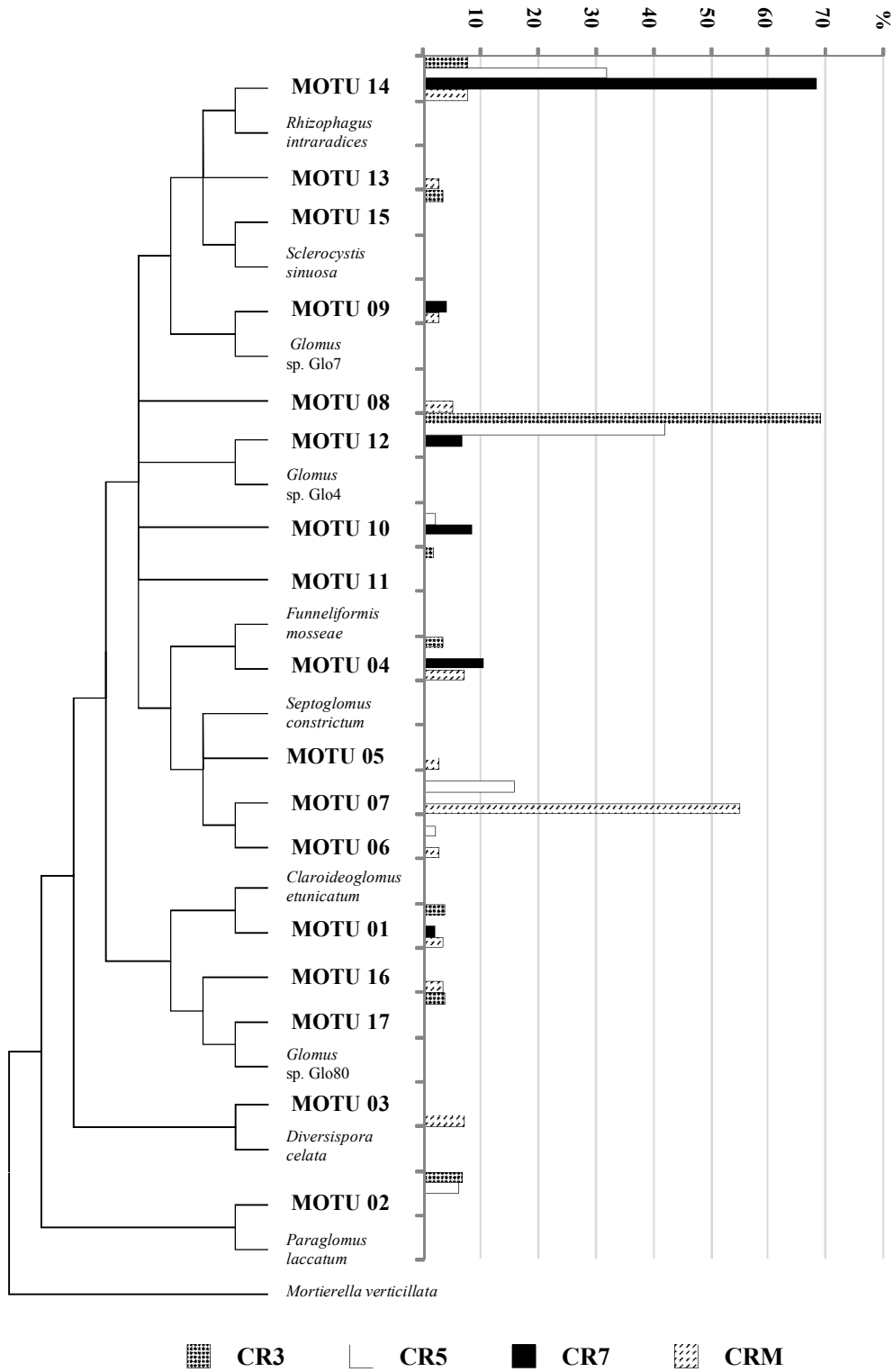
Kukorica monokultúrából (CRM) összesen 11 MOTU-t, a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3) vetésforgóból 8 MOTU-t, a 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) valamint a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgó rendszerekből 6-6 MOTU-t mutattunk ki.

Míg a CRM, a CR3 és a CR7 kezelésekből származó szekvenciák legnagyobb része – 54,89%, 68,89% és 68,33% – egy-egy domináns MOTU-ban, a MOTU 07, a MOTU 12 és a MOTU 14-ben található, addig a CR5 kezelésből származó szekvenciák nagy része ugyanezekben a MOTU-kban egyenletesebben oszlik el (38. ábra). A Norfolk típusú vetésforgónál, ahol a rotációban ekkor őszi búza volt, a legtöbb szekvenciát magába foglaló MOTU 14 a *Rhizophagus* nemzetséghez tartozik, és a *Rhizophagus intraradices* és a *R. fasciculatum* AM gombafajokat képviselő virtuális taxonnal áll szoros filogenetikai rokonságban.



37. ábra. A 97%-os hasonlósági szinten elkülönített 17 MOTU reprezentáns *Glomeromycota* 18S rDNA szekvencia alapján, szomszéd-összevonás módszerrel készült konszenzus törzsfá 27 virtuális taxon bevonásával

Külcsoport: *Mortierella verticillata*. A fa szerkesztése, 1000 véletlenszerű ismétlést (bootstrap) figyelembe véve, a MEGA4 programcsomag „Neighbor-Joining” algoritmusának felhasználásával történt. A 65%-nál nagyobb bootstrap-értékek az elágazásoknál vannak feltüntetve. A távolság mátrixot a 'Kimura 2-Parameter' opcióval számítottuk. A végső adatsor 462 pozíciót tartalmazott. Skála: 0,02 szubsztitúció nukleotid pozícióként. A MOTU-kban található szekvenciák száma zárójelben, dőlttel szedve látható.

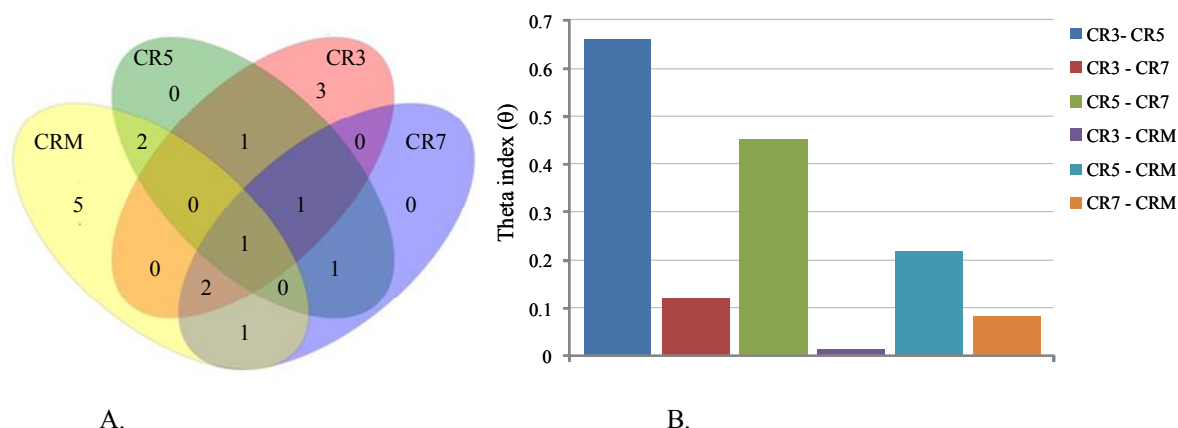


38. ábra. Kukorica monokultúrából és a vetésforgó rendszerekből származó MOTU-k %-os eloszlása

Kezelések: kukorica monokultúra (CRM), 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5), kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgók

Az AM gombaközösségek összehasonlítása

A kukorica monokultúra és a vetésforgó rendszerek AM gombaközösségei között lévő átfedések felderítését a termesztési rendszerek között megosztott MOTU-k számának megadásával (39A. ábra), mértékét a Théta indexek (θ) meghatározásával végeztük (39B. ábra) Mothur program segítségével.



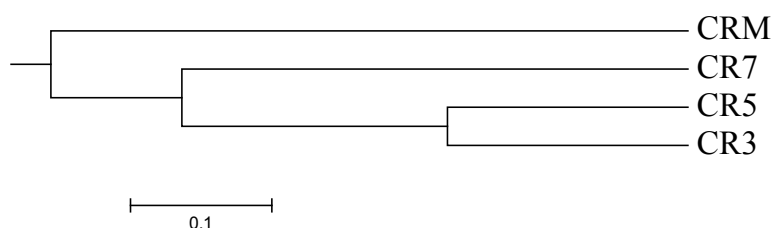
39. ábra. A monokultúra és a vetésforgó rendszerek között megosztott MOTU-k száma (A.) valamint a különböző rendszerek páronkénti összehasonlításával kapott Théta indexek (B.). Jelölések: kukorica monokultúra (CRM), 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5), kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgók (vizsgált növények: CRM, CR3 és CR5 – kukorica, CR7 – őszi búza).

Kukorica monokultúrában (CRM) 5 ritka MOTU (arányuk 5% alatt) is megtalálható volt (MOTU 03, 05, 08, 13, 16), melyeket a vetésforgó rendszerekből nem mutattunk ki. Ezek közül a MOTU 03 a *Diversispora* nemzetségbe, a MOTU 05 a *Septoglomus*, a MOTU 08 a *sensu lato Glomus*, a MOTU 13 a *Rhizophagus* és a MOTU 16 a *Claroideoglomus* nemzetségbe sorolható. A 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3) vetésforgóban három olyan, szintén ritka MOTU található, melyek csak erre a rendszerre voltak jellemzőek. Ezek a *Claroideoglomus* (MOTU 01), a *Sclerocystis* (MOTU 15) és a *sensu lato Glomus* (MOTU 11) nemzetség tagjai. A CR5 és a CR7 vetésforgó rendszerekben nem figyeltünk meg kizárólagosan jellemző MOTU-kat.

Az egyetlen MOTU, amit minden termesztési rendszerből kimutattunk, a *Rhizophagus* nemzetségbe tartozó MOTU 14 volt, mely a Norfolk típusú (CR7) vetésforgó őszi búzájának domináns AM gombaközösség alkotója is egyben.

A Théta indexek alapján a legnagyobb hasonlóság (68%) a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3) és a 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) vetésforgó rendszerek kukorica növényeinek AM gombaközösségei között mutatkozik. A legkisebb hasonlóság (1,23%) pedig

a kukorica monokultúra (CRM) és a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3) vetésforgó kukorica növényeinek AM gombaközösségei között figyelhető meg. A kukorica monokultúra (CRM) AM gombaközössége a búza-kukorica (CR5) vetésforgó kukorica növényeinek AM gombaközösségeivel mutatott nagyobb (22%) hasonlóságot. A kezelések AM gombaközösségeinek hierarchikus osztályozását dendrogram segítségével ábrázoltuk (40. ábra), melyen jól látszik, hogy a kukorica monokultúra (CRM) AM gombaközössége jelentősen eltér a három vetésforgó rendszerétől.



40. ábra. A kukorica monokultúra (CRM) és a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) vetésforgókból származó kukorica növények, valamint a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgóból származó búza növények AM gomba-közösségeinek Mothur programban, UPGMA algoritmussal végzett hierarchikus osztályozása.

Monokultúrás és vetésforgó rendszerek AM gomba-közösségeinek diverzitása

A kukorica monokultúrára és a vetésforgó rendszerekre – külön a júniusi és az augusztusi mintavételi időpontokra vonatkoztatva is – meghatároztuk a nemparaméteres fajszámbecslő (ACE és Chao1) értékeket, a ritkasági ún. „rarefaction” görbéket, valamint a Shannon-Wiener diverzitás index (H') értékeket (11. táblázat).

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. Augusztusban a kimutatott MOTU-k száma és a különböző diverzitásmutatók értékei alacsonyabbak voltak a júniusban kimutatott értékekhez képest mind a kukorica monokultúrában (CRM), mind a vetésforgó rendszerekben. 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.

A kimutatott és a becsült MOTU-k száma, valamint a divezitás indexek értékei is erőteljesen csökkentek a kukorica monokultúrától (CRM) a Norfolk típusú vetésforgó rendszerig, kiváltképpen az augusztusi mintavételi időpontban. Júniusban a CR3 vetésforgó rendszerénél (H' :1,55), augusztusban a kukorica monokultúrájánál (H' :1,25) mutattuk ki a legmagasabb AM gomba diverzitást. A 11. táblázat alapján megállapíthatjuk, hogy a kukorica monokultúra és a vetésforgó rendszerek AM gomba diverzitása a vegetációs periódus előrehaladtával is csökken.

11. táblázat. Nemparaméteres fajszámbecslő (ACE és Chao1) értékek, a ténylegesen elkülönített MOTU-k száma és a Shannon-Wiener diverzitás index (H') értékek. Kezelések: kukorica monokultúra (CRM), valamint 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) és kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgók. Mintavételi időpontok: Június (-1), Augusztus (-3). (Vizsgált növények: CRM, CR3 és CR5 – kukorica, CR7 – őszi búza)

	Becsült MOTU-k száma			K/B ^a	Kapott MOTU-k száma	Diverzitás index
	ACE	CHAO	Átlag	%		Shannon (H')
CR3-1	16,71	12,33	14,52	61,98	9	1,55
CR3-3	7,00	4,50	5,75	69,57	4	0,64
CR5-1	7,88	7,00	7,44	80,66	6	1,53
CR5-3	5,00	4,00	4,50	88,89	4	1,05
CR7-1	6,45	6,00	6,23	96,35	6	1,54
CR7-3	2,00	2,00	2,00	100,00	2	0,20
CRM-1	14,70	10,00	12,35	56,67	7	1,54
CRM-3	7,00	5,33	6,17	81,08	5	1,25

a: a ténylegesen elkülönített MOTU-k száma és a nemparaméteres fajszámbecslő átlag értékek hányadosa százalékban

Az átlagolt nemparaméteres fajszámbecslő értékek (ACE és Chao1) és a ténylegesen elkülönített

MOTU-k számának összevetése alapján a kukorica monokultúrából (CRM) augusztusban, a CR5 és a CR7 vetésforgókból júniusban és augusztusban is sikerült az AM gombaközösség nagy részét, 80-100 %-át feltérképezni. Ezeknél a termesztési rendszereknél a ritkasági görbék lefutása (Mellékelet, M8) alapján a megszekvenált klónok számát is elegendőnek tekinthetjük.

Júniusban a CRM és a CR3, augusztusban a CR3 termesztési rendszereknél az AM gombaközösség 56-70%-át térképeztük fel, de a termesztési rendszerek közötti rangsor viszont már ettől függetlenül is kirajzolódott.

4.4. Mikorrhiza oltóanyag tesztelése paprika termés hozamára és a talaj rizoszféra AM gomba közösségére¹⁶

Mikorrhiza oltóanyag paprika termés hozamára gyakorolt hatásának tesztelésekor az oltás szignifikáns növekedést idézett elő mindkét paprika fajta nedves hajtástömegében, de száraz hajtástömegre vonatkoztatva csak a Szegedi paprikánál mutatkozott szignifikáns hatás. Nedves gyökértömegben, csak a Kalocsai típusnál jelentkezett pozitív hatása a mikorrhiza oltásnak, mely a száraz gyökérre vonatkoztatva már nem volt kimutatható (12. táblázat, 1-2 képek). Az össztermés hozam mennyiségének mérésekor szignifikáns termésnövekedést tapasztaltunk a Symbivit oltóanyag használatával (12. táblázat). A termésnövelő hatás mértékében azonban jelentős eltérés volt, a Szegedi fajta több mint 60 %-os termésnövekedést produkált.



1. kép. Oltott és oltás nélküli Szegedi paprika.



2. kép. Oltott és oltás nélküli Kalocsai paprika.

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

¹⁶ Hernádi, Sasvári, Albrechtová, Vosátka, Posta (2012): *Hortscience*; Hernádi, Magurno, Sasvári, Posta (2012): *Tájökológiai Lapok*; Hernádi, Posta (2013): *International Journal of Horticultural Science*

értékeket. Meglepően magas kolonizációt találtunk a kontroll növények gyökereiben, melyek a helyi mikorrhiza populáció erőteljes aktivitását mutatják. Kezelésektől függetlenül, a vegetációs időszak előre haladásával nőtt a gyökérkolonizáció mértéke, mely szeptemberben már kismértékű csökkenést mutatott. Az általános tendencia mellett azonban kismértékű eltérés volt tapasztalható az oltott növényeknél. A mikorrhiza gombával oltott növények ugyanis sokkal egyenletesebb gyökérkolonizációs értékeket mutattak, mint a kezelés nélküli növények. A szeptemberben jelentkező csökkenő gyökérkolonizáció is kisebb mértékű volt az oltott növénynél a kontrollhoz viszonyítva.

12. táblázat. Mikorrhiza oltás hatása Szegedi és Kalocsai fűszerpaprika hajtástömegére, gyökérkolonizációjára és össz termés hozamára

Kezelések	Nedves hajtástömeg (g növény ⁻¹)		Száras hajtástömeg (g növény ⁻¹)		Gyökérkolonizáció ^x (%)				Össz termésmennyiség (g/100 növény)
	Gyökér	Hajtás	Gyökér	Hajtás	Jún.	Aug.	Szept.	Szept.	
Szegedi									
AM+	1,66a	19,32b	1,30a	13,45b	60±5	64±9	79±5	76±4	5251,27
Kontroll	1,77a	13,22a	0,97a	7,09a	38±4	59±5	70±3	58±6	3189,56
Kalocsai									
AM+	3,38b	18,69b	2,18a	11,76a	52±10	60±5	72±7	59±3	1126,11
Kontroll	2,16a	15,05a	1,48a	9,19a	40±6	42±2	67±3	58±7	1032,95

Jelölések: mikorrhiza oltóanyaggal kezelt (AM+), mikorrhiza oltóanyag nélküli kezelés (Kontroll)
^x Gyökérkolonizáció mérése négy időpontban történt. Az adatokat követő azonos betűk nem szignifikáns eltéréseket jelentek, melyet Tukey teszttel állapítottunk meg ($P \leq 0.05$). Az adatok mérése öt ismétlésben történt.

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.

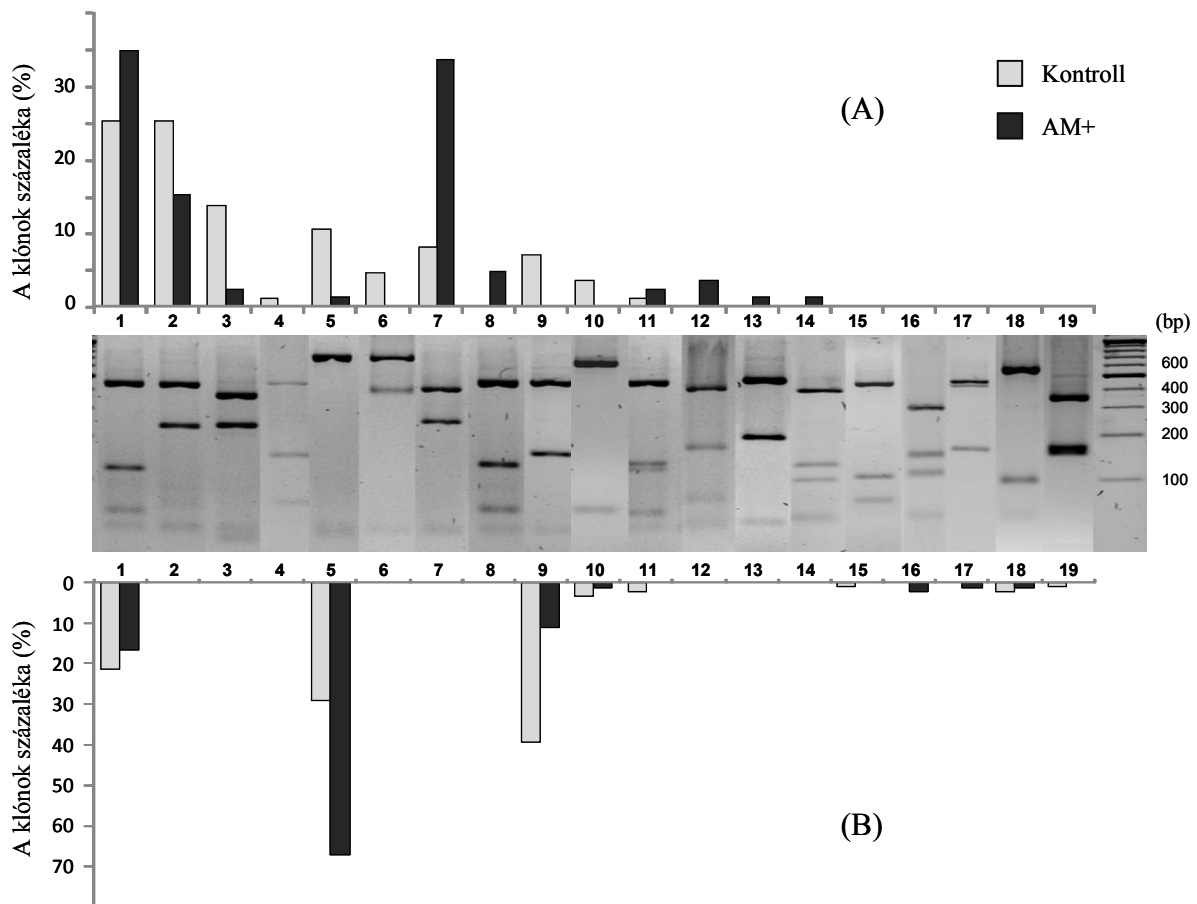
A Saito és munkatársai (2004) által tervezett primer kombináció segítségével kivitelezett PCR reakcióval felszaporított DNS szakaszt (650 bp) a gélelektroforézises futtatás után izoláltuk, klónoztuk majd restrikciós endonukleázzal emésztettük, és eltérő RFLP csoportokat hoztunk létre (41. ábra). A különböző kezeléseknél jelentkező PCR-RFLP csoportokhoz tartozó klónok százalékos arányát is meghatároztuk, melyet a 41. ábra tartalmaz.

