



Szent István Egyetem

Gödöllő

Arbuskuláris mikorrhiza gombák diverzitás-vizsgálata tartamkísérletekben

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Sasvári Zita

Gödöllő

2012

A doktori iskola neve: Biológia Tudományi Doktori Iskola

Tudományága: Biológia-tudomány

Vezetője: Dr. Bakonyi Gábor
Intézetvezető, egyetemi tanár, DSc (Biológia)
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Állattudományi Alapok Intézet

Témavezető: Dudásné Dr. Posta Katalin
Csoportvezető, egyetemi docens
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Növényvédelmi Intézet, Mikrobiológia és Környezet-
toxikológiai Csoport

.....
Dr. Bakonyi Gábor
a doktori iskola vezetője

.....
Dudásné Dr. Posta Katalin
témavezető

ELŐZMÉNYEK, KITŰZÖTT CÉLOK

A legtöbb növényfaj és az arbuszkuláris mikorrhiza (AM) gombák között kialakuló mutualista kapcsolat az egyik legelterjedtebb szimbiózis a természetes és a mezőgazdasági vegetációkban (WANG és QUI 2006). Az AM gombák a gazdanövény gyökérszövet kéregsejtjeinek sejtközötti járataiba és magukba a sejtekbe behatolva (a citoplazmába azonban nem jutnak be) jellegzetes képleteket, arbuszkulumokat és esetenként vezikulumokat hoznak létre. A gyökérkapcsoltság mindkét fél számára kedvező: a gombapartner a növénytől kész tápanyagokat kap, cserébe a növény a gombapartner kiterjedt micélium-hálózatának köszönhetően több vízhez és ásványi anyaghoz jut (SMITH és READ 1997). A mikorrhizált növény ellenállóbb a só-, szárazság (AUGÉ et al. 2008) és nehézfém okozta stresszel szemben (GILDON és TINKER 1983, LEYVAL et al. 1997, HILDEBRAND et al. 2007), emellett az AM gomba közvetve, vagy közvetlenül fokozza a növénypartner kórokozókkal és kártevőkkel szembeni ellenállóságát is (AZCON-AGUILAR és BAREA 1996, POZO és AZCÓN-AGUILAR 2007). A mezőgazdasági haszonnövényeknél még hangsúlyosabb szerepet kap ez a kapcsolat, mivel az AM gomba stressz-helyzetben elősegíti a növények fejlődését, csökkentheti a talajunság kockázatát és a gyökerek tápanyag-hasznosításának javításával mérsékelhető a felhasznált műtrágya mennyisége.

A mikorrhizák közül a legősibb és legelterjedtebb típust jelentő AM kialakulása több mint négyszáz millió évre nyúlik vissza, és valószínűleg szerepet játszottak a szárazföldi növények térhódításában is. Ennek ellenére az eddig leírt AM gombafajok száma igen csekély, 236 faj, melyek a jelenlegi rendszertani besorolás szerint a tömlős és bazídiumos gombák testvércsoportjaként leágazó *Glomeromycota* törzs (SCHÜBLER et al. 2001), *Glomeromycetes* osztályának négy rendjébe (*Archeosporales*, *Diversisporales*, *Glomerales*, *Paraglomerales*), tíz családjába és húsz nemzetségébe tartoznak (KRÜGER et al. 2012).

Az olyan egyedi jellegű kísérletek, mint például az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézet kísérleti területén, Martonvásáron is beállított tartamkísérletek, kiváló lehetőséget nyújtanak annak tanulmányozására, hogy a különböző agrotechnikai tényezők – így a Magyarországon is leggyakrabban alkalmazott termesztési és talajhasználati eljárások – hosszú távon milyen hatással vannak a talajban élő mikroorganizmusok diverzitására. Az intenzív mezőgazdasági művelés – amelyre a nagy mennyiségű műtrágya és kemikália használat jellemző – sok esetben a talajállapot romlásához és egyéb környezeti problémákhoz vezet, melyek közül példaként említendő a talajégetés, azon belül is az AM gombák faji sokféleségének csökkenése. Számos tanulmány bizonyítja, hogy az agrotechnikai eljárások, például a talajművelés (JANSA et al. 2002, 2003, ROLDÁN et al. 2007), a tápanyag-utánpótlás (BHADALUNG et al. 2005, FRANKE-SNYDER 2001), és a peszticidek (OEHL et al. 2004) használata befolyásolja a talaj természetes AM gombaközösségét.

Magyarországon ez idáig 163 növényfaj mikorrhizáltságára vonatkozóan publikáltak adatokat (KOVÁCS 2008). Ezek néhány kivételével (LANDWEHR et al. 2002, FÜZY et al. 2008, KOVÁCS et al. 2007) főképpen stá tusz-, és az ektomikorrhiza gombaközösség megismerésére irányuló vizsgálatok voltak, és természetes élőhelyek növényfajait tartalmazták. Annak ellenére, hogy a szárazföldi növények – köztük szántóföldi növényeink – nagy része arbuszkuláris mikorrhizát képez, az Európa mezőgazdaságában kiemelt szerepet betöltő kukorica AM gombaközösségében bekövetkező változások molekuláris vizsgálatára eddig

elsősorban a trópusi területeken került sor és emellett Magyarország egyetlen termesztésbe bevont növényfajának AM gombaközösségéről sem rendelkezünk elegendő információval (KOVÁCS 2008).

A természetes és a mezőgazdasági ökoszisztémákban jelen lévő AM gombák diverzitásbeli különbségeinek a vizsgálata elengedhetetlenül fontos ahhoz, hogy pontosabb képet alkothassunk a mikorrhiza gombák szerepéről és jelentőségéről, valamint hogy oltóanyagként történő felhasználásukhoz ismereteket szerezzünk.

Eredményeink alapján választ vártunk arra a kérdésre, hogy a különböző agrotechnikai beavatkozások milyen változást idéznek elő a különböző mikorrhiza fajok előfordulásában, azok egymáshoz viszonyított arányában, az AM gombaközösség szerkezetében. Így célunk volt

1. a növényi egyedsűrűség, illetve
2. a nagy mennyiségű szerves műtrágyázás (400 kg ha^{-1} NPK) és a szerves tápanyag utánpótlás ($7,5 \text{ t kg ha}^{-1}$ kukoricaszár) AM gomba diverzitásra gyakorolt hatásainak vizsgálata hosszú időtartamú, intenzív kukorica monokultúrában, valamint
3. hosszú időtartamú monokultúras termesztésből és különböző vetésforgó rendszerekből (3 év lucerna – 5 év kukorica, 2 év búza – 2 év kukorica, valamint kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza [Norfolk típus]) származó növények AM gombaközösség diverzitásának és összetételének összehasonlítása.

