

ZÁRÓJELENTÉS

a K60887 sz. (Ektomikorrhizák diverzitása hazai bükkösökben) és a PUB-C 79898 sz. (Hazai bükkösök ektomikorrhizáiról szóló publikációk támogatása) c. OTKA pályázatok tudományos eredményeiről

Mivel az ektomikorrhiza-képzés (a fás növények gyökerei és gombák között kialakuló szimbionta kapcsolat) a természetes erdőkben általánosan elterjedt és gyakori jelenség, a különböző erdők nem csak növényfajaikkal, hanem tipikus ektomikorrhiza-együtteseikkel is jellemezhetők. Pályázati munkánk célja magyarországi bükkösök ektomikorrhizáinak vizsgálta volt annak megállapítására, hogy melyek a vizsgált erdőállományok gyakori és jellegzetes mikorrhizatípusai és van-e különbség a különböző mintaterületek ektomikorrhizáinak összetételében. Minthogy az ektomikorrhizaképző gombák termőtesteinek előfordulása nem függ össze micéliumuk és mikorrhizáik gyakoriságával a talajban, a termőtestek alapján történő felmérések megtévesztők: a mikobionták elterjedésének és jelentőségének feltárása csak közvetlenül a talajból, a gyökérminták vizsgálata alapján történhet.

Az ektomikorrhizák jellemzésére használt, fény- és elektronmikroszkópos, valamint hisztokémiai módszerek mellett molekuláris taxonómiai megközelítést (PCR, rDNS nukleotidszekvencia-analízis, kladisztikai analízis) alkalmaztunk. Ehhez az elmúlt években olyan korszerű műszerezettségű módszertani bázist építettünk ki, ami lehetővé tette a pályázati munka elvégzését.

Annak ellenére, hogy 2006-ban egy munkatársunk kilépett a pályázatból, a vállalt feladatot (egy év hosszabbítással) a terveknek megfelelően elvégeztük, bár a gyűjtött anyag még további évekre elegendő munkát biztosít.

Beszámoló a munka menetéről

2006-ban három bükkös állományban jelöltünk ki mintavételi területeket a Bükki Nemzeti Parkban (Őserdő), a Kékes Észak Rezervátumban és az Őrségi Nemzeti Park csörötneki területén, és beszereztük a szükséges kutatási engedélyeket az illetékes nemzeti parkoktól.

2006 őszén a mintaterületekről egy alkalommal vettünk ektomikorrhizas gyökereket tartalmazó talajmintákat. Ezekből megtörtént az első ektomikorrhizák kimosása, tipizálása és mikroszkópos morfológiai-anatómiai jellemzése. A mintákat további morfológiai vizsgálatok céljára FEA-ban, a DNS-vizsgálatok céljára pedig CTAB-ban fixáltuk. Megkezdjük az ektomikorrhizák rDNS ITS-régiójának szekvenenciaanalízisét, amelyet a morfológiai vizsgálatokkal együtt folyamatosan dolgoztunk fel.

2007-ben a kijelölt bükkös mintavételi területekről az Őrségből, a Bükk-Őserdőből és a Kékes-Észak rezervátumból származó bükk gyökerekről és mikorrhizas gomba termőtestekből összesen 127 ektomikorrhizát gyűjtöttünk, válogattunk szét és jellemeztünk morfológiai-anatómiai módszerekkel. Folyamatosan zajlott az előző években begyűjtött mikorrhizák DNS-ének kivonása, az nrDNS adott szakaszainak amplifikálása és szekvenálása. A fenti lelőhelyekről az év során összesen 79-nek az ITS szekvenciáját határoztuk meg és további 65 mintát PCR-eztünk sikeresen. 2007 szeptemberétől a tervnek megfelelően Erős-Honti Zsolt doktorandusz a pályázat költségén tudományos segédmunkatársként szerződéses alkalmazásba került, Seress Diána III. éves biológus pedig hallgatói alkalmazás keretében segítette a molekuláris munkát.

A 2008-as évben a kijelölt bükkös mintavételi területekről már összesen több, mint 570 morfológiailag jellemzett és fixált ektomikorrhiza (EM) mintával rendelkezünk. A bükk gyökerekről és mikorrhizas gomba termőtestekből 206-ot PCR-eztünk sikeresen, 84-öt pedig az ITS szekvenciák alapján határoztunk meg. A következő mikorrhizas gomba termőtestekből hoztunk létre sikeresen steril micélium tenyészeteket: *Paxillus involutus*, *Scleroderma citrinum*. Ektomikorrhizából: *Cenococcum geophilum*, *Tomentella sp.* Június folyamán a Bükk-Őserdőben a területre jellemző ektomikorrhizák horizontális és vertikális elterjedésének, faji diverzitásának és az egyes EM-képző gombafajok abundanciájának felmérésére kvantitatív talajmintavételt végeztünk egy 40x20 m-es kvadrátban, 32 pontból és három mélységből. A kb. 1 l űrtartalmú talajmintákból kimosott ektomikorrhizas gyökércsúcsok közül 200-at random módon kiválasztottunk, ezeket 10 morfortípus-csoportba osztottuk. A mintákat 70%-os etanolban fixáltuk a további morfológiai-anatómiai és molekuláris vizsgálatok céljára. Ennek a több, mint 900 mintának a DNS-alapú fajmeghatározása és a fajok morfológiai-anatómiai jellemzése a pályázat lezárása után még több éven keresztül tovább folytatódik. 2008 augusztus 31-vel Erős-Honti Zsolt doktorandusznak az ezen pályázatban tervezett alkalmazási szerződése lejárt, de ő a munkában továbbra is részt vett. A tervezett hallgatói alkalmazás keretében ebben az évben

Seress Diána, Lukács Alena és Gáspár Bence biológus BSc hallgatók végeztek DNS-kinyerési és azonosítási munkát a bükki ektomikorrhiza mintákból.