A paprika palánták kiültetését követő hetedik héten vett mintákban 14 PCR-RFLP csoportot tudtunk kimutatni (41. ábra A). 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 olyan RFLP típusok is, melyek csak az adott kezelésre jellemzőek. Ilyenek a 4,6,9 és 10

PCR-RFLP típusok megjelenése a kontroll, valamint a 8,12,13,14 csoportoké az oltott növényeknél. Itt 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 (41. ábra. B). Augusztusban is megjelentek mindkét kezelésnél kimutatható (1, 5, 9, 10, 18), valamint a júniusi mintavételtől eltérő PCR-RFLP csoportok is. A mikorrhizával oltott növények gyökereiben új (16, 17, 18) csoportok is megfigyelhetők voltak. Az oltóanyag AM gomba közösségének PCR-RFLP képe csak két ribotípus csoportba tartozott, az 1. és 5. csoportba.



41. ábra. Szegedi paprika gyökereit kolonizáló mikorrhiza gomba fajok PCR-RFLP csoportjainak százalékos aránya júniusi (A) és augusztusi (B) mintavételi időpontban.

A PCR termékeket arbuszkuláris mikorrhiza specifikus primerpárokkal történő amplifikálása (AMV4.5NF–AMV4.5NR) után B_{Su}R1 restrikciós enzimmal emésztettük, majd gélelektroforézis segítségével szétválasztottuk.

Jelölések: mikorrhiza oltóanyaggal kezelt (AM+), mikorrhiza oltóanyag nélküli kezelés (Kontroll)

4.5. Arbuskuláris mikorrhiza oltóanyag tesztelése gyökeres muskátli dugványokon¹⁷

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.

4.5.1. AM gombák hatása kiinduláskor alkalmazott oltáskor

A muskátli termesztéshez használt ültetőközegben neveltünk gyökeres muskátli dugványokat, melyeket kiindulási állapotban arbuskuláris mikorrhiza gombákat tartalmazó oltóanyaggal kezeltünk, majd üvegházi körülmények között hat héten át neveltünk. Az oltást követő negyedik hét után már eltérés mutatkozott a kezelt növények között, mely a tápelem utánpótlásban nem részesült (OSM-) növényeknél volt szembetűnő (3. és 4. képek). A kezelések közötti különbség a tápanyagutánpótlásban részesült növényeknél csak a virágzási időszakban volt erőteljes, az oltott növények pár nappal korábban kezdtek virágozni és több virágot hoztak.

Az oltás eredményességét a gyökerek festése után állapítottuk meg. A mikorrhiza kezelés nélküli (AM-) növényeknél nem tudtunk mikorrhizára utaló képleteket kimutatni. Az oltott muskátli dugványoknál, a tápelem utánpótlástól (OSM+, OSM-) függetlenül alacsony, 10 % alatti gyökérekolonizációt mértünk az oltást követő hatodik héten, és nem találtunk szignifikáns eltérést az oltott növények kolonizációjában (13. táblázat).

A mikorrhiza oltás (AM+) és tápelem utánpótlás (OSM+) egyaránt hajtás és gyökér növekedését idézett elő, de a kezelések együttes hatása nem volt szignifikáns (13. táblázat). 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.

¹⁷ Csima, Hernadi, Posta (2012): Agricultural And Food Science



3. kép. Mikorrhizával oltott (bal oldal) és hiánytüneteket mutató oltás nélküli muskátli növény tápanyagban szegény közegben.



4. kép. Mikorrhizával oltott (bal oldal) és oltás nélküli muskátli növény virágzáskor.

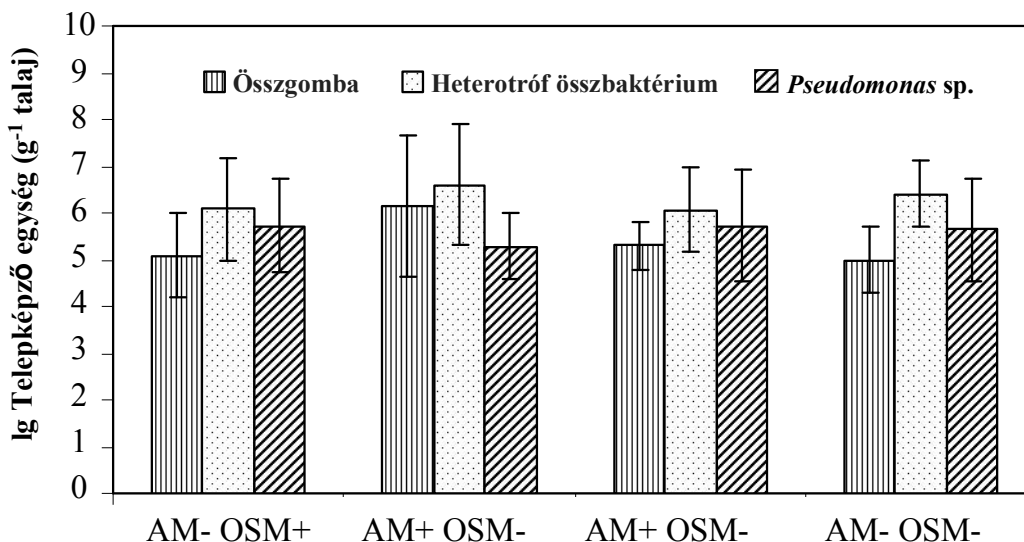
13. táblázat. Kiinduláskor alkalmazott mikorrhiza-oltás hatása gyökeres muskátli dugványok növekedésére és a hajtás P, N és K koncentrációjára

Kezelések	Szárak tömeg [g növény ⁻¹]		Elem-koncentráció [g (kg DW) ⁻¹]			Kolonizáció [%]
	Gyökér	Hajtás	N	P	K	
AM-OSM+	0,43 c	1,63 b	14,25 b	3,42 b	3,42 a	0
AM+OSM-	0,37 b	1,45 b	14,00 b	3,17 b	4,40 b	9,00 a
AM+OSM+	0,56 d	2,28 c	18,00 c	3,30 b	4,57 b	8,25 a
AM-OSM-	0,24 a	1,05 a	10,75 a	2,20 a	3,12 a	0
AM hatása	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
OSM hatása	p<0,001	p<0,001	p<0,001	n.sz.	n.sz.	n.sz.
AM x OSM hatása	n.sz.	n.sz.	n.sz.	n.sz.	n.sz.	n.sz.

Jelölések: Muskátli dugványok tápelem utánpótlású közegben (OSM+) illetve tápelemutánpótlás nélküli közegben (OSM-); Symbivit oltóanyaggal oltva (AM+) vagy mikorriza oltóanyag nélküli (AM-).

A kezelések hatását két tényezős ANOVA statisztikai módszerrel elemeztük. Az eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek a kezelések között, melyeket egy tényezős varianciaanalízissel állapítottunk meg, Tukey teszt alapján (P<0.05).

A különböző kezeléseknek néhány rizoszféra mikroorganizmusra gyakorolt hatásának mérését klasszikus mikrobiológiai módszerrel, különböző táptalajok használatával végeztük, melynek eredményeit a 42. ábra mutatja. Eredményeink alapján megállapítható volt, hogy a kezelések (AM gomba-oltás, tápelem utánpótlás) nem idéztek elő klasszikus módszerekkel mérhető változásokat a heterotrof öszbaktérium, öszgomba valamint *Pseudomonas* sp. telepképző egységek mennyiségében (CFU).



42. ábra. Különböző kezelések hatása a rizoszféra összgomba és heterotróf összbaktérium valamint *Pseudomonas sp.* telepképző egységére (CFU) vonatkoztatva.

Jelölések: Muskátli dugványok tápelem utánpótlású közegben (OSM+) illetve tápelemutánpótlás nélküli közegben (OSM-); Symbivit oltóanyaggal oltva (AM1+) vagy mikorrhiza oltóanyag nélküli (AM1-).

4.5.2. AM gombák hatása az átültetéskor alkalmazott oltáskor

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 (14. táblázat). Meglepő módon a tápelem hiányos szubsztrátban nevelt növény oltásával hasonló mértékű gyökérkolonizációt tudunk elérni, mint a mikorrhizált növény átültetéskor 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 növényenél alkalmaztuk a plusz-oltást (14. táblázat). 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 típusú oltott növényenél.

14. táblázat. Átültetéskor alkalmazott mikorrhiza-oltás hatása muskátli növekedésére és a hajtás P, N és K elemek koncentrációjára.

Kezelések	Száras tömeg [g növény ⁻¹]		Elem-koncentráció [g (kg DW) ⁻¹]			Kolonizáció [%]
	Gyökér	Hajtás	N	P	K	
AM1-OSM+	2,27 c	3,55 c	14,75 bc	2,85 c	5,37 b	0
AM1-OSM+AM2+	1,82 c	3,22 c	15,75 c	3,05 c	4,85 b	34,25 a
AM1-OSM-	1,00 b	1,40 b	10,25 a	1,70 a	4,27 a	0
AM1-OSM-AM2+	1,05 b	1,24 a	14,25 b	2,22 b	4,25 a	55,50 c
AM1+OSM-	0,72 a	1,83 b	13,25 b	2,07 b	5,02 b	35,25 a
AM1+OSM-AM2+	0,75 a	0,98 a	16,25 c	2,27 b	4,42 b	52,25 c
AM1+OSM+	2,66 d	4,28 d	12,25 b	4,52 e	4,90 b	46,75 b
AM1+OSM+AM2+	2,62 d	3,89 d	18,50 d	3,22 d	4,62 b	55,00 c

Jelölések: Muskátli dugványok tápelem utánpótlású közegben (OSM+) illetve tápelemutánpótlás nélküli közegben (OSM-); Symbivit oltóanyaggal oltva (AM1+) vagy mikorrhiza oltóanyag nélküli (AM1-). Az átültetésnél alkalmazott Symbivit kezelésre a tápelemutánpótlás jele utáni AM2+ jelölés utal (AM1-OSM+AM2+, AM1-OSM-AM2+, AM1+OSM-AM2+, AM1+OSM+AM2+).

A gyökér száras tömegében nem idézett elő szignifikáns hatást az átültetésnél alkalmazott mikorrhizaoltás, ha az azonos tápelem ellátottsági körülményeket hasonlítjuk össze. Az AM1-OSM- kezelésnél alkalmazott plusz AM oltás (AM2+) azonban szignifikáns gyökértömeg csökkenést eredményezett. Ezzel ellentétben, az OSM+ közegben lévő mikorrhizált növényeknél a plusz mikorrhiza oltás megnövelte a gyökértömeget.

A kálium koncentráció változását nem befolyásolta a post-inokulálás, de tápelem hiányos közegben (OSM-) a már kezdetben is mikorrhizált növénynél szignifikáns K koncentráció növekedést értünk el plusz AM oltással. Az átültetésnél alkalmazott mikorrhiza oltás minden kezelésnél megnövelte a hajtás nitrogén koncentrációját.

A hajtás foszfor koncentrációjának változása eltérő volt az átültetéskor alkalmazott plusz mikorrhiza oltásra. Az AM1-OSM- kezelésnél megnövelte, és az AM1+OSM+ növényeknél csökkentette a foszfor koncentrációt. A tápelemben gazdag közegben nevelt nem mikorrhizált növényeknél a plusz AM-oltás foszfor koncentráció növekedést okozott az AM1-OSM+AM2+ kezeléshez képest.

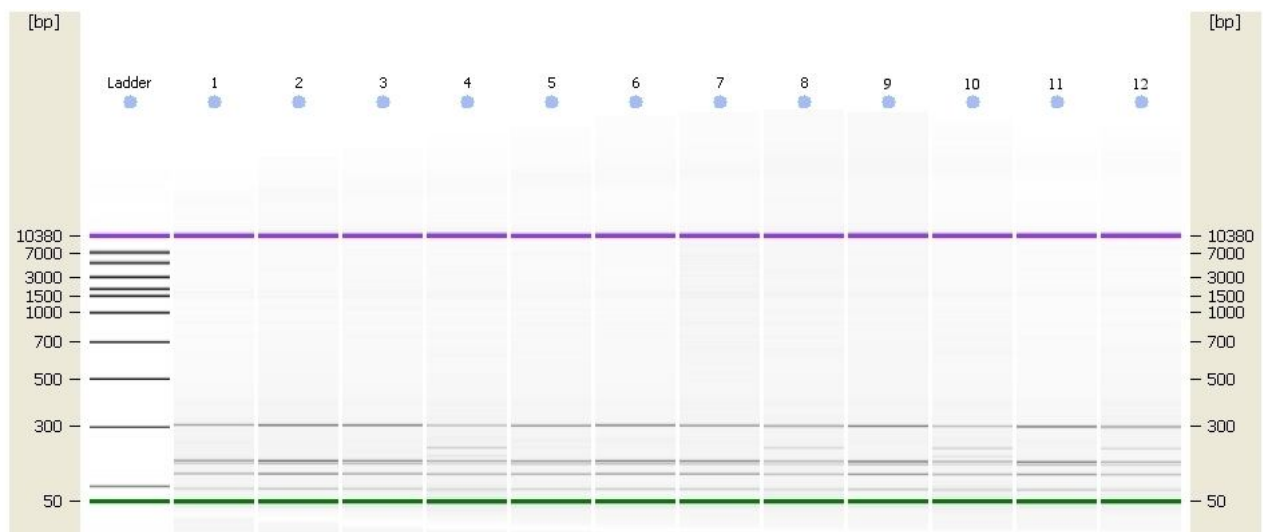
Mikorrhiza oltás hatása a közeg baktérium populációjára

A mikorrhiza oltásnak és tápelem utánpótlásnak a rizoszféra baktérium közösségében előidézett változásait molekuláris módszerrel is nyomonkövettük, az oltás követő hatodik és az átültetést követő újabb hatodik hét után.

A prokarióták kimutatására alkalmas primerpárral (27f és 534r) PCR reakciót végeztünk, és a várt méretnek megfelelő, körülbelül 500 - 550 bázispár méretű ampifikátumokat kaptunk. A kezelésekhez tartozó ampifikátumok tisztítása után két restrikciós enzimmel történő emésztés

után kapilláris elektroforézises futtatás képe alapján elemeztük azok mintázatát. A 300 bp méretű fragmentumok jelenléte mellett még legalább négy kisebb méretű fragment is kimutatható volt, melyek minden kezelésnél egyaránt jelentkeztek (43. ábra).

A tápelemhiányos közegben nevelt növények rizoszférájának baktérium közösségeinek 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+).



43. ábra. Különböző kezelések hatása a rizoszféra baktérium populáció PCR-RFLP profiljára.

Jelölések: L: Létra, 1-4 csatornában az oltást követő hatodik héten izolált minták 1: AM1-OSM+; 2: AM1-OSM-; 3: AM1+OSM+; 4: AM1+OSM-; 5-12 csatornában az átültetést követő hatodik(összesen 12.hét) héten izolált minták 5: AM1-OSM+; 6: AM1-OSM-; 7: AM1+OSM+; 8: AM1+OSM-; 9: AM1-OSM+AM2+; 10: AM1+OSM-AM2+; 11: AM1+OSM+AM2+; 12: AM1-OSM-AM2+

Muskátlí dugványok tápelem utánpótlású közegben (OSM+) illetve tápelemutánpótlás nélküli közegben (OSM-); Symbivit oltóanyaggal oltva (AM1+) vagy mikorrhiza oltóanyag nélküli (AM1-). Az átültetésnél alkalmazott Symbivit kezelésre a tápelemutánpótlás jele utáni AM2+ jelölés utal (AM1-OSM+AM2+, AM1-OSM-AM2+, AM1+OSM-AM2+, AM1+OSM+AM2+).

5. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA, JAVASLATOK

Az arbuszkuláris mikorrhiza gombák foszfor- (Posta és Füleky 1997) és mangánfelvételben (Posta et al. 1994) betöltött szerepének vizsgálatáról született eredményeimet kandidátusi disszertációmban már bemutattam. Dolgozatomban most eltérő termesztés-technológiai beavatkozások valamint nehézfém stressz arbuszkuláris mikorrhiza gomba aktivitására gyakorolt hatását ismertetem. Külön figyelmet szentelve annak, hogy a tartamkísérletekben alkalmazott eltérő agrotechnikai módszerek milyen hatással vannak a mikorrhiza gomba közösség összetételére, illetve milyen tényezők befolyásolják a mikorrhiza oltóanyag eredményességét (Collembolák jelenléte), és hogyan lehet ezeket az új módszereket beépíteni a kertészeti technológiákba (paprika, muskátli).

Tizenkét évvel a mesterségesen előidézett fém-szennyezés után vizsgáltuk a talaj természetes mikorrhiza gomba közösségében bekövetkező változásokat, tenyészedény kísérletben. Eredményeink arra utalnak, hogy 12 év elegendő volt a fémekkel szemben toleráns arbuszkuláris mikorrhiza gombák megjelenéséhez, mely biztosította a szimbiózis kialakulását és megerősödését még nehézfémekkel szennyezett talajban is. Kísérletünkben nem vizsgáltuk a nehézfémek mikorrhiza diverzitásra kifejtett hatását, Takács et al. (2000) vizsgálatai szerint azonban kadmiummal, nikkellel és cinkkel szennyezett talajokban a *Glomus* fajok dominálnak.

A mikorrhiza gombák szerepe a növény fémtűrő-képességének fokozásában nem teljesen feltárt, de bizonyított, hogy a különböző AM képletek eltérő érzékenységet mutatnak a fémionok iránt. Az obligát AM gomba életciklusa ugyanis két részre osztható: (i) a preszimbiotikus fázisra, amely a spóra csírázását és a hifa növekedést foglalja magába, valamint a (ii) szimbiotikus fázisra, mely a gomba gyökérbe történő bejutását és az ún. szimbiotikus külső micéliumhálózat növekedését jelenti, melybe beletartozik még a spóráképződés is. Tapasztalat szerint az AM spóra csírázása érzékeny a fémterhelésre, különösen akkor, ha a spórák nem szennyezett területről származnak. Annak ellenére, hogy kísérletünkben több év telt el a szennyezés óta, a spóráképződés és arbuszkulum gazdagság érzékenyebbnek bizonyult a fémterhelésre, mint a gyökérkolonizáció mértéke. A mikorrhiza gombák adaptációjának köszönhetően a fémszennyezés már nem okozott hajtásredukciót, ami a mikorrhiza gombák bioremediációban betöltött szerepére hívja fel a figyelmet (Takács 2012, Vivas et al. 2003, Vivas et al. 2003a, Vivas et al. 2006). Az arbuszkuláris mikorrhiza gombák gyakorlati felhasználásának első lépése olyan toleráns törzsek izolálása, melyek a

talaj magas nehézfém koncentrációjánál is biztosítják a mikorrhiza kapcsolat kialakítását, a szennyezett területre telepített növények megfelelő fejlődését (Simon és Bíró 2005). Eredményeink így segíthetnek új típusú, a nehézfémekkel szennyezett területek kezelésére alkalmas mikorrhiza oltóanyag kifejlesztésében.

Gyakran tapasztalható, hogy a terméshozam fokozására és/vagy a növények jobb víz- és tápanyag ellátásának elősegítésére kijuttatott AM-gombák bekerülve a talaj táplálékhálózatába másképpen viselkednek, mint egy ellenőrzött laboratóriumi kísérletben, ahol csak a gazdanövény és az AM-gombák a kísérlet szereplői. Az eltérő eredmények kialakításában valószínűleg szerepet játszanak a talajközösség más tagjai is, köztük a *Collembola* fajok. Feltételezésünk igazolása több lépésben történt. Elsőként a *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 arbuskuláris mikorrhiza gomba táplálékfogyasztási eredményeket, mely szerint ez a faj is elfogyasztja a *Glomus mossea* és *Glomus intraradices* spóráit.