Vizsgálataink

- a növények rizoszféra-talajainak AM gomba-spóraszám meghatározására,
- az AM gomba kolonizáció mértékére utaló mikorrhizáltsági százalékok becslésére,
- a növények gyökerét aktívan kolonizáló mikorrhiza gombák molekuláris technikákkal történő azonosítására, valamint
- az AM gombaközösség filogenetikai viszonyainak feltárására irányultak.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Mintavétel

Növénytáink az 1950-es évek végén és az 1960-as évek elején Győrffy Béla és munkatársai által a MTA Mezőgazdasági Kutatóintézet kísérleti területén, Martonvásáron beállított tartamkísérletekből származtak. A tartamkísérletek talaja a szántott rétegben enyhén savanyú, felvehető foszforral gyengén és káliummal jól ellátott humuszos vályog, típusa erdőmaradványos csernozjom.

A növényi egyedsűrűség AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálatához a 70 000 növény ha⁻¹ (normál, ND), illetve a 100 000 növény ha⁻¹ (magas, HD) tőszámú kukorica monokultúrákból származó Norma SC hibridkukorica növények gyökereit gyűjtöttük be négy ismétlésben, 2007. június 16-án.

A tápanyag-utánpótlás hatásának vizsgálatához a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát (IF), a 7,5 t ha⁻¹ ha kukoricaszárát (OF) kapott és a kontroll (NON), trágyázatlan kukorica monokultúrából származó Norma SC hibridkukorica növények gyökereit gyűjtöttük négy ismétlésben, 2008. június 13-án (virágzáskor), július 3-án (szemtelítődés kezdetekor), augusztus 7-én, (biológiai éréskor) és október 20-án (közvetlenül a betakarítást követően).

A kukorica monokultúra vetésforgó rendszerekkel történő összehasonlításához a mintavétel során kukorica monokultúrából (CRM), valamint a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3) és a 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) vetésforgókból a Norma SC hibridkukorica növények gyökereit, a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgóból az Mv Magvas őszi búza növények gyökereit gyűjtöttük be, 4 ismétlésben, 2008-ban, a fentebb leírt négy mintavételi időpontban.

AM gomba spóra-izolálás talajból, spóraszám meghatározás

A szobahőmérsékleten tömegállandóságig szárított 5-5 gramm talajmintából „nedves szitálást” és flotációs eljárást (GERDEMANN és NICOLSON 1963) követő cukorsűrűség-grádiens centrifugálással (IANSON és ALLEN 1986) izoláltuk az AM gomba spórákat, majd sztereomikroszkóp alatt, 100-szoros nagyítással meghatároztuk a talaj 1 grammjára vonatkoztatott spóraszámot.

AM gomba gyökérekolonizáció mértékének meghatározása

A növények gyökereinek alapos csapvizes mosása után minden egyes növényegyed gyökérzetéről reprezentatív mintaként 5 különböző (összesen 1,5 g nedves tömegnek megfelelő) gyökérrészt gyűjtöttünk, melyek festését tinta-ecetsavas módszerrel végeztük (VIERHEILIG et al. 1998). A szimbiotikus kapcsolat erősségére utaló mikorrhizáltsági százalékok becslését (a gyökéren belüli képletek vizsgálata nélkül) szintén sztereomikroszkóp alatt, 100-szoros nagyítással végeztük ún. „gridline intersection” módszerrel (GIOVANNETTI és MOSSE 1980), négy ismétlésben.

DNS izolálás növényi gyökérből

A 70 000 és a 100 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűség AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata során a gyökerek 5 különböző laterális gyökérrészből forralásos módszerrel végeztük az ún. „crude DNS”

kinyerését (DI BONITO et al. 1995), az így kapott templátokat (1x2x4x5=40) a PCR amplifikáció elvégzéséig -20 °C-on tároltuk.

A 2008. évi minták közül a júniusi és az augusztusi mintavételi időpontokhoz tartozó növényi gyökerek 5 különböző laterális gyökérrészből végeztünk DNS izolálást a Qiagen által forgalmazott DNeasy® plant Mini Kit-tel, a gyártó utasításai alapján. A kapott tiszta DNS izolátumokat (a tápanyag-utánpótlás vizsgálatához: 2x3x4x5=120; a monokultúra vetésgörgő rendszerekkel történő összehasonlításához: 2x4x4x5=160) -20°C-on tároltuk a PCR reakciók elvégzéséig

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

Az AM gomba 18S rDNS gén egy részének nested-PCR amplifikálását, első lépésben AMV4.5F-AMV4.5R eukarióta, majd második lépésben AMV4.5NF-NR AM gomba specifikus indítószekvenciákkal végeztük (SAITO et al. 2004). A kapott PCR amplifikátumokat agaróz gélelektroforézissel mutattuk ki és választottuk el, 2%-os agaróz gélen, 0,1 µl ml⁻¹ etidium-bromid jelenlétében. Az agaróz gélből a megfelelő méretű (~650 bp) fragmenteket GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit-tel (GE Healthcare, Amersham Biosciences) visszaizoláltuk, az ugyanazon kezelésekhöz és mintavételi időpontokhoz tartozó PCR fragmenteket a továbbiakban együtt kezeltük – RENKER et. al. (2006) módszere alapján, egy „pool”-ban – és pGEM®-T Easy Vector System-mel (Promega) a gyártó cég utasításai szerint pGEM®-T Easy vektorba (3015 bp) építettük, majd *E. coli* DH5α törzsbe transzformáltuk.

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 primerrel történt.

Szekvencia-analízis, statisztikai adatelemzés

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

EREDMÉNYEK

A növényi egyedsűrűség AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata

A normál 70.000 növény ha⁻¹ (ND) és a magas 100.000 növény ha⁻¹ (HD) tőszámú parcellákról gyűjtött kukorica gyökerek kolonizációs értékei (ND: 36,50 ± 4,12 %; HD: 37,50 ± 3,42 %) között, valamint a rizoszféra-talajok 1 grammjában található spórák számában (ND: 2,75 ± 0,50 db; HD: 2.50 ± 0.58 db) sem találtunk szignifikáns különbséget.

Az AM gombaközösségek molekuláris feltérképezése során 33 *Glomeromycota* szekvencia szerkesztését követően, Mothur programmal 97%-os hasonlósági szinten 9 MOTU-t sikerült elkülönítenünk. A filogenetikai elemzés alapján hét MOTU (a szekvenciák 90,9 %-a) a *Glomeraceae* (korábbi *Glomus* Group A), kettő MOTU (9,1%) a *Claroideoglomeraceae* (korábbi *Glomus* Group B) családnak tartozott. A normál tőszámú parcellákról összesen hét MOTU-t, míg nagyobb növényesűrűségnél öt MOTU-t mutattunk ki. A 70 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűségű állományokban az AM gombaközösség 61,11%-át a *Septoglomus* nemzetséghez (korábbi *Glomus* Group Aa fajcsoport egy része) tartozó MOTU alkotta, melynek részaránya csupán 20% volt a 100 000 növény ha⁻¹ tőszámú állományokban. Ez utóbbinál a domináns AM gombaközösség alkotó MOTU (a szekvenciák 40 %-a) a *Glomus* Group Ad fajcsoportéhoz tartozott.