2009-ben az eredetileg az év végén lejáró pályázati időszak egy évvel történő meghosszabbítását kértük (amit az OTKA engedélyezett is), mivel számos munka még nem fejeződött be és az anyagi fedezet megvolt rá, hogy még egy évig tovább vigyük a pályázatot.

A tervezett hallgatói alkalmazás keretében Seress Diána, Lukács Alena és Gáspár Bence biológus BSc hallgatók végeztek DNS-kinyerési és azonosítási munkát a bükki ektomikorrhiza mintákból. Az ektomikorrhiza közösségek analízise során ebben az időszakban jelentős publikációk, részletes, több taxonra kiterjedő összegzések születtek, elsősorban a *Humaria*, a *Tuber*, a *Pachyphloeus* és a *Tomentella*-mikorrhizákra vonatkozóan. A PUB-C 79898 sz., "Hazai bükkösök ektomikorrhizáiról szóló publikációk támogatása" c. pályázat pénzkeretét ezen cikkek színes oldalainak költségeinek fedezésére használtuk fel (ld. . és 12. sz. publikációk), mivel ezen cikkek olyan képi információ tartalmazznak a mikorrhizákról, amelyek csak színes ábrákon érvényesülnek.

Tudományos eredmények

2010 decemberig bezárólag a kvalitatív vizsgálatok során a vizsgált bükkösökben 35 talajmintavétel során összesen 608 ektomikorrhizát különítettünk el és ezek közül 186-ot határoztunk meg faji vagy nemzetségi szinten, ezen belül 66 taxont molekuláris módszerekkel. Hat, a tudományra új ektomikorrhiza leírását készítettük el és publikáltuk.

A fenti mintaterületeken végzett vizsgálatok előzetes eredményeiről a VII. Magyar Ökológus Kongresszuson (Budapest), az V. és VI. Nemzetközi Mikorrhiza Konferenciákon (Granada és Edinburgh), a IV. Magyar Mikológiai Konferencián (Debrecen) és a VI. Kárpát-medencei Biológiai Szimpóziumon (Budapest) számoltunk be. Ezekben a rendezvényeken munkacsoportunk tagjai aktívan részt vettek előadásokkal és poszterekkel.

Legjelentősebb tudományos eredményeinknek a fehér szarvasgombák (*Tuber borchii* csoport), a *Humaria*, *Genea*, *Pachyphloeus*, valamint a *Tomentella*-nemzetség ektomikorrhizáinak morfológiai-anatómiai leírását és DNS-alapú meghatározását tekinthetjük. Ezeknek a vizsgálatoknak a publikálása a *Mycological Progress* és a *Mycorrhiza* c. nemzetközi folyóiratokban megtörtént (1., 3., 5., 6., és 12. sz. publikációk). Ezen cikkeinknek az összesített impakt faktora 9.53.

A Bükk Óserdőben az ektomikorrhizák előfordulására vonatkozó, 12 éven keresztül végzett vizsgálataink Siller Irén szintén 12 éves, termőtest-alapú vizsgálataival

összehasonlítva jól tükrözik, hogy a termőtest-vizsgálatok hiányos képet mutatnak a mikorrhizás gombafajok előfordulására vonatkozóan. Míg a termőtest-vizsgálatok összesen csak 12 nemzetség 18 fajának képviselőit mutatták ki a területről, addig az ektomikorrhiza-vizsgálatok 20 nemzetség 31 fajának jelenlétét igazolták, köztük olyan taxonokét is, amelyeknek ritkán, vagy egyáltalán nem képeznek termőtesteket, de jelentős hányadát képezik az ektomikorrhiza-közösségeknek.

Még nem publikált eredményeink szerint a vizsgálat bükkös mintavételi területek ektomikorrhizái ugyanazon gombataxonok, elsősorban a világos köpenyű russuloid (pl. *Lactarius*) és boletoid, a tömlős *Humaria* és *Tuber* valamint a sötét köpenyű *Tomentella* fajok dominanciáját mutatják, de az egyes területeken a különböző környezeti adottságoknak köszönhetően ezeket más-más fajok reprezentálják (még nem publikált eredmények).

A pályázati munkáról a Természetbúvár és az OTKA közös projektje keretében a Természetbúvár c. folyóiratban ismeretterjesztő szintű összefoglaló is megjelent.

A pályázati időszakban két biológus hallgatónk, Kutszegi Gergely és Seress Diána részt vett az ELTE Biológus TDK konferenciáján és mindketten jeles eredménnyel védtek meg szakdolgozatukat is. Erős-Honti Zsolt sikeresen megvédte PhD disszertációját, Jakucs Erzsébet pedig benyújtotta és megvédte MTA doktori értekezését. Ezeknek a disszertációknak az eredményei jelentős részben szintén a pályázat keretében kapott eredményeken alapulnak.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném hálás köszönetemet nyilvánítani az OTKA döntéshozóinak, hogy ektomikorrhiza-kutatási témánkat immáron a harmadik alkalommal részesítette támogatásban. Enélkül a segítség nélkül ez, a hazai gombavilág mélyebb megismerését szolgáló, de nemzetközileg is jelentős eredményeket felmutató, tisztán alap kutatás jellegű munka nem lett volna lehetséges.