Az ugróvillások a spórák mellett a hifák megrágásával, fogyasztásával feldarabolják az egységes hifahálózatot, mely a tápelemek és víz felvételének átmeneti csökkenését idézheti elő. Jelölt ¹⁵N izotóp használatával bizonyítható volt, hogy a kukorica N-felvétele csökkent *S. coeca* jelenlétében. További eredményeink egyértelműen igazolták, hogy a Collembolák jelenléte nemcsak a nitrogén, hanem a zink felvételére is hatással van, és a folyamat egyedszám denzitás függő.

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), ami a legnagyobb mértékű mikorrhizáltságot és növényi növekedést biztosít, minthogy az ugróvillások a gombafogyasztás mellett részt vesznek a mikorrhizáltság terjesztésében is. Eredményeink alapján nem tudjuk pontosan megnevezni az átvitelben domináns szerepet betöltő mikorrhiza képletet, de az ugróvillások mikorrhiza átvitelben betöltött jelentőségét egyértelműen bizonyítottuk. A mikorrhiza átvitelének intenzitásában azonban a vizsgált ugróvillás fajok jelentős eltérést mutattak: a *F. candida* faj hatékonyabbnak bizonyult, mint a *S. coeca* ugróvillás faj. Mindez első pillanatban meglepő, mivel a *F. candida* nem fogyasztotta a mikorrhiza spórákat az etetési kísérletben. A Collemboláknak a mikorrhiza átvitelben betöltött szerepe azonban nem szűkíthető le csak a táplálkozáskor a bélcsatornán átjutó és életképes képletekre. Ebben a folyamatban az állatok külső morfológiai különbségei,

táplálkozási szokásai illetve aktivitásbeli eltérések is szerepet játszanak, mely magyarázhatja eredményeinket.

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 zöldség és gyümölcs előállítását. Habár a külföldi szakirodalomban egyre több információt találunk az AM gombákkal történő oltás kertészeti technológiákba történő beillesztéséről, Magyarországon igen kevés tudományos megalapozottságú vizsgálat ismert. Eredményeink alapján a mikorrhiza oltásnak a paprika-termesztésbe történő beillesztésének lehetőségeit, azok eredményeit és problematikáját elemzem.

A Szent István Egyetem Növényvédelmi Intézetének szakmai irányításával több kísérletet állítottunk be, melyek célja volt arbuskuláris mikorrhizagomba oltóanyagok hatásának tesztelése. Két fűszerpaprika (*Capsicum annuum* L. var. longum cv. Szegedi és *Capsicum annuum* L. var. longum cv. Kalocsai) valamint Julianus F1 fajta oltását végeztük el normál szántóföldi illetve kordonos termesztési módban.

A fűszerpaprika palánta kiültetésekor alkalmazott AM gomba-oltás jelentős változásokat idézett elő az oltott növényeken. A hajtás növekedésére gyakorolt pozitív hatás mellett az oltás a Kalocsai típusnál 10 %-os, a Szegedi fajtánál pedig több mint 60 %-os terméshozam növekedést eredményezett. Az AM oltás terméshozam növelő hatását már mások is megfigyelték (Gaur et al. 1998, Douds és Reider 2003, Kaya et al. 2009, Russo és Perkins-Veazie 2010), de a mikorrhiza oltásnak a hungarikumként elismert fűszerpaprika termesztési technológiájába történő beillesztését és leírását elsőként tettük meg.

A mikorrhiza oltás előnyös hatását a Julianus F1 fajtájú paprikánál, kordonos termesztési technológiánál is észleltük (Melléklet M9). Kísérletünkben azonban nem csak az össz termésmennyiség mérését, hanem a szabványban megadott minőségi osztályok és azok időbeli változását is megvizsgáltuk. Köztudott, hogy a termesztés gazdaságossága szempontjából a korai piacképes minőségi terméshányad a legfontosabb. A terméshozam dinamikája alapján a mikorrhizával oltott növények augusztusig szignifikánsan magasabb terméshozamot biztosítottak. Még ennél is meggyőzőbb volt a szignifikánsan magasabb I. minőségi osztály hányada az oltott paprikánál, melynek mértéke 46 %-os többletet biztosított. Ismert, hogy a mikorrhiza oltás terméshozamra gyakorolt hatása nem minden körülmény között jelentkezik. Vizsgálataink közepes foszfor ellátottságú talajban történtek, amely biztosítja a mikorrhiza gombák aktivitását. Foszforban gazdag talajban ugyanis nincs szükség

a mikorrhiza tápelemfelvételt elősegítő hatására, mivel a növény nem szenved hiányt, ezért általában nem is tapasztalható a mikorrhiza gombák növényi növekedést serkentő hatása. Ez azt jelentené, hogy intenzív, gazdag tápelem utánpótlást biztosító paprika termesztésénél nincs is értelme mikorrhiza oltásnak? Mikorrhiza oltóanyag használatával bár nem szüntethető meg, de mérsékelhető a felhasznált műtrágya mennyisége, mivel a mikorrhiza gomba növeli a növény számára a foszfor és néhány más elem felvételét valamint a túlzott műtrágyázás hatásaként gyakran jelentkező szerves formában lévő foszforvegyületek mobilizálását is. Mindemellett számos irodalmi utalás van arra vonatkozóan is, hogy az oltás megnöveli a gazdasági szempontból is igen fontos beltartalmi értékeket. Saját eredményeink közül ezidáig csak arbuskuláris mikorrhiza gombával oltott hagyma C-vitamin, és antioxidáns tartalmának növekedéséről tudok beszámolni (Albrechtova et al. 2012), de egyre nő az igény az ilyen jellegű információk bővítésére, mely egészséges táplálkozási szokásunk megerősödése miatt újabb értéket jelent.

A mikorrhiza oltóanyagok használatának nyilvánvaló gazdasági előnyei ellenére az ökológiai következmények, nevezetesen az oltóanyag hatásai a helyi AM gomba közösségre, még nem kellő mértékben ismertek. Egy természetes ökoszisztémában még jelentősebb egy nem honos szervezet bejuttatásával előidézett változások tanulmányozása, de a mezőgazdasági, kertészeti kultúrákban is ismernünk kell az előidézett változásokat. A növények AM inokulációra való reakciója ugyanis számos tényezőtől függ: a talaj karakterisztikájától (George 2000), az őshonos AM gombaközösségtől (Requena et al. 2001), az izolátumoktól (Pellegrino et al. 2011), az oltóanyag mennyiségétől és nem utolsósorban magától a növénytől (Antunes et al. 2009) is. A legtöbb tanulmány csupán egy AM gombafajt tartalmazó mikorrhiza oltóanyag hatásait méri fel (Antunes et al. 2009, Koch et al. 2011), csak néhány publikáció szól több fajt tartalmazó készítmény hatásairól (Lekberg et al. 2007). Ezért a paprika-oltási kísérletben, a Szegedi paprika termésmennyiségében előidézett változást alapul véve, két időpontot választottunk ki a paprika gyökereket kolonizáló AM gombafajok azonosítására. A mintavételek kiválasztásánál a kiindulási illetve a legnagyobb mikorrhiza kapcsolatra utaló magas kolonizációs értékkel jellemezhető időpontot választottuk ki. Az oltott illetve oltás nélküli paprika növények gyökereiből izolált DNS felhasználásával AM gomba specifikus primerpár segítségével végzett PCR reakcióval felszaporítottuk a nrDNS kis alegységének megfelelő tartományát, majd restriktív endonukleázzal kivitelezett emésztés után megállapítottuk az AM gombaközösségre jellemző PCR-RFLP profilt.

Eredményeink azt mutatják, hogy az oltóanyag mix használata - mely több, nem bennszülött AM gombát is tartalmaz -, úgy növelte a paprika termésmennyiségét, hogy közben az

oltóanyag mikorrhiza tagjai nem idézték elő a helyi AM gombaközösség erőteljes redukcióját. A Symbivit oltóanyag AM gomba összetevőinek PCR-RFLP képeinek elemzésekor csak két ribotípussal rendelkező mikorrhiza típus jelentkezett, melyeket mind a kontroll, mind a kezelt növények gyökereiben egyaránt kimutattuk.

Az oltóanyag hatott a helyi AM gombaközösségre, de szignifikánsan nem befolyásolta annak összetételét. Mindkét kezelésnél az augusztusi mintákban azonos (1,5 és 9) ribotípusú AM gombák domináltak, ami bizonyítja, hogy ebben a rövid periódusban nem jelent meg valóban agresszív, többlet elnyomó izolátum, mint ahogy Schwartzt és munkatársai kimutatták (2006).

Tudjuk, hogy a kis mennyiségben jelenlevő AM gombák nem detektálhatók ezzel a technikával, de eredményeink összhangban vannak Antunes és munkatársainak (2009) eredményeivel, akik kukorica oltását végezték nem őshonos *G. intraradices* gombával. Ettől eltérően Koch és munkatársai (2011) két *G. intraradices* izolátummal való kezelést követően az őshonos AM gombák közösségének ribotípus csökkenését tapasztalták csakúgy, mint Mummey és munkatársai (2009), akik pre-inokulációban használtak AM oltóanyag mixet.

Az alkalmazott módszer korlátait is figyelembe véve, az oltóanyag helyi AM gombaközösségre gyakorolt hatásának vizsgálatok 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 paprika gyökereket kolonizáló AM gombaközösségben, a kezelésekre hatására bekövetkező eltérések mellett a vegetációs időszakban bekövetkező változásokat is nyomon tudunk követni a molekuláris eszközök segítségével. Az AM gombák szezonálisitását már más szerzők is leírták, de munkájuk többnyire a spórák mennyiségi meghatározásán alapult (Gemma és Koske 1988). Az augusztusi mintákban a kontroll és oltott növények rizoszférájában kevesebb PCR-RFLP típust találtunk a júniusi mintákkal összehasonlítva, amely néhány AM gomba dominanciáját mutatja a közösségen belül. Ez a változékonyság valószínűleg az abiotikus (tápanyag hozzáférhetőség) és biotikus (gyökér exudátumok, mikrobiológiai tevékenység) környezeti elemeknek egyaránt köszönhető (Cheng 2008, Husband et al. 2002) illetve annak a ténynek, hogy a növény szelektál a körülötte levő mikorrhiza gomba fajok között. A kiválasztás alapja a szimbiózis legkedvezőbb energiamérlegének megfelelő, a növény szempontjából legmegfelelőbb mikorrhiza gombák kiválasztása.

A mikorrhiza „technológiát” egyre gyakrabban használják a zöldségtermesztésben (Vosátka és Albrechtová 2008) valamint egy erre épülő nemzetközi iparág kiépülése is folyamatban van (Vosátka et al. 2008). Ugyanakkor a mikorrhiza oltás a kertészet egy másik

ágában, a virágtermesztésben is egyre nagyobb szerepet kap. Eredményeinket Magyarország egyik népszerű virágának, a muskátli termesztésének vonatkozásában ismertetem, bemutatva hogyan illeszthető be az arbuskuláris mikorrhizagomba oltás a termesztéstechnológiába. Mindemellett az oltásoknak a rizoszféra baktériumközösségében előidézett változások kimutatása is célunk volt.

A mikorrhizaoltás elősegíti a növények növekedését, több és korábbi virágzást eredményez a virágtermesztésben. Néhány publikáció már megjelent a muskátli mikorrhiza oltására vonatkozóan (Nowak 2004, Perner et al. 2007), de ezek kevésbé veszik figyelembe a valós termesztési technológiákat. A kertészeti technológiában gyakran alkalmaznak steril vagy félsteril ültető közeget (tőzeg, közeggyapot, kókusz), melyet különböző tápelemekkel egészítenek ki. Nagyon kedvelt a hosszú feltáródási idővel rendelkező Osmocote tápelemutánpótló anyag használata, azonban feltételezések szerint mindez igen megnehezíti a mikorrhiza oltóanyag elterjedését. Ugyanis irodalmi adatok sora bizonyítja, hogy a közeg magasabb foszfortartalma csökkenti a mikorrhiza kolonizációjának, aktivitásának a mértékét (Biermann és Lindermann 1983). Eredményeink azonban egyértelműen bizonyítják, hogy Osmocote tápelemutánpótlással a mikorrhiza oltás jól „együtműködik”, nem tapasztalható a kolonizáció radikális csökkenése. Mindez megerősíti Williams és munkatársainak (1992) valamint Linderman és Davies (2004) eredményeit.

Habár az oltás követő 6. héten csak 10 % gyökérkolonizációt mértünk, annak előnye a muskátli hajtás növekedésében, illetve a hajtás NPK koncentrációjában már megmutatkozott. Az alacsony mikorrhiza kolonizáció miatt nehezen magyarázhatók ezek az eredmények kizárólag a mikorrhiza gomba aktivitásával. Még úgy sem, hogy ismert egyes AM gomba fajok és izolátumok eltérő, funkcionális diverzitása a foszforfelvétel szempontjából (Jansa et al. 2003, Jansa et al. 2005, Smith et al. 2003). Feltételezzük, hogy ebben a folyamatban a mikorrhiza gombákkal együttélő, vagy a mikorrhiza gombák jelenlétének hatására, a rizoszférában bekövetkező mikrobiológiai változások is szerepet játszanak.

A mikorrhizák általunk is tapasztalt, foszforfelvételre gyakorolt pozitív hatása már jól ismert, ellenben a nitrogén és a kálium felvételben betöltött szerepére vonatkozóan kevés adattal rendelkezünk (Venkateshwar Rao et al. 2000, Zerche et al. 2008).

A mikorrhizák szerepe a nitrogén körforgásában ellentmondásos, és nem minden részletében tisztázott, de már számos elemét ismerjük. Így gyakran tapasztalható, hogy az AM gomba elősegíti a nitrogén felvételét (Seres et al. 2009), gyorsítja a szerves nitrogén lebomlását (Hodge et al. 2001, Talbot és Treseder 2010), valamint hozzájárul egyes aminosavak felvételéhez (Hodge et al. 2001). Eredményeink alapján egyértelműen megállapítható volt a

mikorrhiza oltás nitrogén felvételét elősegítő hatása. De egyre több adat van arra vonatkozóan is, hogy az arbuskuláris mikorrhizagomba oltóanyagoknál igen fontos a mikorrhiza gombákkal együttélő mikroorganizmusoknak a szerepe, melyek befolyásolják a mikorrhiza aktivitását, tápanyagfelvételben betöltött szerepét. Ebből kiindulva kísérletünk első hat hetében tapasztalt eredményeire építve, megvizsgáltuk a mikorrhizált és a nem mikorrhizált muskátli növények rizoszféra talajának baktérium közösségét.

Az oltott és oltás nélküli kezelések rizoszférájának, klasszikus mikrobiológiai módszerrel meghatározott gomba és baktérium telepkepző egységeinek (CFU) mennyiségében nem találtunk szignifikáns különbséget. 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 az oltás mikor történt. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a mikorrhiza gomba jelenléte jelentős mértékben befolyásolja a talajban élő mikroorganizmusok minőségét és mennyiségét, és ennek a hatásnak a közeg tápelemtartalmától való eltérését mi írtuk le elsőként.

Amennyiben a közeg elegendő tápelemtánpótlást biztosít, akkor nincs szükség a mikorrhiza vagy más talajlakó mikroorganizmus tápelem mobilizáló, felvételt elősegítő hatására. Tápelemhiányos közegben azonban olyan mikrobiológiai és növényfiziológiai változások indukálódnak, melyek elősegítenek egy olyan baktérium közösség kialakulását, mely segíthet a növény tápelem ellátásának biztosításában, és a mikorrhiza aktivitásának fokozásában. Ezek a mikroorganizmusok valószínűleg az arbuskuláris mikorrhizagomba oltóanyaggal együtt kerülnek be a rendszerbe, ezért fontos lenne az oltóanyag előállítása folyamán ezeknek a mikroorganizmusok jelenlétének a kimutatása is, nem csak a patogének kizárásának előírt tesztelése.

Az AM gombák hatása a talajmikroorganizmusokra nem csak a rizoszférában mutatható ki, hanem a hifoszférában (Posta et al. 1994) illetve a Lindermann jellemezte (1988) mikoszférában is. A mikorrhiza gombák és talajlakó mikroorganizmusok közötti kapcsolat többirányú lehet. Egyes, a tápanyagok körforgásban részt vevő PGPR (Plant growth-promoting rhizobacteria, növényi növekedést serkentő rhizobaktériumok) elősegítik az AM gombák növekedését (Andrade et al. 1997), és az AM gombák jelenléte is megnövelheti a mikroorganizmusok mennyiségét is a talajban (Meyer és Lindermann 1986). A foszfor hiánya közvetett módon, a gyökérváladék segítségével befolyásolja a baktérium- és gombafajok előfordulását. A gyökérexudátumok ugyanis a rizoszféra mikroorganizmus közösség

diverzitásának meghatározó elemei, ahogyan Marschner (1998) is kimutatta. Foszfor hiányos talajokban a növények képesek olyan anyagok kiválasztására (szerves savak, jázmonsav, foszfátázok és fenol komponensek), amelyek elősegítik a mikorrhiza kolonizációt és növekedést (Marschner 1998, Hinsinger 2001, Koide és Mosse 2004). Számos rhizobaktérium, köztük a foszfátoldó baktériumok (PBS) és gombák képesek a nehezen oldódó foszfátokat növények számára hasznosíthatóvá tenni szerves kelátok képzésével (Kucey és Leggett 1989, Richardson 2001, Vessey 2003) és/vagy foszfátázok termelésével melyek mobilizálják a szerves foszfátokat.

Ismert, hogy a mikorrhiza spórákkal együtt több olyan ún. helper baktérium is együtt él, melyeknek szerepük van a mikorrhiza aktivitásában (Mayo et al. 1986, Carpenter-Boggs et al. 1995).

Habár az AM gombák környezetében a Gram-pozitív baktériumok dominálnak, több irodalmi utalás is van a többségükben gram-negatív csoportokhoz tartozó PGPR baktériumok AM gombákra gyakorolt stimulációjára (Linderman 1997), valamint szinergista hatására vonatkozóan (Meyer és Linderman 1986). A mikorrhiza gombával szinergista kapcsolatban lévő, talajban szabadon élő foszfát-oldó baktériumokról is már többen beszámoltak (Barea et al. 1997, Kim et al. 1998).

A talajban élő mikroszevezetek mellett nem szabad elfelejtkezni a mikorrhiza gomba citoplazmájában élő baktériumokról, melyeket a *Glomus versiforme*, *Acaulospora laevis* és *Gigaspora margarita* fajoknál is kimutattak (McDonald és Chandler 1981, Scannerini és Bonfante, 1991, Bonfante et al. 1994). Az endoszimbionta baktériumok funkciója még nem tisztázott (Jargeat et al. 2004), de elsőként felfedezett képviselőjükön, a *Burkholderia* sp. baktériumon végzett vizsgálatok szerint a foszfor felvételének a fokozásában is szerephez juthatnak (Bianciotto et al. 2003).

Eredményeink alapján megállapítható, hogy az arbuskuláris mikorrhiza gomba mixet tartalmazó Symbivittel való oltás szerves részét képezheti a muskátli termesztésnek. A konténeres nevelés során a legeredményesebbnek a kiinduláskor alkalmazott inokuláció mutatkozott, mely gazdasági megfontolások miatt is kedvezőbb. A mikorrhiza oltás alacsony tápanyag ellátottságú közegben nevelt muskátli növény rizoszférájában erőteljes változást indukál a baktérium populációban, melynek hatása lehet a tápelem mobilitásában.

A MTA Mezőgazdasági Kutatóintézet kísérleti területén, Martonvásáron több mint 50 éve beállított kísérletek segítségével megvizsgáltuk a mezőgazdasági gyakorlatban leginkább alkalmazott technológiák arbuskuláris mikorrhiza gombákra kifejtett hatását. Első lépésben a különböző rendszerekből származó növények mikorrhizáltságának vizsgálatát végeztük el a

rizoszféra talajok AM gomba spóraszámának meghatározásával, valamint a gyökérekolonizáció mértékére utaló mikorrhizáltsági százalékok becslésével. A gyökérekolonizáció kialakulását és mértékét, illetve az AM gomba-spóráképződést számos biotikus és abiotikus tényező, valamint antropogén hatás befolyásolja. Ezek közül legfontosabbak a talaj fizikai és kémiai tulajdonságai, így a talaj pH-ja, foszfor- és szervesanyag tartalma, a gazdanövény és az aktív gyökérekolonizációt kialakító, illetve abban részt vevő AM gombafajok rendszertani hovatartozása (Carrenho et al. 2001). A szakirodalomban fellelhető, kukorica monokultúrára vonatkozó gyökérekolonizációs értékek és a rizoszféra-talajok egy grammjában lévő AM gomba-spóraszámok nagy változatosságot mutatnak. Nyugat-Kenyában Mathimaran et al. (2007) vas-oxidokban gazdag, vörös trópusi talajban $0,94 \text{ db g}^{-1}$ talaj, míg Oehl et al. (2003) barna erdőtalajaiban $2,5\text{-}8,0 \text{ db g}^{-1}$ talaj átlagos AM gomba-spóraszámot állapított meg. Az általunk vizsgált kukorica monokultúrában a szerves, $7,5 \text{ t ha}^{-1}$ beforgatott kukoricaszár és a szervesetlen, 400 kg ha^{-1} NPK tápanyag-utánpótlás csökkentette a rizoszféra-talajokban lévő AM gomba-spóraszámot a tápelem utánpótlás nélküli növényekhez képest. A kezeléseknél a spóraszámra gyakorolt hatása mellett szezonális változást is észleltünk. A rizoszféra talajok AM gomba-spóraszámának vegetációs periódus során bekövetkező változását Bhadalung et al. (2005) szintén kimutatta, mely a kukorica betakarítását követően, októberben vált hangsúlyossá. Ez nem meglepő, hiszen az AM gomba-növény kapcsolat a vegetációs időszak befejezésével végetér, így az AM gombák sporulációja a raktározott szénhidrátok, illetve a még rendelkezésre álló növényi szénhidrátok erejéig fokozódik. A szezonális változás azonban nem csak a spóra és kolonizáció mértékének változásában jelentkezik, hanem a mikorrhiza diverzitásának változásában is. Csökkenő diverzitás jellemző a vegetációs időszak előrehaladásával, melyet a Shannon index értékek is mutatnak. Eredményeink megegyeznek Dumbrell et al. (2011) és Bhadalung et al. (2005) tápanyag-utánpótlási tartamkísérletben kapott eredményeivel. A közeg tápelem tartalmának, és elsősorban a foszfor mikorrhiza aktivitásra gyakorolt hatásában szerepet játszik a foszfor mikorrhizára gyakorolt közvetlen hatása, de ezzel együtt a gyökérváladék megváltozásán keresztül előidézett közvetett hatások is (Johnson 1993).