Az átlagolt nemparaméteres fajszámbecslő értékek (ACE és Chao1) és a ténylegesen elkülönített MOTU-k számának összevetése alapján elmondhatjuk, hogy a magas, 100 000 növény ha⁻¹ (HD) állománysűrűségnél sikerült az AM gomba közösség jelentős részét, 95,24%-át feltérképezni, míg a normál 70 000 növény ha⁻¹ tőszámú (ND) ez az érték csak 41,18% volt. Az általunk elkülönített és becsült MOTU-k száma is magasabb volt a normál 70 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűségű állományban, mint a magas, 100 000 növény ha⁻¹ tőszámú állományban.

A tápanyag-utánpótlás AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata kukorica monokultúrában

A 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát (IF), a 7,5 t ha⁻¹ ha kukoricaszárát (OF) kapott és a kontroll (NON), trágyázatlan kukorica monokultúrából származó kukorica gyökerek mikorrhizáltságának vizsgálatával kimutattuk, hogy a kezeléseknek (p<0,01) és az időpontoknak is (p<0,001) szignifikáns hatása volt a gyökérkolonizáció alakulására. A vegetációs periódus során a kontroll és a trágyázott kezeléseknél is növekvő mikorrhizás kolonizáció volt mérhető, mely maximális értéket (IF: 47,50 ± 3,42 %; OF: 52,50 ± 1,29 %; NON: 47,50 ± 2,0 %) a kukorica biológiai érésének fázisában, augusztusban mutatott. Júliusban a szervesetlen, augusztusban a szerves tápanyag-utánpótlásból származó növények gyökérkolonizációs értékei szignifikánsan magasabbak voltak (p<0,01 és p<0,001) a kontroll kezeléssel származó növények ugyanazon időpontokban mért értékeinél. Júniusban az 1 gramm rizoszféra-talajra vonatkoztatott átlagos AM gombaspóra mennyisége minden kezelésnél 3-4 db volt, ami 12-15 db spóra g⁻¹ talajra növekedett augusztusra. Augusztus és október között a trágyázott kezeléseknél csökkent a spóraszám, míg a kontroll parcelláknál tovább növekedett 19 db spóra g⁻¹ talajra az októberi mintavételi időpontig. Októberben tehát a trágyázott kezelések rizoszféra-talajaiban szignifikánsan alacsonyabb (p<0,001) AM gomba spóraszám volt, mint a kontroll parcellák rizoszféra-talajaiban.

Az AM gombaközösségek molekuláris vizsgálata során összesen 252 klón (42/kezelés/időpont) nukleotid sorrendjét határoztuk meg, melyből 179 (71%) a *Glomeromycota*-khoz tartozott A szekvenciák szerkesztését követően Mothur programmal 97%-os hasonlósági szinten 21 MOTU-t sikerült elkülönítenünk. A filogenetikai elemzés alapján 18 MOTU (a szekvenciák 96,09%-a) a *Glomeraceae* (korábbi *Glomus* Group A), 1 (1,12%) a *Claroideoglomeraceae* (korábbi *Glomus* Group B), 1 (0,56%) az *Archaeosporaceae* és 1 (2,23%) a *Paraglomeraceae* családhoz tartozott. A 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott kezeléssel összesen 7 MOTU-t, a kontroll és a 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszárát kapott kezelésekből egyaránt 14-14 MOTU-t mutattunk ki. A *Rhizophagus* és a *Sclerocystis* nemzetségek (a kettő együtt a korábbi *Glomus* Group Ab fajcsoport) tagjai megtalálhatóak voltak mind a kontroll mind pedig a trágyázott területek kukorica gyökereiben, az AM gombaközösség 47,73%-át alkották a szervesetlen műtrágyázott, 10,77%-át a kontroll és 9,13%-át a kukoricaszár beszántásánál. A szervesetlen műtrágyázott területek kukorica gyökereiben nem tudunk *Funneliformis* és *Septoglomus* (a kettő együtt a korábbi *Glomus* Group Aa) nemzetségekhez tartozó MOTU-kat kimutatni, míg a kukoricaszár beszántásával kezelt területen ezek több mint 51,69%-át alkották az AM gombaközösségnek. Arányuk a kontroll állományban is elérte a 48,68%-ot. A Théta indexek alapján – mely figyelembe veszi a megosztott MOTU-k abundanciáját is – az AM gombaközösség összetételében a legnagyobb hasonlóság (81,58%) a 7,5 t ha⁻¹ beforgatott kukoricaszár és a kontroll kezelések között mutatkozott. A legkisebb hasonlóság (1,52%) pedig a kontroll (NON) és a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott kezelések AM gombaközösségei között volt megfigyelhető. Az átlagolt nemparaméteres fajszámbebecslő értékek és a ténylegesen elkülönített MOTU-k számának összevetése alapján elmondhatjuk, hogy – a kontroll kezelés augusztusi mintavételi időpontját kivéve – sikerült az AM gombaközösség nagy részét, átlagosan 81,6%-át feltérképezni. Júniusban és augusztusban a kontroll, trágyázatlan kukorica monokultúra magasabb Shannon-Wiener diverzitás értékekkel (H' : 2,2-2,38) rendelkezett, mint a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott kukorica monokultúra (H' : 1,64-1,82). Júniusban a 7,5 t ha⁻¹ ha beforgatott kukoricaszárát kapott kukorica monokultúrából megegyező (H' : 2,2), majd a vegetációs idő előrehaladtával, augusztusban szintén alacsonyabb (H' : 1,87) AM gomba diverzitást mutattunk ki a kontrollhoz képest. A júniusi mintavételi időpontban a kapott MOTU-k alapján a NON=OF>IF, a becsült MOTU-k alapján az OF>NON>IF, és a Shannon-Wiener diverzitás index értékek alapján a NON=OF>IF sorrendet állítottuk fel a különböző kezeléseik között. Augusztusban mind a kapott, mind a becsült MOTU-k alapján, mind pedig a Shannon-Wiener diverzitás index értékek alapján (annak ellenére, hogy a kontrollnál ekkor csak 42,79%-os volt az AM gombaközösség feltérképezettség) a NON>OF>IF sorrendet állítottuk fel.