Vetésforgó rendszerek AM gomba spóra számára vonatkozóan kevés és igen eltérő adatokkal rendelkezünk. Kísérletünkben a kukorica monokultúrában tapasztaltuk a legmagasabb spóraszámot, Oehl et al. (2003) eredményeivel ellentétesen. A különbség oka valószínűleg az, hogy mi nem alkalmaztunk tápelemutánpótlást, mint Oehl és munkatársai (2003). A legkisebb átlagos spóraprodukción a 2 év búza – 2 év kukorica vetésforgó rendszerben mértük, mely a

gazdanövénynek a hatását tükrözi, mivel a kukoricával ellentétben a búza fakultatívan mikotróf növénynek számít (Plenchette et al. 2005). A búza-kukorica rotáció hazánkban igen elterjedt, de úgy tűnik, hogy ez a rotáció típus az AM gomba-spóraprodukciónak negatív hatással lehet.

A talajművelés, köztük a szántás is az AM gomba inokulum potenciáljának csökkentésével a gyökérkolonizáció és sporuláció időbeli eltolódását eredményezi (Kabir 2005), mely eredményeinkben is jelentkezik. A gyökérkolonizáció minden esetben júniustól növekedett és maximális értéket augusztusban mutatott, a kukorica biológiai érésakor – valamint a Norfolk típusú vetésfogónál az őszi búza sárgulásakor –, majd augusztustól csökkent. Eredményeink közel azonosak Alguacil et al. (2008) Mexikóban, magas agyagtartalmú talajban termesztett kukorica növények mikorrhiza kolonizációs értékeihez. A Norfolk típusú vetésforgó búza növényeinek szignifikánsan magasabb gyökérkolonizációs értékei valószínűleg a megelőző növény (borsó) hatásának köszönhetőek (Jefwa et al. 2006, Mathimaran et al. 2005), illetve az őszi búza fenológiai fázisai időben jóval megelőzik a kukoricáét, így a kolonizáció korábban, már kora tavasszal kialakulhatott.

A tápelemutánpótlással előidézett kolonizációs változások csak a júliusi és augusztusi mintavételi időpontban mutattak szignifikánsan magasabb értékeket a trágyázott kezeléseknél a kontrollhoz képest. Ezek a hatások is a növény jobb tápelem ellátottságából adódó nagyobb mértékű fotoszintézisen keresztül gyakorol hatást az obligát gomba növekedésére. Eredményeinkhez hasonlóan Dhillon és Ampornpan (1992) is az AM kolonizáció növekedését tapasztalta nitrogén pótláskor. Tu et al. (2006) több részre osztott edényben, alacsony N-tartalmú talajban végzett vizsgálataiban kétséget kizáróan megállapította, hogy kis nitrogéntartalmú talajban a hajtás növekedése limitált, N-pótlással a növekedés gyorsul, ezzel együtt az asszimilátumok mennyisége a gyökérben is nő, amely kedvez a mikorrhiza növekedésének is (Hawkins és George 1999).

A tápelem utánpótlás és vetésforgó rendszerek mikorrhiza kolonizációjára gyakorolt hatása mellett két, eltérő növényi egyedsűrűségű kukorica - egy normál, 70 000 és egy magasnak számító 100 000 növény ha⁻¹ – tőszámú állomány vizsgálatát is elvégeztük. A növényi egyedsűrűségnek a talaj mikroszervezeteire, köztük az AM gombákra kifejtett hatása kevésbé tanulmányozott jelenség, így eredményeinket nehéz összevetni a szakirodalmi adatokkal. Az eddigi vizsgálatok elsősorban a gyökérkolonizáció és az AM gombák externális hifahosszának meghatározására terjedtek ki (Eissenstat és Newman 1990, Allsopp és Stock 1992), melyek során a nagyobb növényi egyedsűrűség mellett megnövekedett mikorrhiza kolonizációt figyeltek meg. Ezeket a vizsgálatokat azonban tenyészedény kultúrában végezték,

és nem kukorica növényt vizsgáltak. Abból kiindulva viszont, hogy a nagyobb növényi egyedsűrűség a lombzat átfedéseinek következtében csökkenti a növények fotoszintézisét – a fotoszintézis csökkenésével az AM gombák számára elérhető növényi szénhidrátok mennyiségét is (Bethlenfalvay és Pacovsky 1983) –, feltételeztük, hogy a gyökérekolonizáció mértékében is csökkenés mutatkozik majd, mint ahogy azt Schroeder és Janos (2005) is kimutatták tenyésztedény kultúrában nevelt kukorica növényen. Mi azonban a normál, 70 000 növény ha⁻¹ (ND) és a magas, 100 000 növény ha⁻¹ (HD) tőszámú parcellákról gyűjtött kukorica gyökerek átlagos kolonizációs értékei között nem találtunk szignifikáns különbséget. Ennek egyik magyarázata az lehet, hogy a mintavétel június közepén történt, amikor az állomány még nem zárt teljesen. Másrészt tudjuk, hogy a különböző AM gombafajok a növényi szénhidrátok mennyiségére vonatkozóan eltérő igényel rendelkeznek (Saito et al. 2004), így a gyökérekolonizációban részt vevő AM gombaközösség szerkezetében akár változás is történhetett, ami viszont a gyökérekolonizációban és a spóraszámában nem feltétlenül mutatkozik meg. Mindemellett azt is meg kell említeni, hogy a 2007-es mintavételi év extrém száraznak bizonyult, melynek szintén szerepe lehetett ebben. A növényi egyedsűrűség hatásának vizsgálata során a magasabb, 100 000 növény ha⁻¹ tőszámú kukorica monokultúra állománynál a legtöbb szekvenciát (40%) magába foglaló filozípust a *Glomus* Group Ad fajcsoporthoz tartozott. Ebből a fajcsoportból jelenleg még nem ismerünk leírt AM gombafajokat, de jelenlétüket már a természetes és az antropogén ökoszisztémákban egyaránt kimutatták (Helgason et al. 1998, Saito et al. 2004, Balestrini et al. 2010).

A gyökérekolonizáció meghatározása az AM gombák jelenlétének kimutatására és a szimbiotikus kapcsolat mértékének megállapítására alkalmas, arról azonban nem nyújt információt, hogy az aktív szimbiotikus kapcsolatban mely AM gombák vesznek részt. A rizoszféra-talajokban jelenlévő AM gomba-spórák száma sem ad információt erről, hiszen néhány AM gombafaj a gyökéren belül, vagy egyáltalán nem sporulál (Bever et al. 1996). Ezért a növények gyökerét kolonizáló AM gombaközösség tagjainak azonosítását és az AM gombaközösség filogenetikai viszonyainak feltárását molekuláris technikával végeztük, hogy a különböző agrotechnikai eljárások mikorrhiza gombákra gyakorolt hatását megvizsgálhassuk.

A természetes ökoszisztémákhoz viszonyítva a művelt talajok mikorrhiza diverzitása jelentős eltérést mutat. Az emberi beavatkozás, talajhasználat, peszticidek, műtrágyák használata irodalmi adatok szerint jelentős mértékű diverzitás csökkenést eredményez (Oehl et al. 2005). Wright et al. (2005) mutatott rá elsőként, hogy az európai és trópusi kukorica eltér mikorrhiza

függésében, és érdekes módon az európai nem veszítette el érzékenységét mikorrhiza képzésre, még annak ellenére sem, hogy foszforban gazdag területen állították elő.

A mezőgazdaságilag megművelt területekről általában 8-20 AMF fajt mutattak ki, a füves területek illetve természetes ökoszisztémákra még nagyobb fajgazdag jellemző (Sawers et al. 2008). Az eredmények összehasonlítása azonban gyakran nehéz, mivel eltérő módszereket használnak a mikorrhiza gombák fajmeghatározáshoz. Az irodalmi adatok nagy része spóra morfológián alapszik, a molekuláris vizsgálatoknál pedig az eltérő primerek használata nehezíti az eredmények értelmezését.

A mezőgazdasági művelés mikorrhiza diverzitást csökkentő hatása már néhány kísérletben leírásra került (Balestrini et al. 2010, Alguacil et al. 2008), az intenzív mezőgazdasági gyakorlatban használt szervesetlen műtrágyázás hatására bekövetkező AM diverzitás csökkenést mi is tapasztaltuk. A szervesetlen tápanyag-utánpótlás AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata során kimutatott filotípusok száma a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott kezelésnél fele annyi volt (7 MOTU), mint a kontroll és a 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszárat kapott kezeléseknél (14-14 MOTU). A szervesetlen tápanyag-utánpótlás a talaj pH értékének csökkenéséhez vezet (Melléklet M3), mely más szerzők eredményeivel összhangban befolyásolja az AM gombaközösség szerkezetét (Marschner és Dell 1994, Clark 1997, Giovanetti 2000). Ezzel együtt meg kell említeni Oliveira et al. (2009) eredményeit is, mely alapján az is megállapítást nyert, hogy a kukorica genotípusoknak nagyobb a hatása az AM diverzitásra, mint a talaj foszfor szintjének, de vizsgálataink azonos genotípusú kukoricával történtek.

A kukorica monokultúra és a vetésforgó rendszerek AM gomba diverzitásának összehasonlítása során kapott eredményeink eltérnek a szakirodalomban megtalálható, vetésforgó alkalmazásával kapcsolatos pozitív eredményektől (Oehl et al. 2003, Oehl et al. 2009). Ez annak is köszönhető, hogy a különböző szerzők által vizsgált monokultúrák és vetésforgó rendszerek mindegyike valamilyen formában részesült tápanyag-utánpótlásban. Valószínűleg a vetésforgó növényi összetétele mellett a talaj tápanyag-ellátottsága indirekt módon gyakorol hatást. Korábbi tanulmányok is azt mutatták, hogy a növényi összetétel hatással van az AM gombaközösség szerkezetére, kiváltképpen az alacsony tápanyag-ellátottságú talajok esetén (Helgason et al. 2007, Dumbrell et al. 2010). A monokultúra és a vetésforgó rendszerek AM gomba-közösségeinek meghatározása során a kukorica monokultúrából összesen 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. Az első

pillanatban meglepő eredmény azonban nem csak a tápelem utánpótlással előidézett pH változással magyarázható. 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 jelentenek, mint a monokultúra, ahol csak egy növényfajtahoz adaptálódott mikorrhiza gomba populációval kell számolni. Mindemellett a vizsgálati évben nem kukorica, hanem búza volt a vetésforgóban, mely kevésbé mikorrhiza függő, mint a kukorica.

Az általunk vizsgált kukorica monokultúra a közel 50 év óta alkalmazott intenzív termesztési módszerek ellenére is gazdag AM gombaközösséggel rendelkezik – összehasonlítva más európai és amerikai kukorica kultúrákkal (Alguacil et al. 2008, Hijri et al. 2006) –, amely arra utalhat, hogy Magyarország klimatikus és talajadottságai kedvező hatással vannak az AM gombaközösségek diverzitására, így az AM gomba diverzitás megóvása és fenntartása hazánkban az integrált növénytermesztés szerves részeként kiemelkedően fontos jelentőséggel bírhat.

A kezelések a tapasztalt diverzitás csökkenése mellett az AM gombaközösség összetételében is változást idéztek elő, mely a szakirodalomból már ismert (Bhadalung et al. 2005).

A szerves, szervesetlen műtrágyázott valamint a monokultúra és különböző vetésforgó rendszerekben egyaránt a *Glomus* A fajcsoportba tartozó mikorrhiza gombák domináltak. A mezőgazdaságilag művelt területek domináns *Septoglomus* és *Funneliformis* nemzetséghez tartozó gombafajai (Bainard et al. 2012, Oehl et al. 2005), melyek közül a *F. mosseae* és a *Septoglomus constrictum* gombákat szerves eredetű tápanyag-utánpótlást preferáló fajokként (Oehl et al. 2004) jellemeztük. A *F. mosseae* érzékenynek bizonyult a nagy mennyiségű N- P_2O_5 utánpótlásra is (Bhadalung et al. 2005), 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, ezek közül is legtöbb esetben a *Rhizophagus intraradices* dominanciáját mutatták ki (Johnsson 1993, Mathimaran et al. 2005). A Gigasporaceae és Acaulosporaceae család tagjait nem tudtuk kimutatni egyik rendszerből sem, mely megegyezik Hijri et al. (2006) és Alguacil et al. (2008) tapasztalataival. Ezen családok tagjai kevésbé tűrik a bolygatást.

Azokból a rotációs rendszerekből, melyekben pillangós növény szerepelt a növényi összetételben a *Septoglomus* nemzetségbe tartozó *Glomus viscosum*-mal filogenetikai rokonságban álló filotípus teljesen eltűnt, ugyanúgy, mint a 400 kg ha⁻¹ NPK szerves tápanyag-utánpótlás hatására. Mindebből arra következtetünk, hogy az alacsony tápanyag-ellátottságú kukorica monokultúrában kiemelkedő szerepe lehet a kukorica növény tápanyag-ellátásában. Ez a szerep a tápanyagszint növekedésével valószínűleg veszít jelentőségéből, így nyújtva teret a nagy szénhidrát igényű, ruderalis és generalista AM fajoknak, mint amilyen a *Rhizophagus intraradices* vagy a Glo4 filotípusú AM gomba is. Ezt az a tény is alátámasztja, hogy a Glo4 filotípushoz tartozó filotípusok a 3 év lucerna – 5 év kukorica vetésforgóban és a 400 kg ha⁻¹ NPK szerves tápanyag-utánpótlásban részesült kukorica monokultúrában egyaránt dominánsan voltak jelen. A Glo4 filotípust Öpik et al. (2006) enyhén ruderalis taxonként jellemzik, Saito et al. (2004) pedig a magas növényi szénhidrát igénnyel rendelkező csoportba sorolták. Mindez összefüggésbe hozható a nagy mennyiségű szerves tápanyag-utánpótlásnál megfigyelhető domináns jelenlétükkel, valamint hiányukkal a kontroll parcellákban. Eredményeink megerősítik Husband et al. (2002) valamint Debellis és Widden (2006) vizsgálatait, mely szerint a növényi gyökereket aktívan kolonizáló AM gombák közül csak néhány dominál még a magas növényi diverzitással rendelkező ökoszisztémákban is (Husband et al. 2002, Stukenbrock és Rosendahl 2005).

Abban, hogy a különböző AM gombák hogyan reagálnak a tápanyag-utánpótlásra, közvetlen és közvetett hatások egyaránt szerepet játszanak. Ez összefügghet például a szimbiota partner rendelkezésére álló növényi szénhidrátok mennyiségével és minőségével (Douds és Schenk 1990, Olsson et al. 2005), a talaj felvehető nitrogén tartalma által okozott gyökérmorfológiai változásokkal (Johnson 1993), valamint a kukoricaszár beforgatás hatására a talaj szaprotróf gombaközösségében bekövetkező változásokkal. A 3 év lucerna – 5 év kukorica vetésforgóban tapasztalt legnagyobb diverzitás kialakulásában valószínűleg a talaj nitrogénkötő mikroorganizmusai által biztosított nagyobb nitrogénkoncentráció is szerepet játszik, mely közvetve nagyobb hajtástömeg és asszimiláló felület biztosításával elegendő mennyiségű asszimilátum képződését biztosítja.

A kukorica monokultúra és a vetésforgó rendszerek AM gomba diverzitása nem csak kezelésektől függő, hanem szezonális változást is mutatott. A vegetációs idő előrehaladtával csökkent a diverzitás mértéke, mely megegyezik a szakirodalmi eredményekkel (Daniell et al. 2001, Bainard et al. 2012). A növényi gyökereket aktívan kolonizáló AM gombák versengése az új kolonizációs helyekért és a növény fotoszintetikus produktumaiért egy-két sikeresebb AM gomba dominanciáját eredményezi, kiszorítva ezzel a többi gombát. A domináns

gyökérekolonizálók ezután szinte egyeduralkodóvá válnak az AM gombaközösségben, mely jelenséget Dumbrell et al. (2010) „overdominance”-ként írja le. Ez a folyamat az AM diverzitás csökkenéséhez vezethet a gazdanövény vegetációs idejének előrehaladtával. A legerőteljesebb szezonális diverzitás csökkenést mutató Norfolk típusú vetésforgó búzájánál azonban már a vegetáció vége is jelentkezik, mely kukoricánál még nem volt észlelhető.

Eredményeink agroökológiai szempontból is fontosnak tekinthetőek, mivel az egyre gyakoribb ökológiai (organic farming) és kis ráfordítású (low input) gazdálkodások során gyakran alakul ki negatív tápanyagmérleg a talajban. A mikorrhiza-növény interakciók előnyös hatásainak kihasználásával, a megfelelő termesztési technológia és növényfajta megválasztásával mérsékelni lehet ezt a kedvezőtlen hatást. Következtetéseink segíthetnek a mezőgazdasági szakembereknek a leoptimálisabb technológiák kiválasztásában, a mikorrhiza diverzitásának a megőrzésében. Ez azért is igen fontos, mivel számos tanulmány bizonyítja, hogy a mikorrhiza gombák stressztűrő és tápelemfeltáró képessége arányban van diverzitás gazdagságukkal. Mindemellett eredményeink hozzájárulhatnak új mikorrhiza oltóanyag kifejlesztéséhez is, plusz információkat szolgáltatva a különböző technológiáknak mikorrhiza gombákra gyakorolt hatásának a felderítésével.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Dolgozatomban eltérő termesztés-technológiai beavatkozások valamint nehézfém stressz arbuskuláris 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 ezidő alatt megjelentek a fémekkel szemben toleráns arbuskuláris 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 bebizonyítottuk.

Megállapítottuk, hogy a mikorrhiza kezelés szerves részét képezheti a muskátli és paprika termesztésének. A konténeres muskátli nevelés során legeredményesebb a kiinduláskor alkalmazott inokuláció volt, mely gazdasági megfontolások miatt is kedvezőbb. PCR-RFLP módszer segítségével bebizonyítottuk, hogy az arbuskuláris mikorrhiza oltás a közeg tápelemtartalmától függően jelentős mértékben befolyásolja a talaj baktérium közösségének összetételét. Alacsony tápanyag ellátottságú közegben nevelt muskátli növény rizoszférájában erőteljes változás jelentkezett a baktérium közösségben, mely hatással volt a közeg tápelemeinek mobilizálására és az arbuskuláris mikorrhiza gomba aktivitására is.

A mikorrhiza oltóanyagok használatának gazdasági előnyei mellett molekuláris módszerek segítségével megvizsgáltuk annak hatásait a helyi AM gomba közösségre. Megállapítottuk, hogy a nem honos AM gombafajokat tartalmazó oltóanyag mix úgy növelte a fűszerpaprika termésmennyiségét, hogy közben az oltóanyag mikorrhiza tagjai nem idézték elő a helyi AM gombaközösség erőteljes redukcióját. A vegetációs időszak folyamán két időpontban mért PCR-RFLP vizsgálataink eredményei alapján nem jelentkezett agresszív, többlet elnyomó mikorrhiza gomba izolátum, de a mikorrhiza oltás hosszútávú hatása még további megerősítést igényel.

A különböző agrotechnikai beavatkozások AM gomba közösségre gyakorolt hatásának vizsgálatok a szerves és szervetlen tápanyagutánpótlás, eltérő növényi egyedszám valamint monokultúra és vetésforgó rendszerek mikorrhiza közösségét vizsgáltuk meg. A mikorrhiza gyökérkolonizációjának mérése, a rizoszféra talajok AM gomba spóraszámának meghatározása mellett a gyökereket kolonizáló arbuskuláris 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 gyökérkolonizáció mértékét és a talaj AM gomba spóraszámát nem befolyásolta a kukorica állománysűrűsége, a tápanyag-utánpótlás negatív hatását azonban kimutattuk az AM gomba spórák mennyiségében. Kukorica monokultúrában és vetésforgó rendszerekben egyaránt igazoltuk az AM gyökérkolonizáció, spóraszám és AM közösség szezonális változását. A szerves és szervetlen tápanyag-utánpótlás negatív hatással volt kolonizációban résztvevő AM gombaközösség diverzitására, és befolyásolta annak összetételét is. A vetésforgóban termesztett növények AM gomba-közösségeinek összetétele is jelentősen eltért a monokultúrában termesztett kukorica AM gombaközösség összetételétől.

Eredményeink alapján egyértelműen 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 leghatékosabb mezőgazdasági technológiák kiválasztásában, az arbuskuláris mikorrhiza gombák diverzitásának a megőrzésében. Mindemellett eredményeink segíthetnek új mikorrhiza oltóanyag

kifejlesztésében is, egy hatékony és a termesztési rendszerekhez leginkább adaptálódott AM gomba oltóanyag-kombináció összetételének kidolgozásában.

7. SUMMARY

In my thesis some diverse influences of cultivation technologies and the impacts of heavy metal contamination on arbuscular mycorrhizal fungi were examined, paying special attention to the effects of different agrotechnical technologies used in long-term experiments on the contents of fungi population, moreover the factors like the presence of collembola species, influencing the effectivity of mycorrhizal inoculation and those of implementing them into new horticultural technologies, for instance tomato and paprika.

12 years after artificially created heavy metal contamination we have studied the changes in the natural mycorrhizal fungi population, and we could state that arbuscular mycorrhizae had appeared during this period of time, which were tolerant against metals, also being able to ensure the development and the stabilization of the fungi symbiosis even in a contaminated soil. Accordingly, our results are able to help develop new types of mycorrhizal inoculation, being able to treat soil contaminated with heavy metal, the first step of which would be to isolate tolerant strains.

Among the biotic factors influencing AM activity, we have studied the role of Collembola species from different aspects. As far as the relationship between mycorrhizal activity and the presence of the Collembolla amount is concerned, we have proved that there exists an optimal springtail density-0.2-0.4 per animal species/ per soil gram –which ensures the maximum capacity of root colonization and plant growth. Besides, depending on species, springtails consume spores of arbuscular mycorrhizal fungi and also participate in spreading root colonization. Based on our results, we cannot name mycorrhizal formulae dominant in transmission however we have obviously proved the significance of springtails in taking in nitrogen and zinc of root-colonized plants.

We also stated that mycorrhizal treatment could mean an organic part in cultivating tomato and pepper. In the horticulture of cartridge pelargonium the most effective treatment was the inoculation applied in its starting phase, which was favourable on the basis of economic considerations. By using PCR-RFLP method we proved that arbuscular mycorrhizal inoculation-dependending on the nutrient contents of the substrate- can significantly affect the composition of the bacteria population in the soil.

There was a major bacteria population change in the rhizosphere of a pelargonium grown in a substrate with low-nutrient contents, having significant influence both on nutrient mobilization of the substrate and the activity of arbuscular mycorrhizal fungi.

Besides the economic benefits of using mycorrhizal inoculation, we examined its impact on local AM fungi population by molecular methods. We stated that the inoculation mix containing non-native AM fungi increased the yield quantity of paprika in a way that the mycorrhizal inoculation had not caused a significant reduction in local fungi population. During vegetation we completed PCR-RFLP researches in two periods and our results found out that there had not appeared violent mycorrhizal fungi isolate, dominating over fungi, on the other hand, however, the long-term effects of mycorrhizal inoculation needs further confirmation.

While examining the impacts of different agrotechnical interventions on AM fungi populations, we studied organic and non-organic nutrient resupply, diverse number of species and mycorrhiza population of monoculture and crop rotation systems. Besides measuring mycorrhizal root colonization and defining AM fungi spore number of rhizosphere soils, we completed the indication and identification of root colonizing arbuscular mycorrhizal fungi by a molecular method, nested PCR method, which is designated for conservative regions of 18S rRNS genes and completed with starting sequences. Based on these results it can be stated that despite the intensive cultivating methods applied for more than 50 years, the studied corn monoculture is still rich in AM fungi. The number of filotypes that we identified was higher than ever identified by molecular technology in corn monoculture. The substance density of corn did not influence the degree of root colonization and the AM fungi spore number of the soil, however we identified the negative effect of nutrient supply in the quantity of AM fungi spores. Furthermore, we proved the change in AM root colonization, that of spore number and the seasonal change of AM population as well. Non-organic nutrient resupply had had a negative impact on the diversity of AM fungi population participating in colonization, and had also influenced its contents. The contents of AM fungi population in plants grown in crop rotation differed significantly from the contents of that in monoculture corn.

Based on our results, we can state that Hungary's climatic and soil conditions have favourable impact on the diversity of AM fungi population. This fact is also important because there is a direct connection between the AM fungi population's resistance to contamination and their capability to explore nutrients and their rich diversity. These results provide agricultural experts with essential details on how to select the most optimal technologies to maintain maximum diversity in AM fungi population. Moreover, our results can serve with some help

to develop new AM inoculum for elaborating them for an adapted to cultivation system with adapted arbuscular mycorrhizal fungi contents in it.

8. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Elsőként publikáltunk *Sinella coeca* ugróvillás fajról arbuskuláris 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.
4. Elsőként szolgáltatunk adatokat az arbuskuláris 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 növényesűrűségű, 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 arbuskuláris mikorrhiza oltás jelentős mértékben befolyásolja a közegben élő mikroorganizmusok minőségét és mennyiségét, és ennek a hatásnak a közeg tápelemtartalmától való függését elsőként állapítottuk meg.

9. IRODALOMJEGYZÉK

- Abbott L.K., Robson A.D. (1977): The distribution and abundance of vesicular-arbuscular endophytes in some Western Australian soils. *Australian Journal of Botany*, 25: 515-522.
- Akiyama K., Matsuzaki K., Hayashi H. (2005): Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 435 (7043): 824-827.
- 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*, 2012: 374091.
- Alguacil M.M., Lumini E., Roldán A., Salinas-Garcia J.R., Bonfante P., Bianciotto V. (2008): The impact of tillage practices on arbuscular mycorrhizal fungal diversity in subtropical crops. *Ecological Applications*, 18: 527-536.
- Allsopp N., Stock W.D. (1992): Density dependent interactions between VA mycorrhizal fungi and even-aged seedlings of two perennial *Fabaceae* species. *Oecologia*, 91(2): 281-287.
- Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J. (1997): Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25 (17): 3389-3402.
- Ames, T.J. (2002): The effect of long-term simulated N deposition upon vesicular–arbuscular mycorrhizal functioning in seminatural grasslands. Ph.D. thesis, The University of Sheffield, Department of Animal and Plant Sciences, Sheffield, UK.
- Andrade G., Mihara K.L., Linderman R.G., Bethlenfalvay G.J. (1997): Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 192: 71–79.
- Antoniolli Z.I., Schachtman D.P., Ophel-Keller K., Smith S.E. (2000): Variation in rDNA ITS sequences in *Glomus mosseae* and *Gigaspora margarita* spores from a permanent pasture. *Mycological Research*, 104 (6): 708-715.
- Antunes, P.M., Koch A.M., Dunfield K.E., Hart M.M., Downing A., Rillig M.C., Klironomos J.N. (2009): Influence of commercial inoculation with *Glomus intraradices* on the structure and functioning of an AM fungal community from an agricultural site. *Plant Soil*, 317 (1-2): 257-266.

- Aroca R., Bago A., Sutka M., Paz J.A., Cano C., Amodeo G., Ruiz-Lozano J.M. (2009): Expression analysis of the first arbuscular mycorrhizal fungi aquaporin described reveals concerted gene expression between salt-stressed and nonstressed mycelium. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 22: 1169–1178.
- Arriagada C., Aranda E., Sampedro I., Garcia-Romera I., Ocampo J.A. (2009): Contribution of the saprobic fungi *Trametes versicolor* and *Trichoderma harzianum* and the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus deserticola* and *G. claroideum* to arsenic tolerance of *Eucalyptus globulus*. *Bioresource Technology*, 100: 6250–6257.
- Artursson V., Jansson J.K. (2003): Use of Bromodeoxyuridine Immunocapture To Identify Active Bacteria Associated with Arbuscular Mycorrhizal Hyphae. *Applied and Environmental Microbiology*, 10: 6208–6215.
- Atul-Nayyar A., Hamel C., Hanson K., Germida J. (2009): The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza*, 19: 239–246.
- Azcón-Aguilar C., Barea J.M. (1992): Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms. In: *Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process*. Ed: Allen, M.F.; London (UK): Chapman and Hall, 1992.- ISBN 0-412-01891-8, 163-198.
- Azcón-Aguilar C., Bago B. (1994): Physiological characteristics of the host plant promoting an undisturbed functioning of the mycorrhizal symbiosis. *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*, 47-60.
- Baath E., Söderström B. (1979): Fungal biomass and fungal immobilization of plant nutrients in Swedish coniferous forest soils. *Rev. Écol. Biol. Sol.*, 16: 477-489.
- Bago B., Pfeffer P., Shachar-Hill Y. (2001): Could the urea cycle be translocating nitrogen in the arbuscular mycorrhizal symbiosis? *New Phytologist*, 149 (1): 4-8.
- Bago B., Zipfel W., Williams R.M., Jun J., Arreola R., Lammers P.J., Pfeffer P.E., Shachar-Hill Y. (2002): Translocation and Utilization of Fungal Storage Lipid in the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Plant Physiology*, 128: 108–124.
- Bago B., Cano C., Azcón-Aguilar C., Samson J., Coughlan A.P., Yves Piche' Y. (2004): Differential morphogenesis of the extraradical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus grown monoxenically on spatially heterogeneous culture media. *Mycologia*, 96 (3): 452–462.
- Bainard L.D., Koch A.M., Gordon A.M., Klironomos J.N. (2012): Temporal and compositional differences of arbuscular mycorrhizal fungal communities in

- conventional monocropping and tree-based intercropping systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 45: 172-180.
- Bakonyi G., Posta K., Kiss I., Fábrián M., Nagy P., Nosek J. N. (2002): Density-dependent regulation of arbuscular mycorrhiza by collembola. *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 661-664.
- Balestrini R., Magurno F., Walker C., Lumini E., Bianciotto V. (2010): Cohorts of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in *Vitis vinifera*, a typical Mediterranean fruit crop. *Environmental Microbiology Reports*, 2 (4): 594-604.
- Barea J. M., Azcón-Aguilar C., Azcón R. (1997): Interactions between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms within the context of sustainable soil-plant systems. In: *Multitrophic Interactions in Terrestrial Systems*. Eds.: Gange A.C., Brown V.K., Blackwell Science, Oxford, 65-77.
- Barrett G., Campbell C.D., Fitter A.H., Hodge A. (2011): The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus hoi* can capture and transfer nitrogen from organic patches to its associated host plant at low temperature. *Applied Soil Ecology*, 48: 102–105.
- Bedini S., Pellegrino E., Avio L., Pellegrini S., Bazzoffi P., Argese E., Giovannetti M. (2009): Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. *Soil Biology & Biochemistry* 41: 1491–1496.
- Besserer A., Puech-Pagès V., Kiefer P., Gomez-Roldan V., Jauneau A., Roy S., Portais J.C., Roux C., Bécard G., Séjalon-Delmas N. (2006): Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *Plos Biology*, 4: 1239-1247.
- Bethlenfalvay G.J., Pacovsky R.S. (1983): Light effects in mycorrhizal soybeans. *Plant Physiology*, 73 (4): 969-972.
- Bever J.D., Morton J.B., Antonovics J., Schultz P.A. (1996): Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. *Journal of Ecology*, 84 (1): 71-82.
- Bhadalung N.N., Suwanarit A., Dell B., Nopamornbodi O., Thamchaipenet A., Rungchuang J. (2005): Effects of long-term NP-fertilization on abundance and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi under a maize cropping system. *Plant and Soil*, 270 (1): 371-382.
- Bianciotto V., Bonfante P. (1992): Quantification of the nuclear DNA content of two arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 96 (12): 1071-1076.

- Bianciotto V., Lumini E., Bonfante P., Vandamme P. (2003): 'Candidatus Glomeribacter gigasporarum', an endosymbiont of arbuscular mycorrhizal fungi. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53: 121–24.
- Biermann B.J., Lindermann R.G. (1983): Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extra radical vesicles as inoculum. *New Phytologist*, 95: 97–106.
- 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)
- 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.
- Black R., Tinker P.B. (1979): The development of endomycorrhizal root systems. II. Effect of agronomic factors and soil conditions on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in barley and on the endophyte spore density. *New Phytologist*, 83 (2): 401-413.
- Boddington C.L., Dodd J.C. (2000): The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant and Soil*, 218: 137-144.
- Bonfante P., Balestrini R., Mendgen K. (1994): Storage and secretion processes in the spore of *Gigaspora margarita* Becker & Hall as revealed by high-pressure freezing and free substitution. *New Phytologist*, 128: 93–101.
- Börstler B. (2010): Diversity of cultured isolates and field populations of the arbuscular mycorrhizal fungus "*Glomus intraradices*": development and application of molecular detection methods for mitochondrial haplotypes. PhD Thesis. University of Basel, Faculty of Science.
- Brundrett M.C. (2002): Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, 154 (2): 275-304.

- Bucher M., Wegmüller S., Drissner D. (2009): Chasing the structures of small molecules in arbuscular mycorrhizal signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 12:500–507.
- Carpenter-Boggs L., Loynachan T.E., Stahl P.D. (1995): Spore germination of *Gigaspora margarita* stimulated by volatiles of soil-isolated actinomycetes. *Soil Biology and Biochemistry*, 27: 1445–1451.
- Carrenho R., Silva E.S., Trufem S.F.B., Bononi V.L.R (2001): Successive cultivation of maize and agricultural practices on root colonization, number of spores and species of arbuscular mycorrhizal fungi. *Brazilian Journal of Microbiology* 32: 262-270.
- Caruso T., Rillig M.C. (2011): Direct, positive feedbacks produce instability in models of interrelationships among soil structure, plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry*, 43:1198-1206.
- Chen C.R., Xu Z.H. (2006): On the nature and ecological functions of soil soluble organic nitrogen (SON) in forest ecosystems. *Journal of Soils and Sediments*, 6: 63–66.
- Cheng W. (2008): Rhizosphere priming effect: its functional relationships with microbial turnover, evapotranspiration, and C-N budgets. *Soil Biology and Biochemistry*, 41: 1795-1801.
- Clapp J.P., Young J.P.W., Merryweather J.W., Fitter A.H. (1995): Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytologist*, 130 (2): 259-265.
- Clapp J.P., Fitter A.H., Young J.P.W. (1999): Ribosomal small subunit sequence variation within spores of an arbuscular mycorrhizal fungus *Scutellospora* sp. *Molecular Ecology*, 8 (6): 915-921.
- Clapp J.P., Rodriguez A., Dodd J.C. (2001): Inter- and intra-isolate rRNA large subunit variation in *Glomus coronatum* spores. *New Phytologist*, 149 (3): 539-554.
- Clapp J. P., Rodriguez A., Dodd J.C. (2002): Glomales rRNA gene diversity - all that glistens is not necessarily glomalean? *Mycorrhiza*, 12 (5): 269-270.
- Clark R.B. (1997): Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. *Plant and Soil*, 192 (1): 15-22.
- Clark R.B., Zeto S.K. (2000): Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition*, 23(7): 867-902.
- Collins C.D., Foster B.L. (2009): Community-level consequences of mycorrhizae depend on phosphorus availability. *Ecology*, 90: 2567-2576.

- Cordiki, L., Rowland D.L., Johnson N.C. (2002): Nitrogen fertilization alters the functioning of arbuscular mycorrhizas at two semiarid grasslands. *Plant Soil*, 240: 299–310.
- Cordier C., Pozo M.J., Barea J.M., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. (1998): Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11(10): 1017-1028.
- Coughlan A.P., Dalpé Y., Lapointe L., Piché Y. (2000): Soil pH-induced changes in root colonization, diversity, and reproduction of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi from healthy and declining maple forests. *Canadian Journal of Forest Research*, 30 (10): 1543-1554.
- Courty P.E., Bréda N., Garbaye J. (2007): Relation between oak tree phenology and the secretion of organic matter degrading enzymes by *Lactarius quietus* ectomycorrhizas before and during bud break. *Soil Biology and Biochemistry*, 39: 1655–1663.
- Croll D., Giovannetti M., Koch A.M., Sbrana C., Ehinger M., Lammers P.J., Sanders I.R. (2009): Nonself vegetative fusion and genetic exchange in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist*, 181 (4): 924-937.
- 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.
- Daniell T.J., Husband R., Fitter A.H., Young J.P.W. (2001): Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiology Ecology*, 36 (2-3): 203-209.
- Dearnaley J.D.W. (2007): Further advances in orchid mycorrhizal research. *Mycorrhiza*, 17 (6): 475-486.
- Debellis T., Widden P. (2006): Diversity of the small subunit ribosomal RNA gene of the arbuscular mycorrhizal fungi colonizing *Clintonia borealis* from a mixed-wood boreal forest. *FEMS Microbiology Ecology*, 58 (2): 225-235.
- Del Val C., Barea J.M., Azcón-Aguilar C. (1999): Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (2): 718-723.
- Dhillon S.S., Ampornpan L. (1992): The influence of inorganic nutrient fertilization on the growth, nutrient composition and vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of pretransplant rice (*Oryza sativa* L.) plants. *Biology and Fertility of Soils*, 13: 85–91.

- Di Bonito R., Elliott M.L., Des Jardin E.A. (1995): Detection of an arbuscular mycorrhizal fungus in roots of different plant species with the PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (7): 2809-2810.
- Dijkstra F.A., Hobbie S.E., Reich P. (2006): Soil processes affected by sixteen grassland species grown under different environmental conditions. *Soil Science Society American Journal*, 70: 770-777.
- Dong X., Zhao B. (2006): Nested multiplex PCR - A feasible technique to study partial community of arbuscular mycorrhizal fungi in field-growing plant root. *Science in China Series C: Life Sciences*, 49 (4): 354-361.
- Douds D.D. Jr., Schenck N.C. (1990): Relationship of colonization and sporulation by VA mycorrhizal fungi to plant nutrient and carbohydrate contents. *New Phytologist*, 116 (4): 621-627.
- Douds D.D., Reider C. (2003): Inoculation with mycorrhizal fungi increases the yield of green peppers in a high P soil. *Biological Agriculture and Horticulture*, 21(1): 91-102.
- Douds D.D. Jr., Galvez L., Franke-Snyder M., Reider C., Drinkwater L.E. (1997): Effect of compost addition and crop rotation point upon VAM fungi. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 65 (3): 257-266.
- Drew E.A., Murray R.S., Smith S.E., Jakobsen I. (2003): Beyond the rhizosphere: growth and function of arbuscular mycorrhizal external hyphae in sands of varying pore sizes. *Plant and Soil*, 251 (1): 105-114.
- Dumbrell A.J., Nelson M., Helgason T., Dytham C., Fitter A.H. (2010): Relative roles of niche and neutral processes in structuring a soil microbial community. *The ISME Journal*, 4: 337-345.
- Dumbrell A.J., Ashton P.D., Aziz N., Feng G., Nelson M., Dytham C., Fitter A.H., Helgason T. (2011): Distinct seasonal assemblages of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by massively parallel pyrosequencing. *New Phytologist*, 190 (3): 794-804.
- Egger K. N. (1995): Molecular analysis of ectomycorrhizal fungi communities. *Canadian Journal of Botany*, 73: S1415-S1422.
- Egner H., Riehm H., Mingo W.R. (1960): Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung des Nährstoffzustandes der Böden. Kungl. Lantbrukshögsk. Ann. Uppsala 26:199-215.
- Eissenstat D.M., Newman E.I. (1990): Seedling establishment near large plants: effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on the intensity of plant competition. *Functional Ecology*, 4 (1): 95-99.