Monokultúra vetésforgó rendszerekkel történő összehasonlítása

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 ($p < 0,01$) a

monokultúrában termesztett kukorica növények gyökérkolonizációs értékeihez képest minden mintavételi időpontban. Júliusban a lucerna-kukorica és a búza-kukorica vetésforgó rendszerekből szignifikánsan alacsonyabb ($p < 0,01$) átlagos gyökérkolonizációs százalékokat (43,88% és 41%) kaptunk, a kukorica monokultúrából származó növények átlagos gyökérkolonizációs értékéhez (51,25%) képest. Júliusban a kukorica monokultúrából származó kukorica növények rizoszféra talajaira átlagosan 10 db spóra g^{-1} talaj volt jellemző, ekkor a búza-kukorica vetésforgóból mutattunk ki ennél szignifikánsan alacsonyabb ($p < 0,01$) átlagos AM gomba spóraszámot (5,5 db spóra g^{-1} talaj). Októberben minden rotációs rendszerből szignifikánsan alacsonyabb ($p < 0,001$) spóraszámot mutattunk ki, mint a kukorica monokultúrából, ahol ekkor átlagosan 24,5 db AM gomba spóra volt jellemző a rizoszféra-talajok 1 grammjában.

A kukorica monokultúra (CRM) és a 3 év lucerna – 5 év kukorica (CR3), 2 év búza – 2 év kukorica (CR5) vetésforgókból származó kukorica növények, valamint a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú, CR7) vetésforgóból származó búza növények AM gomba-közösségeinek molekuláris meghatározása két időpontban, júniusban valamint augusztusban történt. Összesen 340 klón (42-44 klón/kezelés/időpont) nukleotid sorrendjét határoztuk meg, melyből 179 AM gomba szekvencia került további elemzésre. A 179 *Glomeromycota* szekvencia szerkesztését követően Mothur programmal 18 MOTU-t sikerült elkülönítenünk. A filogenetikai elemzés eredményeképpen 12 MOTU (a szekvenciák 91%-a) a *Glomeraceae* (korábbi *Glomus* Group A), 3 (4%) a *Claroideoglomeraceae* (korábbi *Glomus* Group B), 1 a *Diversisporaceae* (1%) és 2 (4%) a *Paraglomeraceae* családokhoz tartozott. Kukorica monokultúrából összesen 11 MOTU-t, a 3 év lucerna – 5 év kukorica vetésforgóból 9 MOTU-t, a 2 év búza – 2 év kukorica valamint a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza (Norfolk típusú) vetésforgó rendszerekből 6-6 MOTU-t mutattunk ki. A Théta indexek alapján a legnagyobb hasonlóság (66%) a 3 év lucerna – 5 év kukorica és a 2 év búza – 2 év kukorica vetésforgó rendszerek kukorica növényeinek AM gombaközösségei között mutatkozott. A legkisebb hasonlóság (1,23%) pedig a kukorica monokultúra és a 3 év lucerna – 5 év kukorica vetésforgó kukorica növényeinek AM gombaközösségei között volt megfigyelhető. A kimutatott és a becsült MOTU-k száma, valamint a divezitás indexek értékei is erőteljesen csökkentek a kukorica monokultúrától a Norfolk típusú vetésforgó rendszerig, kiváltképpen az augusztusi mintavételi időpontban. Júniusban a lucerna – kukorica vetésforgó rendszerénél ($H': 1,63$), augusztusban a kukorica monokultúrájánál ($H': 1,25$) mutattuk ki a legmagasabb AM gomba diverzitást. A kukorica monokultúra és a vetésforgó rendszerek AM gomba diverzitása a vegetációs periódus előrehaladtával is csökkent. A júniusi mintavételi időpontra vonatkozóan a kimutatott MOTU-k alapján a $CR3 > CRM > CR5 = CR7$, a becsült MOTU-k szerint a $CR3 > CRM > CR5 > CR7$, a Shannon-Wiener diverzitás index értékek alapján pedig a $CR3 > CRM = CR7 > CR5$ sorrendet állíthatjuk fel a különböző termesztési rendszerek között. Az augusztusi mintavételi időpontra vonatkozóan a kimutatott MOTU-k alapján a $CRM > CR3 = CR5 > CR7$, a becsült MOTU-k alapján a $CRM > CR3 = CR5 > CR7$, a Shannon-Wiener diverzitás index értékek alapján $CRM > CR5 > CR3 > CR7$ sorrendet állíthatjuk fel.

Új tudományos eredmények

- ❖ A Kárpát-medence régiójából, így Magyarországon is, elsőként szolgáltatunk adatokat mezőgazdaságilag művelt terület arbuszkuláris mikorrhiza (AM) gombaközösségére vonatkozóan.
- ❖ Elsőként vizsgáltuk a növényi egyedsűrűség AM gombaközösségre gyakorolt hatását kukorica monokultúrában. A normál, 70 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűségű kukorica monokultúrában, az AM gombaközösség 41,18%-os feltérképezettsége mellett is, a kimutatott és a becsült molekuláris operatív taxonómiai egységek (MOTU-k) száma magasabb volt, mint a 100 000 növény ha⁻¹ tőszámú kukorica monokultúrában, ahol a feltérképezett AM gombaközösség 95,25%-os volt.
- ❖ A kukorica monokultúrából magasabb AM gomba diverzitás értéket és több MOTU-t sikerült kimutatnunk, mint amit ez idáig kukorica monokultúrából molekuláris technikával kimutattak.
- ❖ A normál növényesűrűségű, alacsony tápanyag-ellátottságú monokultúrában termesztett kukorica AM gombaközösségében a *Septoglomus* nemzetséghez tartozó MOTU dominál. Jelenlétét sem a nagy mennyiségű szerves tápanyag-utánpótlásban részesült kukorica monokultúrában, sem a pillangós növényt tartalmazó vetésforgókban nem tudtuk kimutatni, ezért feltételezzük, hogy az az AM gomba, mely ezt a MOTU-t reprezentálja, érzékeny a talaj magasabb tápelem-koncentrációjára, leginkább a talaj nitrogén szintjére.
- ❖ A különböző termesztési rendszerek összehasonlítása során eltérő MOTU-kat találtunk domináns AM gombaközösség alkotónak. A kimutatott és a becsült MOTU-k száma, valamint a diverzitás indexek értékei is erőteljesen csökkentek a kukorica monokultúrától a Norfolk típusú vetésforgó rendszerig, kiváltképpen az augusztusi mintavételi időpontban.

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Az AM gomba – növény interakció előnyös hatásainak a mezőgazdasági termesztésben történő hatékony kihasználása érdekében igen fontos a magyarországi agroökoszisztémákra jellemző AM gombaközösség szerkezetének pontos feltárása, melyhez a jelen munka is hozzá kívánt járulni.

A normál, 70 000 növény ha⁻¹ és a magas, 100 000 növény ha⁻¹ tőszámú parcellákról gyűjtött kukorica gyökerek átlagos kolonizációs értékei között, valamint a rizoszféra-talajok 1 grammjában átlagosan található spórák számában sem találtunk szignifikáns különbséget, melynek magyarázata az lehet, hogy a mintavétel június közepén történt, amikor az állomány még nem zárt teljesen. Az AM gombák obligát gombaként a növényi szénhidrátok mennyiségére vonatkozóan eltérő igényvel rendelkeznek (SAITO et al. 2004), így a gyökérkolonizációban részt vevő AM gombaközösség szerkezetében akár változás is történhetett, ami viszont a gyökérkolonizációban és a spóraszámában nem feltétlenül mutatkozik meg. A szakirodalomban fellelhető, kukorica monokultúrára vonatkozó gyökérkolonizációs értékek és a rizoszféra-talajok 1 grammjában lévő AM gomba-spóraszámok nagy változatosságot mutatnak, legfőképpen az eltérő klimatikus és termesztési körülményeknek köszönhetően.

A 2008-as évben a tápanyag- utánpótlás AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata, valamint a kukorica monokultúra vetésforgó rendszerekkel történő összehasonlítása során a növények gyökérkolonizációját és a rizoszféra talajokban lévő AM gomba-spóra számokat 4 mintavételi időpontban, júniusban, júliusban, augusztusban és októberben vizsgáltuk. A gyökérkolonizáció és az rizoszféra talajok AM gomba-spóraszámja is változott a vegetációs periódus során. A szántásos talajművelés, az AM gomba inokulum potenciáljának csökkentésével a gyökérkolonizáció és sporuláció időbeli eltolódását eredményezi (KABÍR 2005), mely eredményeinkben is megmutatkozott. 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. A kukorica rizoszféra talajok-AM gomba-spóraszámja – a sporuláció időbeli eltolódásának megfelelően – tovább növekedett egészen októberig – a tápanyag-utánpótlás hatásának vizsgálata során – a kontroll (NON) kukorica monokultúrában, valamint – a monokultúra vetésforgó rendszerek összehasonlítása során – a kukorica monokultúrában és a 3 év lucerna – 5 év kukorica vetésforgóban is. A rizoszféra talajok AM gomba-spóraszámjának vegetációs periódus során bekövetkező változását BHADALUNG et al. (2005) szintén kimutatta hosszú időtartamú, 27 éves tápanyag-utánpótlási tartamkísérletben, Thaiföldön.

Az általunk vizsgált kukorica monokultúrában a szerves, 7,5 t ha⁻¹ beforgatott kukoricaszár és a szervesetlen, 400 kg ha⁻¹ NPK tápanyag-utánpótlás – egyforma mértékben – csökkentette a rizoszféra-talajokban lévő AM gomba-spóraszámot, mely a kukorica betakarítását követően, októberben vált hangsúlyossá. Ez nem meglepő, hiszen a jobb tápanyag-ellátottságú növények kevésbé vannak rászorulva az AM gomba nyújtotta előnyökre (JOHNSON 1993), ennek következtében kevesebb növényi- és raktározott szénhidrát állhat rendelkezésre az AM gombák sporulációját szolgáltató energiaként. BHADALUNG et al. (2005) a már említett 27 éve fenntartott tápanyag-utánpótlási tartamkísérletben végzett vizsgálataik során

kimutatták, hogy a szerves tápanyag-utánpótlás 0-0-ról 180-180 N-P₂O₅ kg ha⁻¹ évre történő növelése 70%-al csökkentette az AM gombák spóraszámát a talajban (47-ről 14 spóra g⁻¹ talaj).

A gyökérekolonizációs értékek vonatkozásában a kukorica monokultúra a vetésforgó rendszerekkel összevetve összességében második helyen állt a Norfolk típusú vetésforgó után, míg a rizoszféra-talajokban októberre képződő AM gomba-spóra számok tekintetében egyértelműen első helyet foglalt el. A Norfolk típusú vetésforgó búza növényeinek szignifikánsan magasabb gyökérekolonizációs értékei valószínűleg a megelőző növény (borsó) hatásának köszönhetőek, másrészt az őszi búza fenológiai fázisai időben jóval megelőzik az kukoricáét, így a kolonizáció korábban, már kora tavasszal kialakulhatott. Az alacsony spóra produkció viszont magának a növénynek a hatását tükrözheti, hiszen a kukoricával ellentétben a búza fakultatívan mikotróf növénynek számít (PLENCHETTE et al. 2005). Például a legkisebb átlagos spóraprodukción eredményező 2 év búza – 2 év kukorica vetésforgó rendszerben is kizárólag búza váltakozik a kukoricával. A búza-kukorica rotáció hazánkban igen elterjedt, de úgy tűnik, hogy az AM gomba-spóraprodukcióna negatív hatással lehet.

Ahhoz, hogy a termesztési és talajhasználati eljárások AM gombákra gyakorolt hatásait mélyrehatóbban tanulmányozhassuk, molekuláris technikával azonosítottuk a hosszú távú monokultúrás és különböző vetésforgó tartamkísérletekből származó növényi gyökereket aktívan kolonizáló AM gombaközösségek tagjait, és feltártuk azok filogenetikai viszonyait.

A vetésforgókkal összehasonlított kukorica monokultúrájánál ugyanúgy, mint a különböző tőszám hatásait vizsgáló kísérlet normál, 70 000 növény ha⁻¹ egyedsűrűségű, valamint a tápanyag-utánpótlás hatásait vizsgáló kísérlet kontroll kukorica monokultúrájánál a kukorica növények AM gombaközösségében a *Septoglomus* nemzetséghez tartozó *Glomus viscosum* BEG 126 AM gombafajjal filogenetikai rokonságban álló molekuláris operatív taxonómiai egységek, MOTU-k domináltak. Az ezekkel a MOTU-kkal rokonságban álló AM gombafajokat (*Septoglomus constrictum*) és általánosságban a korábbi *Glomus* Group Aa fajcsoporthoz, vagyis a jelenlegi *Septoglomus* és *Funneliformis* nemzetségekhez tartozó AM gombafajokat már detektálták domináns AM gombaközösség alkotóként kukorica monokultúrában (BAINARD et al. 2012, OEHL et al. 2005).