- Fellbaum C.R., Gachomo E.W., Beesetty Y., Choudhari S., Strahan G.D., Pfeffer P.E., Kiers E.T., Bücking H. (2012): Carbon availability triggers fungal nitrogen uptake and transport in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *PNAS*, 109(7): 2666-2671.
- Fitter A.H. (2001): Specificity, links and networks in the control of diversity in plant and microbial communities. *Huntly M.C., Levin S. (eds.) Ecology: achievement and challenge*. British Ecological Society Symposium 41,. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 95-114.
- Fitter A.H., Helgason T., Hodge A. (2011): Nutritional exchanges in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: implications for sustainable agriculture. *Fungal Biology Reviews*, 25, 68-72.
- Fixen P.E., West F.B. (2002): Nitrogen Fertilizers: Meeting Contemporary Challenges. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 31(2):169-176.
- Francis R., Read D.J. (1994): The contributions of mycorrhizal fungi to the determination of plant community structure. *Plant and Soil*, 159 (1): 11-25. p.
- Francis R., Read D. J. (1995): Mutualism and antagonism in the mycorrhizal symbiosis, with special reference to impacts on plant community structure. *Canadian Journal of Botany*, 73 (S1): 1301-1309.
- Frank B.F. (1885): Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, 3: 128-145.
- Franke-Snyder M., Douds D.D., Galvez L., Phillips J.G., Wagoner P., Drinkwater L., Morton J.B. (2001): Diversity of communities of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi present in conventional versus low-input agricultural sites in eastern Pennsylvania, USA. *Applied Soil Ecology*, 16 (1): 35-48.
- Friese C.F., Allen M.F. (1991): The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture. *Mycologia*, 83 (4): 409-418.
- Galvez L., Douds D.D., Drinkwater L.E., Wagoner P. (2001): Effect of tillage and farming system upon VAM fungus populations and mycorrhizas and nutrient uptake of maize. *Plant and Soil*, 228 (2): 299-308.
- Garbaye J. (1994): Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis (Tansley Review, 76). *New Phytologist*, 128: 197-210.
- Gaur A., Adholeya A., Mukerji K.G. (1998): A comparison of AM fungi inoculants using *Capsicum* and *Polianthes* in marginal soil amended with organic matter. *Mycorrhiza*, 7 (6): 307-312.

- Gavito M.E., Miller M.H. (1998): Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop management practices. *Plant and Soil*, 198(2): 185-192.
- Gemma J.N., Koske R.E. (1988): Seasonal variation in spore abundance and dormancy of *Gigaspora gigantea* and mycorrhizal inoculum potential of a dune soil. *Mycologia*, 80 (2): 211-216.
- George E. (2000): Nutrient uptake. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to plant mineral nutrition. In: *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function* Eds.: Kapulnik Y. and Douds D.D. Jr. Kluwer, 307-343.
- 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.
- Gildon A., Tinker P.B. (1983): Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants: I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 95 (2): 247-261.
- Giovannetti M. (2000): Spore germination and presymbiotic mycelial growth. In: *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*, EDS.: Kapulnik Y., Douds D.D., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 47-68.
- Giovannetti M., Mosse B. (1980): An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84(3): 489-500.
- Giovannetti M., Sbrana C. (1998): Meeting a non-host: the behaviour of AM fungi. *Mycorrhiza*, 8 :123–130.
- Giovannetti M., Sbrana C., Avio L., Strani P. (2004): Patterns of below-ground plant interconnections established by means of arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytologist*, 164 (1): 175-181.
- González-Guerrero M., Azcón-Aguilar C., Mooney M., Valderas A., MacDiarmid C.W., Eide D.J., Ferrol N. (2005): Characterization of a *Glomus* intraradices gene encoding a putative Zn transporter of the cation diffusion facilitator family. *Fungal Genetics and Biology*, 42:130–140.
- Goto B.T., Maia L.C. (2006): Glomerospores: a new denomination for the spores of *Glomeromycota*, a group molecularly distinct from the *Zygomycota*. *Mycotaxon*, 96: 129-132.
- Gough L., Osenberg C.W., Gross K.L., Collins S.L. (2000): Fertilization effects on species density and primary productivity in herbaceous plant communities. *Oikos*, 89: 428–439.

- Graham J.H., Leonard R.T., Menge J.A. (1981): Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular arbuscular mycorrhizae formation. *Plant Physiology*, 68 (3): 548-552.
- Gryndler M., Hrselova H., Striteska D. (2000): Effect of soil bacteria on hyphal growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*. *Folia Microbiologica*, 45: 545-551.
- Guether M., Balestrini R., Hannah M., He J., Udvardi M.K., Bonfante P. (2009): Genome-wide reprogramming of regulatory networks, transport, cell wall and membrane biogenesis during arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Lotus japonicus*. *New Phytologist*, 182: 200–212.
- Guggenberger G., Frey S., Six J., Paustian K., Elliot E. (1999): Bacterial and fungal cell-wall residues in conventional and no-tillage agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 63 (5): 1188-1198.
- Harinikumar K.M., Bagyaraj D.J. (1988): Effect of crop rotation on native vesicular-arbuscular mycorrhizal propagules in soil. *Plant and Soil*, 110(1): 77-80.
- Harrison M. J. (2005): Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Microbiology*, 59: 19-42.
- Harrison M.J., van Buuren M.L. (1995): A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature*, 378: 626–629.
- Hawkins H.J., George E. (1999): Effect of plant nitrogen status on the contribution of arbuscular mycorrhizal hyphae to plant nitrogen uptake. *Physiologia Plantarum*, 105(4): 694-700.
- Hawkins H.J., Johansen A., George E. (2000): Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 226: 275–285.
- Helgason, T., Fitter, A.H. (2009): Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (phylum *Glomeromycota*). *Journal of Experimental Botany*, 60: 2465–2480.
- Helgason T., Daniell T., Husband R., Fitter A.H., Young J. (1998): Ploughing up the worldwide web? *Nature*, 394(6692): 431.
- Helgason T., Merryweather J.W., Young J.P.W., Fitter A.H. (2007): Specificity and resilience in the arbuscular mycorrhizal fungi of a natural woodland community. *Journal of Ecology*, 95(4): 623-630.

- Hendrix J.W., Guo B.Z., An Z.-Q. (1995): Divergence of mycorrhizal fungal communities in crop production systems. *Plant and Soil*, 170(1): 131-140.
- 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 arbuszkuláris mikorrhiza gombaközösségre. *Tájökológiai Lapok*, 10:(2) 305-313.
- Hernádi I, Posta K (2013):_Real-case application of mycorrhizal inoculums on *Capsicum annum* L. var. *longum* cv. Szegedi and Kalocsa. *International Journal of Horticultural Science* (közlésre elfogadva)
- Hijri M., Sanders I.R. (2004): The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is haploid and has a small genome size in the lower limit of eukaryotes. *Fungal Genetics and Biology*, 41(2): 253-261.
- Hijri I., Sýkorová Z., Oehl F., Ineichen K., Mäder P., Wiemken A., Redecker D. (2006): Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. *Molecular Ecology*, 15 (8): 2277-2289.
- Hinsinger P. (2001): Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A review. *Plant and Soil*, 237: 173–195.
- Hodge A. (2000): Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. *FEMS Microbiology Ecology*, 32: 91-96.
- Hodge A. (2003): Plant nitrogen capture from organic matter as affected by spatial distribution, interspecific competition and mycorrhizal colonization. *New Phytologist*, 157: 303–314.
- Hodge A., Campbell C.D., Fitter A.H. (2001): An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature*, 413: 297-299.
- Hodge A., Berta G., Doussan C., Merchan F., Crespi M. (2009): Plant root growth, architecture and function. *Plant Soil*, 321: 153–187.
- Hodge A., Helgason T., Fitter A.H. (2010): Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology*, 3: 267–273.
- Hoeksema J.D., Chaudhary V.B., Gehring C.A., Johnson N.C., Karst J., Koide R.D., Pringle A., Zabinski C., Bever J.D., Moore J.C., Wilson G.W.T., Klironomos J.N., Umbanhowar J. (2010): A meta-analysis of context dependency in plant response to

- inoculations with mycorrhizal fungi. *Ecology Letters*, 13: 394-407.
- Hosny M., Gianinazzi-Pearson V., Dullieu H. (1998): Nuclear DNA content of 11 fungal species in *Glomales*. *Genome*, 41 (3): 422-428.
- Husband R., Herre E.A., Turner S.L., Gallery R., Young J.P.W. (2002): Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and patterns of host association over time and space in a tropical forest. *Molecular Ecology*, 11(12): 2669-2678.
- Ianson D.C., Allen M.F. (1986): The effects of soil texture on extraction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spores from arid sites. *Mycologia*, 78(2): 164-168.
- Inoue H., Nojima H., Okayama H. (1990): High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *Gene*, 96(1): 23-28.
- Jacquot E., van Tuinen D., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. (2000): Monitoring species of arbuscular mycorrhizal fungi in planta and in soil by nested PCR: application to the study of the impact of sewage sludge. *Plant and Soil*, 226(2): 179-188.
- Jacquot-Plumey E., van Tuinen D., Chatagnier O., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. (2001): 25S rDNA-based molecular monitoring of glomalean fungi in sewage sludge-treated field plots. *Environmental Microbiology*, 3(8): 525-531.
- Jansa J., Mozafar A., Anken T., Ruh R., Sanders I.R., Frossard E. (2002a): Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza*, 12(5): 225-234.
- Jansa J., Mozafar A., Banke S., McDonald B.A., Frossard E. (2002b): Intra- and intersporal diversity of ITS rDNA sequences in *Glomus intraradices* assessed by cloning and sequencing, and by SSCP analysis. *Mycological Research*, 106(6): 670-681.
- Jansa J., Mozafar A., Kuhn G., Anken T., Ruh R., Sanders I.R., Frossard E. (2003): Soil tillage affects the community structures of mycorrhizal fungi in maize roots. *Ecological Applications*, 13(4): 1164-1176.
- Jansa J., Mozafar A., Frossard E. (2005): Phosphorus Acquisition Strategies within Arbuscular Mycorrhizal Fungal Community of a Single Field Site. *Plant and Soil*, 276(1-2): 163-176. p.
- Jansa J., Smith F.A., Smith S.E. (2008): Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi? *New Phytologist*, 177: 779-789.
- Jargeat P., Cosseau C., Oulah B., Jauneau A., Bonfante P., Batut J., Becard G. (2004): Isolation, free-living capacities, and genome structure of 'Candidatus *Glomeribacter gigasporarum*', the endocellular bacterium of the mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *Journal of Bacteriology*, 186: 6876-6884.

- Jasper D.A., Abbott L.K., Robson A.D. (1989): Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 112(1): 93-99.
- Jasper D.A., Abbott L.K., Robson A.D. (1993): The survival of infective hyphae of vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi in dry soil: an interaction with sporulation. *New Phytologist*, 124(3): 473-479.
- Javot H., Penmetsa R.V., Terzaghi N., Cook D.R., Harrison M.J. (2007): A *Medicago truncatula* phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104: 1720–1725.
- Jefwa J.M., Sinclair R., Maghembe J.A. (2006): Diversity of glomale mycorrhizal fungi in maize/sesbania intercrops and maize monocrop systems in southern Malawi. *Agroforestry Systems*. 67(2): 107-114.
- Jin H., Pfeiffer P.E., Douds D.D., Piotrowski E., Lammers P.J., Shachar-Hill Y. (2005): The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 168: 687–696.
- Johansson J.F., Paul L.R., Finlay R.D. (2004): Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology*, 48: 1–13.
- Johnson N.C. (1993): Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? *Ecological Applications*, 3(4): 749-757.
- Johnson N.C., Pfeleger F.L. (1992): Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stress. In: *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Eds.:Bethlenfalvay G.J., Linderman R.G., ASA, Madison, Wis.I, 71-100.
- Johnson N.C., Pfeleger F.L., Crookston R.K., Simmons S.R., Copeland P.J. (1991): Vesicular-arbuscular mycorrhizas respond to corn and soybean cropping history. *New Phytologist*, 117(4): 657-663.
- Joner E.J., Briones R., Leyval C. (2000): Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant and soil*, 226(2): 227-234.
- Kabir Z. (2005): Tillage or no-tillage: Impact on mycorrhizae. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(1): 23-29.
- Karandashov V., Nagy R., Wegmuller S., Amrhein N., Bucher M. (2004): Evolutionary conservation of a phosphate transporter in the arbuscular mycorrhizal symbiosis.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
101: 6285–6290.
- Kardos D. (2011): A mikorrhiza oltás gyakorlati alkalmazásának lehetősége paprikánál hideghajtásban. Diplomadolgozat. Szent István Egyetem, Gödöllő. Témavezető: Dudásné Dr. Posta Katalin
- Kaya C., Ashraf M., Sonmez O., Aydemir S., Tuna A.L., Cullu M.A. (2009): The influence of arbuscular mycorrhizal colonisation on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity. *Scientia Horticulturae*, 121(1): 1-6.
- Kádár I. (1995): A talaj-növény-állat-ember tápláléklánc szennyeződése kémiai elemekkel Magyarországon. MTA TAKI. Budapest. 388 p.
- Kernaghan G. (2005): Mycorrhizal diversity: Cause and effect? *Pedobiologia*, 49(6): 511-520.
- Kim K.Y., Jordan D., McDonald G.A. (1998): Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and Fertility of Soils*, 26: 79–87.
- Kimura M. (1980): A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2): 111-120.
- Kjøller R., Rosendahl S. (2001): Molecular diversity of glomalean (arbuscular mycorrhizal) fungi determined as distinct *Glomus* specific DNA sequences from roots of field grown peas. *Mycological Research*, 105(9): 1027-1032.
- Klironomos J.N. (2003): Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, 84: 2292–2301.
- Klironomos J. N., Ursic M. (1998): Density dependent grazing on the extraradical hyphal network of the arbuscular fungus, *Glomus intraradices*, by the collembolan, *Folsomia candida*. *Biol. Fertil. Soils*, 26: 250-253.
- Koch A.M., Antunes P.M., Barto E.K., Cipollini D., Mummey D.L., Klironomos J.N. (2011): The effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungal and garlic mustard introductions on native AM fungal diversity. *Biological Invasion*, 13(7): 1627-1639.
- Koide R.T., Dickie I.A. (2002): Effects of mycorrhizal fungi on plant populations. *Plant and Soil*, 244(1-2): 307-317.
- Koide R.T., Mosse B. (2004): A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza*, 14: 145-163.
- Kosuta S., Chabaud M., Lougnon G., Gough C., Dénarié J., Barker D.G., Bécard G. (2003): A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific

- MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula*. *Plant Physiology*, 131(3): 952-962.
- Krüger M., Stockinger H., Krüger C., Schüßler A. (2009): DNA-based species level detection of *Glomeromycota*: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 183(1): 212-223.
- Krüger M., Krüger C., Walker C., Stockinger H., Schüßler A. (2012): Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level. *New Phytologist*, 193(4): 970-984.
- Kucey R.M.N., Leggett M.E. (1989): Increased yields and phosphorous uptake by Westar canola (*Brassica napus* L.) inoculated with a phosphate-solubilizing isolate of *Penicillium bilaii*. *Canadian Journal of Plant Science*, 69: 425–432.
- Lammers P.J., Jun J., Abubaker J., Arreola R., Gopalan A., Bago B., Hernandez-Sebastian C., Allen J.W., Douds D.D., Pfeffer P.E., Shachar-Hill Y. (2001): The glyoxylate cycle in an arbuscular mycorrhizal fungus. Carbon flux and gene expression. *Plant Physiology*, 127: 1287–1298.
- Lanfranco L., Delpero M., Bonfante P. (1999): Intrasporal variability of ribosomal sequences in the endomycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *Molecular Ecology*, 8(1): 37-45.
- Lee J., Lee S., Young J.P.W. (2008): Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 65(2): 339-349.
- Leigh J., Hodge A., Fitter A.H. (2009): Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phytologist*, 181: 199–207.
- Lekberg Y., Koide R.T., Rohr J.R., Aldrichwolfe L., Morton J.B. (2007): Role of niche restrictions and dispersal in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Journal of Ecology*, 95: 95-105.
- Lindahl B.D., Ihrmark K., Boberg J., Trumbore S.E., Högberg P., Stenlid J., Finlay R.D. (2007): Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytologist*, 173: 611–620.
- Linderman R.G. (1997): Vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi. In: *The Mycota*. Eds.: Carroll G.C., Tudzynski P., Berlin, Germany: Springer-Verlag, 117–128.
- Linderman R.G. (1988): Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology*, 78: 366–371.

- Linderman R.G. (2000): Effects of mycorrhizas on plant tolerance to diseases. In *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Eds.: Kapulnik, Y., Douds, D.D.J., Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 345–365.
- Linderman R.G., Davis A.E. (2004): Varied response of marigold (*Tagetes* spp.) genotypes to inoculation with different arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae*, 99: 67-78.
- Lloyd-MacGilp S., Chambers S.M., Dodd J.C., Fitter A.H., Walker C., Young J.P.W. (1996): Diversity of the ribosomal internal transcribed spacers within and among isolates of *Glomus mosseae* and related mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 133(1): 103-112.
- López-Pedrosa A., Gonzalez-Guerrero M., Valderas A., Azcón-Aguilar C., Ferrol N. (2006): GintAMT1 encodes a functional highaffinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*. *Fungal Genetics and Biology*, 43: 102–110.
- Lupwayi N.Z., Rice W.A., Clayton G.W. (1998): Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(13): 1733-1741.
- Maillet F., Poinot V., André O., Puech-Pagès V., Haouy A., Gueunier M., Cromer L., Giraudet D., Formey D., Niebel A., Martinez E.A., Driguez H., Bécard G., Dénarié J. (2011): Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature*, 469(7328): 58-63.
- Maldonado-Mendoza I.E., Dewbre G.R., Harrison M.J. (2001): A phosphate transporter gene from the extra-radical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is regulated in response to phosphate in the environment. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14: 1140–1148.
- Marschner H. (1998): Role of rootgrowth, arbuscular mycorrhiza, and root exudates for the efficiency in nutrient acquisition. *Field Crops Research*, 56: 203- 207.
- Marschner H., Dell B. (1994): Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 159(1): 89-102.
- Marschner P., Crowley D., Lieberei R. (2001): Arbuscular mycorrhizal infection changes bacterial 16s DNA community composition in the rhizosphere of maize. *Mycorrhiza*, 11: 297-302.
- Martin F., Gianinazzi-Pearson V., Hijri M., Lammers P., Requena N., Sanders I.R., Shachar-Hill Y., Shapiro H., Tuskan G.A., Young J.P.W. (2008): The long hard road to a completed *Glomus intraradices* genome. *New Phytologist*, 180(4): 747-750.

- Mathimaran N., Ruh R., Vullioud P., Frossard E., Jansa J. (2005): *Glomus intraradices* dominates arbuscular mycorrhizal communities in a heavy textured agricultural soil. *Mycorrhiza*, 16(1): 61-66.
- Mathimaran N., Ruh R., Jama B., Verchot L., Frossard E., Jansa J. (2007): Impact of agricultural management on arbuscular mycorrhizal fungal communities in Kenyan ferralsol. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 119(1-2): 22-32.
- Mayo K., Davis R.E., Motta J. (1986): Stimulation of germination of spores of *Glomus versiforme* by spore-associated bacteria. *Mycologia*, 78: 426-431.
- McDonald R.M., Chandler M.R. (1981): Bacterium-like organelles in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus caledonius*. *New Phytologist*, 89: 241-246.
- McGonigle T.P., Miller H. (1996): Mycorrhizae, phosphorus absorption, and yield of maize in response to tillage. *Soil Science Society of America Journal*, 60(6): 1856-1861.
- Merryweather J., Fitter A. (1998): The arbuscular mycorrhizal fungi of *Hyacinthoides non-scripta* - II. Seasonal and spatial patterns of fungal populations. *New Phytologist*, 138(1): 131-142.
- Meyer J.R., Linderman R.G. (1986): Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular fungi and a plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biology and Biochemistry*, 18: 185-190.
- Moore J. C., St John, T. V., Coleman D. C. (1985): Ingestion of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae and spores by soil microarthropods. *Ecology*, 66: 1979-1981.
- Morton J.P. (1993): Properties of infective propagules at the suborder level. (*Glominae* versus *Gigasporineae*). *INVAM Newsletter*, 3.
- Mosse B. (1970): Honey-coloured, sessile *Endogone* spores. II. Changes in fine structure during spore development. *Archiv für Mikrobiologie*, 74: 129-145.
- Mummey D.L., Antunes P.M., Rillig M.C. (2009): Arbuscular mycorrhizal fungi pre-inoculant identity determines community composition in roots. *Soil Biology and Biochemistry*, 41:1173-1179.
- 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.
- Myers R.M., Maniatis T., Lerman L.S. (1987): Detection and localisation of single base changes by denaturing gel electrophoresis. *Methods in Enzymology*, 155: 501-527.