A növényi egyedsűrűség (70 000 és 100 000 növény ha⁻¹) hatásának vizsgálata során a magasabb, 100 000 növény ha⁻¹ tőszámú kukorica monokultúra állománynál viszont a legtöbb szekvenciát (40%) magába foglaló MOTU a *Glomus* Group Ad fajcsoporthoz tartozott. Ebből a fajcsoportból jelenleg még nem ismerünk leírt AM gombafajt, de jelenlétüket már a természetes és az antropogén ökoszisztémákban egyaránt kimutatták (HELGASON et al. 1998, SAITO et al. 2004, BALESTRINI et al. 2010). Az általunk vizsgált magas, 100 000 növény ha⁻¹ tőszámú kukorica monokultúrában átvette a domináns szerepet a *Septoglomus* nemzetségtől, pedig ennek a *Glomus* Group Ad fajcsoportnak a tagjai feltételezhetően magas szénhidrát igényel rendelkeznek (SAITO et al. 2004). A növényi egyedsűrűség AM gomba közösségre gyakorolt hatásának vizsgálatáról nem található információ a szakirodalomban, bár a diverzitás pontos meghatározásához a fajszám-bebecslések tesztjei alapján nem bizonyult elegendőnek a szekvenciák száma, így következtetéseket erre vonatkozóan nem kívánunk levonni.

A tápanyag-utánpótlás AM gombákra gyakorolt hatásának vizsgálata során kimutatott MOTU-k 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 kukoricaszárát kapott kezeléseknél (14-14 MOTU). Ez utóbbiaknál a már említett *Septoglomus* nemzetségbe tartozó MOTU dominált. A *Septoglomus* és *Funneliformis* nemzetségekhez (a korábbi *Glomus* Group Aa fajcsoport) tartozó AM gombafajok közül a *F. mosseae* és a *Septoglomus constrictum* gombákat szerves eredetű tápanyag-utánpótlást preferáló fajokként (OEHL et al. 2004) jellemezhetjük. A *F. mosseae* emellett BHADALUNG et al. (2005) vizsgálataiban érzékenynek bizonyult a nagy mennyiségű N-P₂O₅ utánpótlásra. Ezek alapján domináns jelenlétük a 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszárát kapott kezelésnél, valamint hiányuk az 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott kezelésnél indokoltnak mondható. A 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott kezelésnél a szekvenciák többsége 4 főbb abundáns MOTU-ban oszlott el, melyek a *Rhizophagus*, a *Sclerocystis*, a *Glomus* Ad „fajcsoport” és a Glo4 filotípussal a tágabb értelemben vett *Glomus* nemzetségekhez tartoztak. A *Rhizophagus* és a *Sclerocystis* nemzetség tagjainak domináns jelenléte a műtrágyázott kezelésnél nem meglepő, hiszen a talaj magas tápanyag-ellátottságára – főképpen a talaj foszfortartalmára – leggyakrabban a *Rhizophagus* nemzetség tagjai toleránsak (JOHNSON 1993, MATHIMARAN et al. 2005), esetünkben pedig a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott parcellák AL-P₂O₂ tartalma például háromszor olyan magas volt (103,5 ppm), mint a kontroll parcelláké (29,8 ppm), míg a 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszárát kapott kezeléseké csak kétszer akkora (57,5 ppm). A Glo4 filotípust ÖPIK et al. (2006) enyhén ruderalis taxonként jellemzik, SAITO et al. (2004) pedig a magas növényi szénhidrát igényteliséggel rendelkező csoportba sorolták, ami összefüggésbe hozható a nagy mennyiségű szervesetlen tápanyag-utánpótlásnál megfigyelhető domináns jelenlétükkel, ugyanúgy mint hiányukkal a kontroll parcellákban. 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 SCHENCK 1990), a talaj felvehető nitrogén tartalma által okozott gyökérmorfológiai változásokkal (JOHNSON 1993), valamint a kukoricaszár beforgatás hatására a talaj szaprotróf gombaközösségében bekövetkező változásokkal. A nagy mennyiségű szervesetlen tápanyag-utánpótlás a szakirodalom szerint negatív hatással van az AM gomba diverzitásra (OEHL et al. 2005) emellett, hogy változást idéz elő az AM gombaközösség összetételében (BHADALUNG et al. 2005). Eredményeink szintén ezt mutatják, hiszen a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott kezelésből származó, valamint a kontroll, trágyázásban nem részesült növények AM gombaközössége jelentősen eltért. A szervesetlen tápanyag-utánpótlás – feltételezeten a növényi gyökérből az ammónium felvételét követő protonkiáramlás következtében (MARSCHNER és DELL 1994) – a rizoszféra-talaj pH értékének csökkenéséhez vezet, mely hatással van az AM gombaközösség szerkezetére (CLARK 1997, GIOVANNETTI 2000). Talajadataink nem közvetlenül a rizoszférára vonatkoztak, de a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen műtrágyát kapott parcellák talajainak pH-ja például alacsonyabb volt (pH 5,82), mint a kontroll és a 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszárát kapott kezelések talajainak pH-ja (pH 6,05 és 6,23). A 7,5 t ha⁻¹ kukoricaszárát kapott kezelés növényeinek AM gombaközössége 81,58%-ban megegyezett a kontroll parcellák növényeivel, és júniusban az AM gomba diverzitás is egyformán alakult, azonban augusztusra ez lecsökkent, míg a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen kezelésnél e tekintetben javuló tendencia figyelhető meg.

Ennek oka lehet, hogy a műtrágya és a kukoricaszár eltérő dinamikájú tápanyag-feltárással rendelkezik, így a gyökér ammónium fölvétele és a rizoszféra talajok pH-ja is eltér a két esetben, mely különbségek a vegetációs periódus során mérséklődhetnek. Eredményeinktől eltérően HIJRI et. al. (2006) 170-70 N-P₂O₅ kg ha⁻¹ műtrágyát kapott kukorica monokultúrából molekuláris technikával alacsonyabb (H': 0,8) AM gombadiverzitás értéket állapított meg, ami egyrészt a technikák és a használt markerek közötti különbségekből, másrészt az eltérő talajadottságokból adódhat. Ezzel szemben OEHL et. al. (2010) 190-40 N-P₂O₅ kg ha⁻¹ műtrágyát kapott kukorica monokultúra talajából (cambisol) kiemelkedően magas (H': 2,31) diverzitás értéket mutattak ki – összesen 25 detektált AM gombafajjal –, viszont eredményük a talajból izolált AM gomba-spórák morfológiai vizsgálatán alapszik.

A monokultúra és a vetéscsergő rendszerek AM gomba-közösségeinek meghatározása során a kukorica monokultúrából (CRM) összesen 11 MOTU-t különítettünk el, melyek közül itt is a *Septoglomus* nemzetségbe tartozó *Glomus viscosum* BEG 126 AM gombával filogenetikai rokonságban álló MOTU volt domináns. Azokból a rotációs rendszerekből, melyekben pillangós növény szerepelt a növényi összetételben (CR3 és CR7) ez a filotípus teljesen eltűnt, ugyanúgy, mint a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen tápanyag-utánpótlás hatására. Mindebből arra következtetünk, hogy az alacsony tápanyag-ellátottságú kukorica monokultúrában annak az AM gombának, mely ezt a MOTU-t képviseli, kiemelkedő szerepe lehet a kukorica növény tápanyag-ellátásában. Ez a szerep a tápanyagszint növekedésével valószínűleg veszít jelentőségéből, így nyújtva teret a nagy szénhidrát igényű, ruderális és generalista AM fajoknak, mint amilyen a *Rhizophagus intraradices* vagy a Glo4 filotípusú AM gomba is. Ezt az is alátámasztja, hogy a Glo4 filotípushoz tartozó MOTU-k a 3 év lucerna – 5 év kukorica vetéscsergőben és a 400 kg ha⁻¹ NPK szervesetlen tápanyag-utánpótlásban részesült kukorica monokultúrában dominánsan voltak jelen. Ugyanez érvényes a *Rhizophagus intraradices* AM gombafajjal szoros filogenetikai rokonságban álló MOTU-kra a kukorica – tavaszi árpa – borsó – búza, Norfolk típusú vetéscsergőnél és a szervesetlen tápanyag-utánpótlásban részesült kukorica monokultúrájánál. Összefoglalva eredményeinket, kijelenthetjük, hogy a vetéscsergő jelentős változást okozott az AM gombaközösség összetételében a kukorica monokultúrával összevetve, ami a szakirodalmi adatokkal megegyezik (JOHNSON et al. 1991, HENDRIX et al. 1995, DANIELL et al. 2001). Eredményeink szintén alátámasztják azt a tényt, hogy a növényi gyökereket aktívan kolonizáló AM gombák közül csak néhány dominál még a magas növényi diverzitással rendelkező ökoszisztémákban is (DEBELLIS és WIDDEN 2006, HUSBAND et al. 2002; STUKENBROCK és ROSENDAHL 2005). A kukorica monokultúra és a vetéscsergő rendszerek AM gomba diverzitása – az AM gombaközösség szerkezetének változása következtében – a vegetációs idő előrehaladtával csökkent, mely megegyezik az ezzel kapcsolatos 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 gyökérkolonizálók ezután szinte egyeduralmukodóvá válnak az AM gombaközösségben, melyből a többi gomba akár teljesen el is tűnhet. Ez a folyamat az AM diverzitás csökkenéséhez vezethet a gazdanövény vegetációs idejének előrehaladtával, mint ahogy azt eredményeink is tükrözték, legszembetűnőbben a Norfolk típusú vetéscsergő búzájánál, ami augusztus elejére már teljesen lesárgult. A jelenséget DUMBRELL

et al. (2010) „overdominance”-ként emlegeti, viszont a különböző szerzők eredményeinek összehasonítása során nem talált összefüggést az ökoszisztémák és dominánsan jelenlévő AM gombák között. Azt, hogy a különböző szerzők eltérő AM gomba filotípusokat azonosítottak az AM gombaközösségek domináns alkotóiként, a domináns AM gombáknak a talajok fizikai és kémiai tulajdonságához való lokális adaptációjával és a növényközösség meghatározó szerepével magyarázták. Eredményeink alapján a vetésforgó alkalmazása – a monokultúrához képest – nem gyakorolt pozitív hatást az AM gomba diverzitásra, kivéve a 3 év lucerna – 5 év kukorica vetésforgóban termesztett, virágzásban lévő kukoricánál. Összességében a Norfolk típusú vetésforgó – az éppen soron lévő búzával –, valamint a búza – kukorica vetésforgó bizonyult a legkevésbé kedvezőnek az AM gomba diverzitás szempontjából. Ezekből arra következtetünk, hogy a vetésforgó növényi összetétele határozza meg az AM gombaközösség szerkezetét, és ezt is inkább indirekt módon, a talaj tápanyag-ellátottságára gyakorolt hatásán keresztül. Korábbi tanulmányok is azt mutatják, 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). Az ilyen talajokban néhány AM gombának kiemelkedő szerepe lehet a növény tápanyag-ellátásában. A kukorica monokultúra és a vetésforgó rendszerek AM gomba diverzitásának összehasonítása során kapott eredményeink eltérnek a szakirodalomban megtalálható, vetésforgó alkalmazásával kapcsolatos pozitív eredményektől (HIJRI et al. 2006, OEHL et al. 2003, OEHL et. al. 2009). Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy a különböző szerzők által vizsgált monokultúrák és vetésforgó rendszerek mindegyike valamilyen formában részesült tápanyag-utánpótlásban.

Segítséget nyújtva a gyakorlati mezőgazdaság számára, a jelen kutatás eredményei gyarapíthatják meglévő ismereteinket egy hatékony és a termesztési rendszerekhez leginkább adaptálódott AM gomba oltóanyag-kombináció összetételének megállapításában. Az általunk kimutatott domináns MOTU-k közül számos olyan volt, melyekhez tartozó filotípusokról (Glo4, Glo7) a szakirodalomban már jelentős információ áll rendelkezésünkre, ugyanakkor leírt AM gombafajt még nem tudunk hozzárendelni. A molekuláris módszereket a jövőben ezért érdemes lenne spóramorfológiai vizsgálatokkal kiegészíteni, amelyek lehetővé tennék ezeknek az AM gombáknak az izolálását.

IRODALOMJEGYZÉK

- 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. p.
- AUGÉ R.M., TOLER H.D., SAMS C.E., NASIM G. (2008): Hydraulic conductance and water potential gradients in squash leaves showing mycorrhiza-induced increases in stomatal conductance. *Mycorrhiza*, 18 (3): 115-121. p.
- 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. p.
- 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. p.
- BETHLENFALVAY G.J., PACOVSKY R.S. (1983): Light effects in mycorrhizal soybeans. *Plant Physiology*, 73(4): 969-972. p.
- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.
- FÜZY A., BIRÓ B., TÓTH T., HILDEBRANDT J., BOTHE H. (2008): Drought, but not salinity determines the apparent effectiveness of halophytes colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Physiology*, 165 (11): 1181-1192. p.
- 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. p.
- 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. p.
- GIOVANNETTI M. (2000): Spore germination and presymbiotic mycelial growth. In: Kapulnik Y., Douds D.D. (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 47-68. p.
- GIOVANNETTI M., MOSSE B. (1980): An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84 (3): 489-500. p.
- HELGASON T., DANIELL T., HUSBAND R., FITTER A.H., YOUNG J. (1998): Ploughing up the wood-wide web? *Nature*, 394 (6692): 431. p.
- 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. p.