- Nakano A., Takahashi K., Kimura M. (2001): Effect of host shoot clipping on carbon and nitrogen sources for arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 10: 287-293.
- Nowak J. (2004): Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and organic fertilization on growth, flowering, nutrient uptake, photosynthesis and transpiration of geranium (*Pelargonium hortorum* L.H. Bailey 'Tango Orange'). *Symbiosis*, 37: 259-266.
- O'Donovan J.T., McAndrew D.W. (2000): Effect of tillage on weed populations in continuous barley (*Hordeum vulgare*). *Weed Technology*, 14(4): 726-733.
- Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Mäder P., Boller T., Wiemken A. (2003): Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(5): 2816-2824.
- Oehl F., Sieverding E., Mäder P., Dubois D., Ineichen K., Boller T., Wiemken A. (2004): Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia*, 138(4): 574-583.
- Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Ris E.A., Boller T., Wiemken A. (2005): Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. *New Phytologist*, 165(1): 273-283.
- Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Mäder P., Wiemken A., Boller T. (2009): Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 134(3-4): 257-268.
- Oehl F., Laczko E., Bogenrieder A., Stahr K., Bosch R., van der Heijden M., Sieverding E. (2010): Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(5): 724-738.
- Ohtomo R., Saito M. (2005): Polyphosphate dynamics in mycorrhizal roots during colonization of an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist*, 167: 571-578.
- Oliveira C.A., Sá N.M.H., Gomes E.A., Marriell I.E., Scotti M.R., Guimaraes C.T., Schaffert R.E., Alves V.M.C. (2009): Assessment of the mycorrhizal community in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) genotypes contrasting for phosphorus efficiency in the acid savannas of Brazil using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). *Applied Soil Ecology*, 41(3): 249-258.
- Olsson P.A., van Aarle I.M., Gavito M.E., Bengtson P., Bengtsson G. (2005): ¹³C incorporation into signature fatty acids as an assay for carbon allocation in arbuscular mycorrhiza. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(5): 2592-2599.

- Orita M., Iwahana H., Kanazawa H., Hayashi K., Sekiya T. (1989): Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(8): 2766-2770.
- Öpik M., Moora M., Liira J., Zobel M. (2006): Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology*, 94(4): 778-790.
- Öpik M., Vanatoa A., Vanatoa E., Moora M., Davison J., Kalwij J.M., Reier Ü., Zobel M. (2010): The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). *New Phytologist*, 188(1): 223-241.
- Palma R.M., Arrigo N.M., Saubidet M.I., Conti M.E. (2000): Chemical and biochemical properties as potential indicators of disturbances. *Biology and Fertility of Soils*, 32(5): 381-384.
- Parniske M. (2008): Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 6: 763-775.
- Pawlowska T.E., Taylor J.W. (2004): Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 427: 733-737.
- Pellegrino E., Bedini S., Avio L., Bonari E., Giovannetti M. (2011): Field inoculation effectiveness of native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi in a Mediterranean agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(2): 367-376.
- Perner H., Schwarz D., Bruns C., Mäder P., George E. (2007): Effect of arbuscular mycorrhizal colonization and two levels of compost supply on nutrient uptake and flowering of pelargonium plants. *Mycorrhiza*, 17(5): 469-474.
- Pfeffer P.E., Douds D.D., Bécard G., Shachar-Hill Y. (1999): Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiology*, 120: 587-598.
- Phillips J.M., Hayman D.S. (1970): Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1): 158-161.
- Pirozynski K.A., Malloch D.W. (1975): The origin of land plants: a matter of mycotropism. *Biosystems*, 6: 153-164.

- Plenchette C., Clermont-Dauphin C., Meynard J.M., Fortin J.A. (2005): Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(1): 31-40.
- Posta K., Marschner H., Römheld V. (1994): Manganese reduction in the rhizosphere of mycorrhizal and nonmycorrhizal maize. *Mycorrhiza*, 5: 119-124.
- Posta K., Füleky Gy. (1997): Foszfortrágyázás hatása a kukorica (*Zea mays* L. cv. Pioneer) mikorrhizáltságára *Glomus mosseae* (Nicol. Gerd.) fertőzéskor. *Növénytermelés*, 46: 573-582.
- Posta K., Füzy A., Biró B. (2006): Mycorrhizal colonization of clover after 12 years of metal. *Bulletin of the Szent István University*, 81-88.
- Pozo M.J., Azcón-Aguilar C. (2007): Unravelling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 10: 393-398.
- Pozo M.J., Cordier C., Dumas-Gaudot E. (2002): Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *Journal of Experimental Botany*, 53(368): 525-534.
- Rasmussen H.N. (2002): Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. *Plant and Soil*, 244(1-2): 149-163.
- Ratnayake M., Leonard R.T., Menge J.A. (1978): Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytologist*, 81(3): 543-553.
- Read D.J., Perez-Moreno J. (2003): Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems - a journey towards relevance? *New Phytologist*, 157: 475-492.
- Reddy S.R., Pindi P.K., Reddy S. M. (2005): Molecular methods for research on arbuscular mycorrhizal fungi in India: problems and prospects. *Current science*, 89(10): 1699-1709.
- Redecker D., Thierfelder H., Walker C., Werner D. (1997): Restriction analysis of PCR-amplified internal transcribed spacers of ribosomal DNA as a tool for species identification in different genera of the order *Glomales*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(5): 1756-1761.
- Redecker D., Kodner R., Graham L.E. (2000): *Glomalean* fungi from the Ordovician. *Science*, 289: 1920-1921.
- Remy W., Taylor T.N., Hass H., Kerp H. (1994): Four hundred-million-year-old vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(25): 11841-11843.

- Requena N., Perez-Solis E., Azcón-Aguilar C., Jeffries P., Barea J.M. (2001): Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(2): 495-498.
- Richardson A.E. (2001): Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28(9): 897 – 906.
- Rillig M.C., Wright S.F., Eviner V.T. (2002): The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant and Soil*, 238(2): 325-333.
- Rinaudo V., Barberi P., Giovannetti M., van der Heijden M.G.A. (2010): Mycorrhizal fungi suppress aggressive agricultural weeds. *Plant and Soil*, 333: 7-20.
- Robinson D., Fitter A. (1999): The magnitude and control of carbon transfer between plants linked by a common mycorrhizal network. *Journal of Experimental Botany*, 50: 9-13.
- Roesti D., Ineichen K., Braissant O., Redecker D., Wiemken A., Aragno M. (2005): Bacteria associated with spores of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus geosporum* and *Glomus constrictum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 6673-6679.
- Rodriguez A., Dougall T., Dodd J.C., Clapp J.C. (2001): The large subunit ribosomal RNA genes of *Entrophospora infrequens* comprise sequences related to two different glomalean families. *New Phytologist*, 152(1): 159-167.
- Rosendahl S., Sen R. (1992): Isozyme analysis of mycorrhizal fungi and their mycorrhizas. *Methods in Microbiology*, 24: 167–194.
- Russo V.M., Perkins-Veazie P. (2010): Yield and nutrient content of bell pepper pods from plants developed from seedlings inoculated, or not, with microorganisms. *HortScience*, 45(3): 352-358.
- Saito K., Nishiwaki A., Sugawara K. (2000): DNA extraction from arbuscular mycorrhizal roots of *Miscanthus sinensis* Anderss. collected in the native grassland. *Grassland Science*, 46(2): 182-184.
- Saito K., Nishiwaki A., Sugawara K. (2001): Nested PCR amplification of arbuscular mycorrhizal fungal 18 S rRNA genes from field-collected roots. *Grassland Science*, 47(1): 1-8.
- 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.
- Saitou N., Nei M. (1987): The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4): 406-425.

- Sanchez L., Weidmann S., Brechenmacher L., Batoux M., van Tuinen D., Lemanceau P., Gianniazzi S., Gianinazzi-Pearson V. (2004): Common gene expression in *Medicago truncatula* roots in response to *Pseudomonas fluorescens* colonization, mycorrhiza development and nodulation. *New Phytologist*, 161: 855- 863.
- Sanders I.R., Ravolanirina F., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Lemoine M.C. (1992): Detection of specific antigens in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi *Gigaspora margarita* and *Acaulospora laevis* using polyclonal antibodies to soluble spore fractions. *Mycological Research*, 96: 477–480.
- 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: S123-S130.
- 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.
- Sasvári Z., Magurno F., Posta K (2012): Hosszú időtartamú monokultúrás termesztésből és különböző vetésforgó rendszerekből származó növények arbuszkuláris mikorrhiza (AM) gomba-közösségeinek vizsgálata. *Tájökológiai lapok* 10:(2) pp. 351-360.
- Sawers R.J.H., Gutjahr C., Paszkowski U. (2008): Cereal mycorrhiza: an ancient symbiosis in modern agriculture. *Trends in Plant Science*, 13(2): 93-97.
- Scannerini S., Bonfante P. (1991): Bacteria and bacteria like objects in endomycorrhizal fungi (*Glomaceae*). In *Symbiosis as a Source of Evolutionary Innovation: Speciation and Morphogenesis*. Eds.: Margulis L., Fester R., Cambridge, MA, USA: MIT Press, 273–287.
- Schloss P.D., Westcott S.L., Ryabin T., Hall J.R., Hartmann M., Hollister E.B., Lesniewski R.A., Oakley B.B., Parks D.H., Robinson C.J., Sahl J.W., Stres B., Thallinger G.G., van Horn D.J., Weber C.F. (2009): Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23): 7537-7541.
- Schroeder M.S., Janos D.P. (2005): Plant growth, phosphorus nutrition, and root morphological responses to arbuscular mycorrhizas, phosphorus fertilization, and intraspecific density. *Mycorrhiza*, 15(3): 203-216.
- Schüßler A., Schwarzott D., Walker C. (2001): A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105(12): 1413-1421.

- Schüßler A., Schwarzott D., Walker C. (2003): *Glomeromycota* rRNA genes —the diversity of myths? *Mycorrhiza*, 13(4): 233-236.
- Schwartz M.W., Hoeksema J.D., Gehring C.A., Johnson N.C., Klironomos J.N., Abott L.K., Pringle A. (2006): The promise and the potential consequences of the global transport of mycorrhizal fungal inoculum. *Ecology Letters*, 9(5): 501-515.
- Selosse M.-A., Richard F., He X., Simard S.W. (2006): Mycorrhizal networks: *des liaisons dangereuses?* *Trends in Ecology and Evolution*, 21(11): 621-628.
- 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.
- Sieverding E. (1990): Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 29(1-4): 369-390.
- Simon L., Biró B (2005): Adalékanyagok; vörös csenkesz és Zn-toleráns arbuszkuláris mikorrhiza gombák szerepe a nehézfémekkel szennyezett gyöngyösoroszi bányameddő remediációjában. *Agrokémia és Talajtan*, 54, 163-177.
- Simon L.M., Lalonde T.D., Bruns T.D. (1992): Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi colonizing roots. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(1): 291-295.
- Smith F.A., Smith S.E. (1997): Tansley review No. 96. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 137(3): 373-388.
- Smith S.E., Read D.J. (1997): Mycorrhizal Symbiosis, 2nd ed. *Academic Press*, London.
- Smith S.E., Read D.J. (2008): Mycorrhizal Symbiosis, 3rd ed. *Academic Press*, London.
- Smith S.E., Dickson S., Morris C., Smith F.A. (1994): Transport of phosphate from fungus to plant in VA mycorrhizas: Calculation of the area of symbiotic interface and of fluxes of P from two different fungi to *Allium porrum* L. *New Phytologist*, 127: 93-99.
- Smith S.E., Smith F.A., Jakobsen I. (2003): Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiology*, 133(1): 16-20.
- Smith S.E., Smith F.A., Jakobsen I. (2004): Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not

- correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist*, 162: 511–524.
- Smith F.A., Grace E.J., Smith S.E. (2009): More than a carbon economy: nutrient trade and ecological sustainability in facultative arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 182: 347–358.
- Solaiman M.Z., Saito M. (1997): Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry. *New Phytologist*, 136: 533–538.
- Stockinger H., Krüger M., Schüßler A. (2010): DNA barcoding of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 187(2): 461-474.
- Straker C.J. (1996): Ericoid mycorrhiza: ecological and host specificity. *Mycorrhiza*, 6(4): 215-225.
- Streit B., Stamp P., Richner W. (2000): Impact of different tillage intensities on weed populations in arable lands. *Journal of Plant Diseases and Protection*, S7: 41-46.
- Stukenbrock E.H., Rosendahl S. (2005): Distribution of dominant arbuscular mycorrhizal fungi among five plant species in undisturbed vegetation of a coastal grassland. *Mycorrhiza*, 15(7): 497-503.
- Takács T. (2012): Site-Specific optimization of arbuscular mycorrhizal fungi mediated phytoremediation. In: Almas Zaidi, Parvaze Ahmad Wani, Mohammad Saghir Khan (szerk.) Toxicity of heavy metals to legumes and bioremediation Wien: Springer, 179-202. p. ISBN:978-3-7091-0729-4.
- Takács T. Bíró B, Vörös I. (2000): Kadmium, nikkél és cink hatása az arbuszkuláris mikorrhiza gombák faji diverzitására. *Agrokémia Talajtan*, 49: 465-478.
- Talbot J.M., Treseder K.K. (2010): Controls over mycorrhizal uptake of organic nitrogen. *Pedobiologia*, 53: 169-179.
- Talbot J.M., Allison S.D., Treseder K.K. (2008): Decomposers in disguise: Mycorrhizal fungi as regulators of soil C dynamics in ecosystems under global change. *Functional Ecology*, 22(6): 955-963.
- Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. (2007): MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24(8): 1596-1599.
- Tanaka Y., Yano K. (2005): Nitrogen delivery to maize via mycorrhizal hyphae depends on the form of N supplied. *Plant, Cell and Environment*, 28: 1247–1254.

- Taylor D.L., Bruns T.D. (1997): Independent, specialized invasions of ectomycorrhizal mutualism by two nonphotosynthetic orchids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(9): 4510-4515.
- Tennant D. (1975): A test of modified line intersect method of estimating root length. *J. Ecol.*, 63: 995-1001.
- Tinker P.B., Nye P.H. (2000): *Solute Movement in the Rhizosphere*. Oxford University Press, New York
- Toljander J.F., Lindahl B.D., Paul L.R., Elfstrand M., Finlay R.D. (2007) Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure. *FEMS Microbiology Ecology*, 61: 295-304.
- Toljander J.F., Santos-González J.C., Tehler A., Finlay R.D. (2008): Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria in the maize mycorrhizosphere in a long-term fertilization trial. *FEMS Microbiology Ecology*, 65(2): 323-338.
- Tonin C., Vandenkoornhuysen P., Joner E.J., Straczek J., Leyval C. (2001): Assessment of arbuscular mycorrhizal fungi diversity in the rhizosphere of *Viola calaminaria* and effect of these fungi on heavy metal uptake by clover. *Mycorrhiza*, 10(4): 161-168.
- Treseder K.K. (2004): A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO₂ in field studies. *New Phytologist*, 164: 347-355.
- Tu C., Booker F.L., Watson D.M., Chen X., Ruffly T.W., Shi W., Hu S.J. (2006) Mycorrhizal mediation of plant N acquisition and residue decomposition: impact of mineral N inputs. *Global Change Biology*, 12: 793– 803.
- Turnau K., Ryszka P., Gianinazzi-Pearson V., Van Tuinen D. (2001): Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc wastes in Southern Poland. *Mycorrhiza*, 10(4): 169-174.
- van der Heijden M.G.A., Klironomos J.N., Ursic M., Moutoglou P., Streitwolf-Engel R., Boller T., Wiemken A., Sanders I.R. (1998): Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396(6706): 69-72.
- van der Heijden M.G.A. (2002): Arbuscular mycorrhizal fungi as a determinant of plant diversity: in search for underlying mechanisms and general principles. In: *Mycorrhizal Ecology*. Ecological Studies 157. Eds.: van der Heijden M.G.A., Sanders I.R., Springer Verlag, Heidelberg, Germany.
- van der Heijden M.G.A., Streitwolf-Engel R., Riedl R., Siegrist S., Neudecker A., Ineichen K., Boller T., Wiemken A., Sanders I.R. (2006): The mycorrhizal contribution to plant

- productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. *New Phytologist*, 172: 739-752.
- van der Heijden M.G.A., Horton T.R. (2009): Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. *Journal of Ecology*, 97: 1139-1150.
- van der Krift T.A.J., Berendse F. (2001): The effect of plant species on soil nitrogen mineralization. *Journal of Ecology*, 89: 555-561.
- van Tuinen D., Jacquot E., Zhao B., Gollote A., Gianinazzi-Pearson V. (1998): Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR. *Molecular Ecology*, 7(7): 879-887.
- Vance C.P., Uhde-Stone C., Allan D.L. (2003): Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*, 157(3): 423-447.
- Vandenkoornhuyse P., Husband R., Daniell T.J., Watson I.J., Duck J.M., Fitter A.H., Young J.P.W. (2002): Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. *Molecular Ecology*, 11(8): 1555-1564.
- Venkateshwar Rao G.C., Manoharachary C., Kunwari I.K., Rajeshwar Rao B.R. (2000): Arbuscular mycorrhizal fungi associated with some economically important spices and aromatic plants. *The Philippine Journal of Science*, 129: 1-5.
- Verbruggen E., Rölting W.F.M., Gamper H.A., Kowalchuk G.A., Verhoef, H. A., van der Heijden M.G.A. (2010): Positive effects of organic farming on below-ground mutualists: large-scale comparison of mycorrhizal fungal communities in agricultural soils. *New Phytologist*, 186(4): 968-979.
- Veresoglou S.D., Chen B.D., Rillig M.C. (2012): Arbuscular mycorrhiza and soil nitrogen cycling. *Soil Biology and Biochemistry*, 46: 53-62.
- Vessey J.K. (2003): Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255: 571-586.
- Vestergard M., Henry F., Rangel-Castro J.I., Michelsen A., Prosser J.I., Christensen S., (2008): Rhizosphere bacterial community composition responds to arbuscular mycorrhiza, but not to reductions in microbial activity induced by foliar cutting. *FEMS Microbiology Ecology*, 64: 78-89.

- 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.
- Vivas A, Vörös I, Biró B, Campos E, Barea JM., Azcón, R (2003): Symbiotic efficiency of autochthonous arbuscular mycorrhizal fungus (*G. Mossae*) and *Brevibacillus* sp. isolated from cadmium polluted soil under increasing cadmium levels. *Environmental Pollution*, 126: 179-189.
- Vivas A, Vörös I, Biró B, Barea JM., Ruiz-Lozano JM., Azcón, R (2003a): Beneficial effects of indigenous Cd-tolerant and Cd-sensitive *Glomus mossae* associated with Cd-adapted strain of *Brevibacillus* sp. in improving plant tolerance to Cd contamination. *Applied Soil Ecology*, 24: 177-186.
- Vivas A., Biró B., Ruíz-Lozano JM, Barea JM, Azcón R. (2006): Two bacterial strains isolated from a Zn-polluted soil enhance plant growth and mycorrhizal efficiency under Zn-toxicity. *Chemosphere*, 62: 1523-1533.
- Vosátka M., Albrechtová J. (2008): Theoretical aspects and practical uses of mycorrhizal technology in floriculture and horticulture. In: Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology. Ed.: Teixeira da Silva J.A., Advances and Topical Issues, Global Science Books Ltd., Takamatsu, Japan, 466-479.
- Vosátka M., Albrechtová J., Patten R. (2008): The international market development for mycorrhizal technology. In: Mycorrhiza. Ed.: Varma A., Springer-Verlag, Berlin. 419-438.
- Wang B., Qiu Y.L. (2006): Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16(5): 299-363.
- Whiteside M.D., Treseder K.K., Atsatt P. (2009): The brighter side of soils: quantum dots track organic nitrogen through fungi and plants. *Ecology*, 90: 100–108.
- Whitfield J. (2007): Fungal roles in soil ecology: Underground networking. *Nature*, 449(7159): 136-138.
- Williams S.C.K., Vestberg M., Uosukainen M., Dodd J.C., Jeffries P. (1992): Effects of fertilizers and arbuscular mycorrhizal fungi on the post-vitro growth of micropropagated strawberry. *Agronomie*, 12: 851-857.
- Wright S.F., Starr J.L., Paltineanu I.C. (1999): Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. *Soil Science Society of America Journal*, 63: 1825-1829.

- Wright D.P., Scholes J.D., Read D.J., Rolfe S.A. (2005): European and African maize cultivars differ in their physiological and molecular responses to mycorrhizal infection. *New Phytologist*, 167(3): 881-896.
- Young J.P.W. (2012): A molecular guide to the taxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 193: 823-826.
- Yu T.E., Egger K.N., Peterson R.L. (2001): Ectendomycorrhizal associations - characteristics and functions. *Mycorrhiza*, 11(4): 167-177.
- Yue J.C., Clayton M.K. (2005): A similarity measure based on species proportions. *Communications in Statistics: Theory and Methods*, 34(11): 2123-2131.
- Zerche S., Druege U., Kadner R. (2008): Nitrogen absorption, growth of stock plants, and adventitious rooting of *Pelargonium x hortorum* cuttings as affected by the form and dosage of nitrogen. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 83(2): 207-217.

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném megköszönni a Szent István Egyetemnek, hogy közel harminc éve biztosítja a kutatásaimhoz szükséges helyszínt és a kutatáshoz szükséges anyagi források megteremtéséhez a pályázási lehetőségeket. Köszönöm a SzIE Doktori Iskolájának és vezetőjének Dr. Hornok Lászlónak egyéni példamutatását és a doktoranduszok által nyújtott segítséget.

Külön köszönöm Dr. Bakonyi Gábor professzor úrnak, és Dr. Seres Anikónak az ugróvillásokkal kapcsolatos közös munkában nyújtott segítségüket.

Köszönet illeti meg Dr. Sasvári Zita és Dr. Magurno Franco kitaró és precíz munkáját, akik a szekvencia elemzések mellett a laboratóriumi munkában, a hosszúidőtartamú kísérletek feldolgozásánál is óriási segítséget nyújtottak, valamint Dr. Bíró Borbálának a doktori munkámhoz kapcsolódó segítségért és támogatásért.

Köszönettel tartozom a Gödöllői Biotechnológiai Kutatóintézet volt Mikológiai Kutatócsoportjának minden egykori dolgozójának, hogy laboratóriumi munkámat az induláskor segítette. Köszönöm továbbá a Növényvédelmi Intézet és a Mikrobiológia és Környezettoxikológiai Csoport támogatását. Külön köszönet Gódor Imréné laboránsnak, a növényházi és szabadföldi kísérletek ápolásáért valamint Hernádi Ildikó és Csima Gergely PhD hallgatóimnak.

Köszönetemet szeretném kifejezni az MTA Martonvásári Kutatóintézetének a mintavételi lehetőségért, valamint Dr. Berzsényi Zoltánnak és Dr. Bónis Péternek a mintavételezéseknél nyújtott segítségükért.

Szeretném még megköszönni családom és barátaim szeretetét, támogatását és türelmét.

Végül, de nem utolsó sorban külön köszönöm Édesapámnak, hogy a tudomány és tisztesség iránti alázatával olyan példát mutatott, mely követendő példa és meghatározó elem lett kutatói és magánéletemben egyaránt.

11. MELLÉKLETEK

M1. A hivatkozott publikációkban szereplő taxonnevek jelenlegi megfelelői

Hivatkozott AM gomba-taxonnevek	Jelenlegi szinoním elnevezés	Referencia
<i>Acaulospora longula</i>	*	SCHENCK et al. 1984
<i>Acaulospora paulinae</i>	*	BLASZKOWSKI 1988
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	*	TRAPPE 1977
<i>Archaeospora trappei</i>	*	MORTON és REDECKER 2001
<i>Entrophospora infrequens</i>	*	AMES és SCHNEIDER 1979
<i>Entrophospora schenckii</i>	<i>Archaeospora schenckii</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Gigaspora gigantea</i>	*	GERDEMANN és TRAPPE 1974
<i>Gigaspora margarita</i>	*	BECKER és HALL 1976
<i>Glomus aggregatum</i>	*	SCHENCK és SMITH 1982
<i>Glomus albidum</i>	*	WALKER és RHODES 1981
<i>Glomus caledonium</i>	<i>Funneliformis caledonium</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus claroideum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus clarum</i>	<i>Rhizophagus clarus</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus constrictum</i>	<i>Septoglomus constrictum</i>	OEHL et al. 2011
<i>Glomus coronatum</i>	<i>Funneliformis coronatus</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus diaphanum</i>	<i>Rhizophagus diaphanus</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus geosporum</i>	<i>Funneliformis geosporum</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus globiferum</i>	*	KOSKE és WALKER 1986
<i>Glomus intraradices</i>	<i>Rhizophagus intraradices</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus intraradices</i> DAOM197198	<i>Rhizophagus irregularis</i>	KRÜGER et al. 2012
<i>Glomus mossae</i>	<i>Funneliformis mossae</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus occultum</i>	<i>Paraglomus occultum</i>	MORTON és REDECKER 2001
<i>Glomus proliferum</i>	<i>Rhizophagus proliferus</i>	SCHÜBLER és WALKER 2010
<i>Glomus viscosum</i> BEG 27	<i>Viscospora viscosa</i> ?	OEHL et al. 2011
<i>Paraglomus occultum</i>	*	MORTON és REDECKER 2001
<i>Scutellospora calospora</i>	*	WALKER és SANDERS 1986
<i>Scutellospora fulgida</i>	<i>Racocetra fulgida</i>	OEHL et al. 2008
<i>Scutellospora heterogama</i>	<i>Dentiscutata heterogama</i>	OEHL et al. 2008
<i>Scutellospora pellucida</i>	<i>Cetraspora pellucida</i>	OEHL et al. 2008
<i>Scutellospora verrucosa</i>	<i>Racocetra verrucosa</i>	OEHL et al. 2008

*Nem változott

M2. Táptalajok, tápoldatok, antibiotikumok, baktérium törzsek, pufferek

Transzformáláshoz:

Felhasznált baktérium törzs:

Escherichia coli DH5 α

Jellemzők: F⁻ *gyrA96*(NaI^r) *recA1* *relA1* *endA1* *thi-1**hsdR17*(r_k⁻m_k⁺) *glnV44* *deo R* Δ
(*lacZYA-argF*)U196[Φ 80d Δ (*lacZ*)M15]

SOB folyékony tápoldat:

0.5 % élesztő kivonat

2 % bacto-tripton

10 mM NaCl

2.5 mM KCl

10 mM MgCl₂

10 mM MgSO₄_____

500 ml desztillált vízben (NaOH-val pH 7,00)

TB puffer oldat:

10 mM Hepes

15 mM CaCl₂

250 mM KCl

pH 6.7-re beállítva KOH-val

+55 mM MnCl₂_____

1000 ml desztillált vízben (45 μ m-es szűrőn sterilre szűrve)

LB (Luria-Bertrani Medium) tápoldat és táptalaj:

A tápoldatot 1 liter desztillált vízben 10 g tripton, 5 g élesztőkivonat és 10 g NaCl feloldásával állítottuk elő. A táptalaj készítésénél 16 g L⁻¹ agar-agart adtunk a tápoldathoz

LB_{AmpIPTG X-gal} táptalaj:

20 ml LB táptalajra 40 μ l X-gal oldatot (20 mg ml⁻¹) és 4 μ l IPTG oldatot (200 mg ml⁻¹) szélesztettünk. 37 °C-on tárolva, 2 óra elteltével használtuk, mint szelektív táptalajt. Az ampicillin (Amp) antibiotikum 100 μ g ml⁻¹ végkoncentrációban került alkalmazásra.

Agaróz gélelektroforézishez:

STOP kék puffer:

Mintafelvívő oldat, amely leállítja az enzimaktivitást, glicerin tartalma sűrűsít, brómfenolkék tartalma láthatóvá teszi a futási pozíció frontját a gélben.

1 ml 0,5 mol EDTA, 200 µl 10% SDS, 6,9 ml 87% glicerin, 0,0025 g brómfenolkék, 1 ml 10x TBE, 10 ml-re kiegészítve desztillált vízzel.

10xTBE:

1 mol TRIS (C₄H₁₁NO₃)

0,83 mol bórsav (H₃BO₃)

25 mmol Na₂EDTA

1000 ml desztillált vízben (pH 8,3)

2% agaróz gél:

2 g agaróz, 0,1 µl ml⁻¹ etidium-bromid, 100 ml 1xTBE

Molekulasúly marker:

Minden esetben a Gene Ruler™ DNA Ladder Mix (10 kb, Fermentas) markert használtuk.

Gyökérkolonizáció meghatározásához:

10%-os KOH oldat: 10 w/v% KOH, desztillált vízben.

5%-os tinta oldat (Pelikán Kék): 5 w/v% Pelikán Kék tinta, desztillált vízben.

5%-os ecetsav oldat: 5 w/v% ecetsav, desztillált vízben.

5%-os tinta-ecetsav keveréke: 5 w/v% tinta, 5%-os ecetsav oldatban.

Cukorsűrűség-grádiens centrifugáláshoz:

50%-os cukoroldat: 50 w/v% szacharóz, desztillált vízben.

M3. A vizsgált tartamkísérletek talajainak főbb paraméterei

	Humusz (%)	pH (KCl)	AL-P₂O₅ (ppm)	AL-K₂O (ppm)
A trágyázási kísérlet kezelése				
400 kg ha ⁻¹ NPK (IF)	2,96	5,82	103,50	293,00
A kukoricaszáras kísérlet kezelései				
7,5 t ha ⁻¹ kukoricaszár (OF)	3,11	6,05	57,50	260,20
Kontroll (NON)	2,86	6,23	29,80	221,30
A vetésforgó kísérlet kezelései				
Kukorica monokultúra (CRM)	2,81	5,91	53,30	272,50
3 év lucerna - 5 év kukorica (CR3)	3,39	5,51	43,30	264,90
2 év búza - 2 év kukorica (CR5)	2,99	6,33	72,70	335,30
Norfolk típusú vetésforgó (CR7)	2,96	6,56	92,80	313,00
Növényesítés				
70.000 növény ha ⁻¹ (LD)	1,76	7,30	27,50	328,00
100.000 növény ha ⁻¹ (HD)	1,93	6,50	32,40	312,30

M4. A szekvenciák eloszlása a Mothur programmal 97%-os hasonlósági szinten elkülönített MOTU-kban, valamint a MOTU-k százalékos eloszlása a Glomeromycota szekvenciák között.

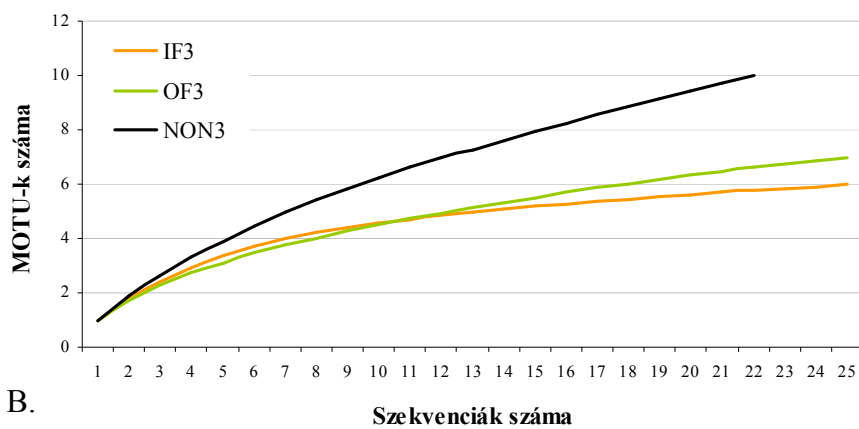
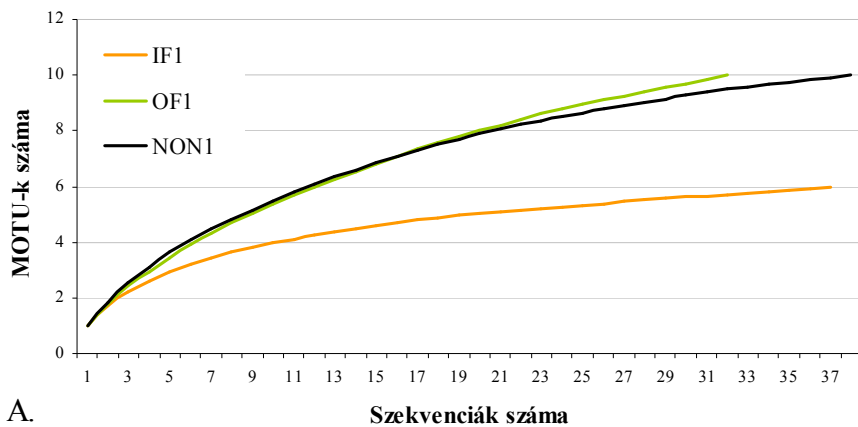
Kezelések: 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágya (IF), 7,5 t ha⁻¹ ha kukoricaszár beforgatás (OF), kontroll (NON)

AM gomba nemzetség	Kezelések és mintavételi időpontok							
	IF		OF		NON		Σ	
	Jún.	Aug.	Jún.	Aug.	Jún.	Aug.	(n)	%
<i>Archaeospora</i>								
MOTU 01	1	-	-	-	-	-	1	0,56
<i>Paraglomus</i>								
MOTU 02	1	1	-	1	1	-	4	2,23
<i>Claroideoglomus</i>								
MOTU 03	-	1	1	-	-	-	2	1,12
<i>Funneliformis</i>								
MOTU 04	-	-	-	-	-	1	1	0,56
<i>Septoglomus</i>								
MOTU 05	-	-	4	-	3	3	10	5,59
MOTU 06	-	-	-	-	-	1	1	0,56
MOTU 07	-	-	1	-	-	-	1	0,56
MOTU 08	-	-	-	-	2	-	2	1,12
MOTU 09	-	-	14	11	13	6	44	24,58
<i>Rhizophagus</i>								
MOTU 10	-	-	1	-	-	-	1	0,56
MOTU 11	4	5	1	1	1	1	13	7,26
MOTU 14	-	-	-	-	2	1	3	1,68
<i>Sclerocystis</i>								
MOTU 12	18	4	-	-	-	-	22	12,29
MOTU 13	-	-	-	2	-	1	3	1,68
<i>sensu lato Glomus</i>								
MOTU 15	-	-	4	-	1	-	5	2,79
MOTU 16	-	-	-	-	3	-	3	1,68
MOTU 17*	-	-	2	2	9	2	15	8,38
MOTU 18	-	-	1	-	-	1	2	1,12
MOTU 19*	4	9	2	1	-	-	16	8,94
MOTU 20	9	5	1	-	-	-	15	8,38
MOTU 21	-	-	-	7	3	5	15	8,38
Σ (n)	37	25	32	25	38	22	179	100,00

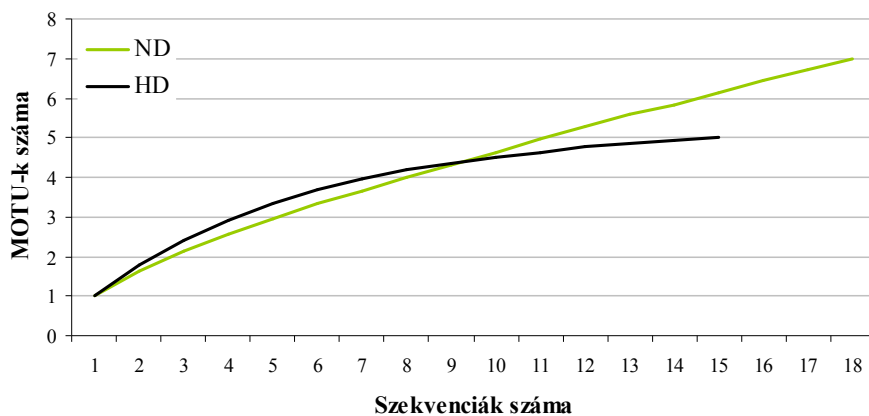
* *Glomus* Group Ad „fajcsoport”

M5. A júniusi (A) és az augusztusi (B) mintavételekhez tartozó szekvenciák ritkasági görbéi (rarefaction curves)

Kezelések: 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágya (IF), 7,5 t ha⁻¹ ha kukoricaszár beforgatás (OF), kontroll (NON).



M6. Normál és a magas tőszámú kukorica monokultúrából származó szekvenciák ritkasági görbéi (rarefaction curves).



Normál, 70 000 növény ha-1 (ND) és magas, 100 000 növény ha-1 (HD) tőszámú kukorica monokultúrából származó szekvenciák ritkasági görbéi (rarefaction curves)
ND: 70.000 növény ha-1, HD: 100.000 növény ha-1

M7. A szekvenciák eloszlása a Mothur programmal 97%-os hasonlósági szinten elkülönített MOTU-kban, valamint a MOTU-k százalékos eloszlása a *Glomeromycota* szekvenciák között. Jelölések: kukorica monokultúra (CRM), 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5), kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgók (vizsgált növények: CRM, CR3 és CR5 – kukorica, CR7 – őszi búza).

AM gomba nemzetség	Kezelések és mintavételi időpontok								Σ	
	CR3		CR5		CR7		CRM			
	Jún.	Aug.	Jún.	Aug.	Jún.	Aug.	Jún.	Aug.	(n)	%
<i>Claroideoglomus</i>										
MOTU 01	1	1	-	-	1	-	-	1	4	2,23
<i>Paraglomus</i>										
MOTU 02	4	-	3	-	-	-	-	-	7	3,91
<i>Diversispora</i>										
MOTU 03	-	-	-	-	-	-	-	2	2	1,12
<i>Funneliformis</i>										
MOTU 04	2	-	-	-	5	-	-	2	9	5,03
<i>Septoglomus</i>										
MOTU 05	-	-	-	-	-	-	1	-	1	0,56
MOTU 06	-	-	1	-	-	-	1	-	2	1,12
MOTU 07	-	-	8	-	-	-	10	8	26	14,53
<i>sensu lato Glomus</i>										
MOTU 08	-	-	-	-	-	-	2	-	2	1,12
MOTU 09*	-	-	-	-	2	-	1	-	3	1,68
MOTU 10	-	-	1	-	4	-	-	-	5	2,79
MOTU 11	1	-	-	-	-	-	-	-	1	0,56
MOTU 12	16	19	8	13	2	1	-	-	59	32,96
<i>Rhizophagus</i>										
MOTU 13	-	-	-	-	-	-	1	-	1	0,56
MOTU 14	2	2	4	12	10	19	3	-	52	29,05
<i>Sclerocystis</i>										
MOTU 15	2	-	-	-	-	-	-	-	2	1,12
<i>Glomus sp Glo80</i>										
MOTU 16	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0,56
MOTU 17	1	1	-	-	-	-	-	-	2	1,12
Total (n)	28	22	25	25	23	20	19	13	175	100,00

* *Glomus* group Ad "fajcsoport"

M8. A júniusi és az augusztusi mintavételekhez tartozó szekvenciák ritkasági görbéi (rarefaction curves)

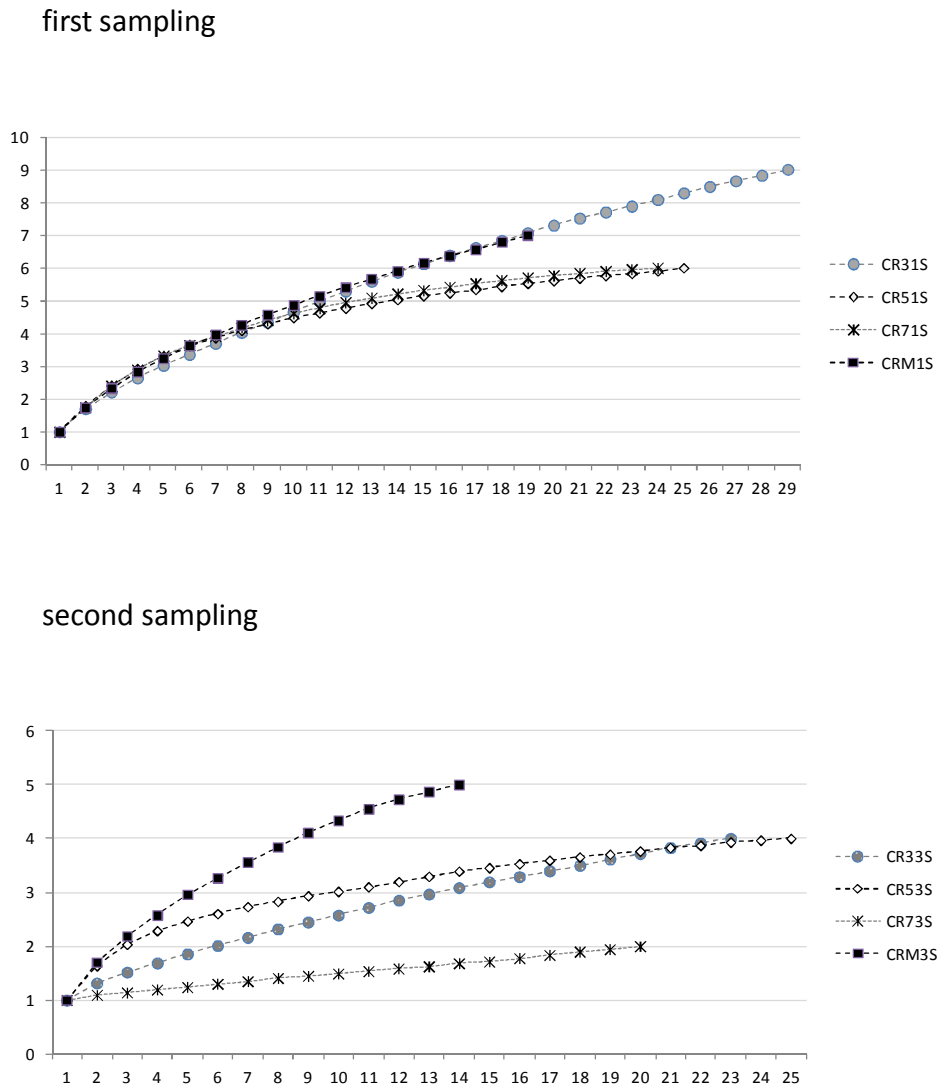


Fig. 5.

Kezelések: kukorica monokultúra (CRM), 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5), kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgók

M9. Mikorrhiza oltás hatása a termésmennyiségre százalékos eloszlásban, a minőségi osztályok szerint Julianus 1 paprika fajtánál

(AM: mikorrhizával oltott, K: oltás nélküli kontroll, V: csak vivőanyaggal oltott). Kardos Dorottya diplomamunkásom eredményei alapján.