- 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. p.
- 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. p.
- HILDEBRANDT U., REGVAR M., BOTHE H. (2007): Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry*, 68 (1): 139-146. p.
- 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. p.
- 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. p.
- JANSA J., MOZAFAR A., ANKEN T., RUH R., SANDERS I.R., FROSSARD E. (2002): Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza*, 12 (5): 225-234. p.
- 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. p.
- JOHNSON N.C., PFLEGER 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. p.
- JOHNSON N.C. (1993): Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? *Ecological Applications*, 3 (4): 749-757. p.
- KABIR Z. (2005): Tillage or no-tillage: Impact on mycorrhizae. *Canadian Journal of Plant Science*, 85 (1): 23-29. p.
- KOVÁCS G.M., BALÁZS T., PÉNZES ZS. (2007): Molecular study of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing the sporophyte of the eusporangiate rattlesnake fern (*Botrychium virginianum*, *Ophioglossaceae*). *Mycorrhiza*, 17 (7): 597-605. p.
- KOVÁCS M.G. (2008): Magyarországi növények mikorrhizáltsági vizsgálatának összefoglalása. Mit mondhatnak ezek az adatok? *Kitaibelia*, 13 (1): 62-73. p.
- KRÜGER M., KRÜGER C., WALKER C., STOCKINGER H., SCHÜBLER A. (2012): Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level. *New Phytologist*, 193 (4): 970-984. p.
- LANDWEHR M., HILDEBRANDT U., TÓTH T., BIRÓ B., BOTHE H. (2002): The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus geosporum* in European saline, sodic and gypsum soils. *Mycorrhiza*, 12 (4): 199-211. p.
- LEYVAL C., TURNAU K., HASELWANDTER K. (1997): Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function, physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza*, 7 (3): 139-153. p.
- MARSCHNER H., DELL B. (1994): Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 159 (1): 89-102. p.
- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.

- 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. p.
- 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. p.
- 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. p.
- POZO M.J., AZCÓN-AGUILAR C. (2007): Unravelling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 10: 393-398. p.
- RENKER C., WEIßHUHN K., KELLNER H., BUSCOT F. (2006): Rationalizing molecular analysis of field-collected roots for assessing diversity of arbuscular mycorrhizal fungi: to pool, or not to pool, that is the question. *Mycorrhiza*, 16 (8): 525-531. p.
- ROLDÁN A., SALINAS-GARCIA J.R., ALGUACIL M.M., CARAVACA F. (2007): Soil sustainability indicators following conservation tillage practices under subtropical maize and bean crops. *Soil and Tillage Research*, 93 (2): 273-282. p.
- 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. p.
- 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. p.
- SCHÜBLER A., SCHWARZOTT D., WALKER C. (2001): A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105 (12): 1413-1421. p.
- SMITH S.E., READ D.J. (1997): *Mycorrhizal Symbiosis*, 2nd ed. *Academic Press*, London.
- 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. p.
- 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. p.
- WANG B., QIU Y.L. (2006): Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16 (5): 299-363. p.

PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Idegen nyelvű, lektorált tudományos közlemények

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. p. DOI 10.1007/s00374-010-0519-z (IF: 2,156)

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 (S1): S123-S130. p. ISSN:1695-971-X. (IF: 0,646)

Idegen nyelvű konferencia kiadványok

POSTA K., SASVÁRI Z. (2008): Importance of AMF diversity for typical agricultural soil of Hungary with special respect to maize cropping system. In: Feldman F, Kapulnik Y, Baar J (2008): *Mycorrhiza Works*, pp: 180-189. Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, Braunschweig, Germany. ISBN: 978-3-941261-01-3.

POSTA K., SASVÁRI Z., CSIMA G. (2009): Application of commercial mycorrhizal product in Hungary. COST 870 Meeting, Barcelona

Magyar nyelvű konferencia kiadványok

SASVÁRI Z., CSIMA G., HERNÁDI I., POSTA K. (2009): Kukorica arbuszkuláris mikorrhiza diverzitásának vizsgálata hosszú időtartamú kísérletekben. Jubileumi tudományos konferencia, 2009. október 15. Martonvásár. *Tartamkísérletek jelentősége a növénytermesztés fejlesztésében*, pp:293-298. ISBN: 987-963-8351-36-4.

Konferencia előadások/poszterek tartalmi összefoglalói (absztraktok)

SASVÁRI Z., PUSPÁN I., KOVÁCS R., KÁRPÁTI É., POSTA K. (2010): Horticultural application of a commercial mycorrhizal product in Hungary. Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlése, Keszthely, p. 75.

POSTA K., SASVÁRI Z., HORNOK L. (2010): Diversity of arbuscular mikorrhizal fungi in long term maize monoculture. Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlése, Keszthely, p. 71.

SASVÁRI Z., BERZSENYI Z., POSTA K., HORNOK L. (2009): Diversity of arbuscular mycorrhiza fungi colonizing maize at different plant densities. XI. International Congress of the Hungarian Society for Microbiology. October 15-17, 2008, Keszthely, Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 56 (Suppl): 86-87. p

SASVÁRI Z., CSIMA G., BERZSENYI Z., POSTA K. (2009): Effects of long-term fertilizations on abundance and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi under maize cropping system. Second Central European Forum for Microbiology. October 7-9, 2009, Keszthely, Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 56 (Suppl): 236-237. p

SASVÁRI Z., POSTA K., HORNOK L. (2008): Impact of different long-term fertilization treatments on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in maize. Fourth Hungarian Conference of Mycology. May 29-31 2008, Debrecen, Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 55:242.p

SASVÁRI Z., BERZSENYI Z., POSTA K., HORNOK L. (2008): Eltérő termesztési technológiák hatása az arbuszkuláris mikorrhiza gombák diverzitására kukoricában. 54. Növényvédelmi Tudományos Napok. Budapest, 2008. február 27-28. p:17.

Egyéb tudományos közlemények

SASVÁRI Z., POSTA K. (2008): Környezetkímélő és gazdaságos növénytermesztés mikorrhiza oltóanyag használatával, *Agroinform*, XVII. 2. pp:12-13.p

A doktori képzés alatt más témában megjelent tudományos közlemények

SASVÁRI Z., POSTA K., HORNOK L. (2008): Expression patterns of *Cel5A-Cel5B*, two endoglucanase encoding genes of *Thermobifida fusca*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 55 (4):437-446.

HERNÁDI I., **SASVÁRI Z.**, ALBRECHTOVÁ J., VOSÁTKA M., POSTA K. (2012): Arbuscular mycorrhizal inoculant increases yield of spice pepper and affects indigenous fungal community in the field. *HortScience*, (megjelenés alatt) ISSN: 0018-5345 (**IF: 0,886**)