

## **Részletes szakmai zárójelentés „A talaj tápanyag-ellátottságának és a szimbiota partnerek kompatibilitásának szerepe néhány mezőgazdasági haszonnövény mikorrhiza-függésében” c. F42543 nyilvántartási számú OTKA pályázathoz**

### **BEVEZETÉS**

A szárazföldi ökoszisztémákban általánosan elterjedt gombák és növények közti kölcsönösen előnyös szimbiózis típus az arbuskuláris mikorrhiza (AM). Az arbuskuláris (AM) vagy vezikuláris arbuskuláris mikorrhiza (VAM) nemcsak a legelterjedtebb, de egyben a legősibb mikorrhiza típus is. A mikorrhizás növények számára a gombapartner gyökérbeni jelenléte, fertőzése jobb talajkihasználást tesz lehetővé, a növények szárazsággal, tápanyaghiánnyal, egyéb abiotikus és biotikus stressztényezőkkel szemben tanúsított ellenállóképessége nő. Az arbuskuláris mikorrhiza jelentőségére a növények foszfor (P) felvételében Gerdemann (1.) és Mosse és mts. (2.) úttörő munkássága világított rá. Ezzel szemben a mikorrhizás növények nitrogénfelvételével kapcsolatos adatok a foszforról megjelenő publikációk számához viszonyítva elenyésző. Holott a nitrogén a növényi élet szempontjából kiemelkedő szerepet tölt be. Egyetlen elem sem mutat olyan feltűnő hajtás- és termésmenvelő hatást, mint a nitrogén, és nem okoz olyan kirívó növekedés gátlást, mint a nitrogén hiánya (3.).

Jelen pályázatunk célkitűzései közé tartozott az F 029908 sz. OTKA pályázat ("Az arbuskuláris endomikorrhiza gombák gyökérkolonizációjának és fajspektrumának felmérése néhány agrár ökoszisztémában", témavezető: Takács Tünde Mária, kutatási időszak: 1999-2002) elkezdett kutatásainak folytatása és a talaj tápanyag ellátottság, a szimbiózis hatékonyság és mikorrhiza függés viszonyának vizsgálata.

Az AM gombák oltóanyagainak, mint környezetkímélő biológiai módszernek alkalmazása, a növények táplálkozásában és ellenálló képességének növelésében betöltött pozitív szerepük révén lehetőséget adhat a mezőgazdaságban történő gazdaságos felhasználásukra. Pályázatunk feladatainak megvalósítása során az alapkutatások mellett, fontos szempont volt a gyakorlat számára is használható ismeretek gyűjtése, mesterséges mikorrhizálásra alkalmas törzsek előállításának és az oltási technológia alapjainak kidolgozása. A jövőbeni cél a kijuttatott műtrágya, növényvédőszer adagok és egyéb kemikáliák mennyiségének és az erdő- vagy gyümölcsös telepítések esetén az átültetés okozta veszteség mértékének csökkentése szelektált, hatékony AM gombaoltóanyagok felhasználásával.

## **A KUTATÁS CÉLJA, A MUNKATERVBEN VÁLLALT KUTATÁSOK ISMERTETÉSE**

Pályázatunkban vizsgáltuk az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézetének kísérleti telepein, őrbottyáni humuszos homok és nagyhőrcsöki mészlepedékes csernozjom talajokban különböző nitrogén dózisok hatását mezőgazdasági haszonnövények mikorrhiza függőségének alakulására. Vizsgáltuk továbbá a fent említett talajokból izolált és felszaporított egyspórás AM gomba tenyészetek és lehetőleg azonos fajú külföldi tenyészetek oltásának hatékonyságát, a fertőzés hatását a gazdanövény növekedési paramétereire és a különböző növényi részek mikro- és makroelem tartalmára. A szimbiotikus partnerek kompatibilitásának vizsgálata a gombapartner származásától függően, hazai ökológiai adottságokhoz adaptálódott és külföldi törzsek hatékonyságának (effektivitás) és fertőzőképességének (infektivitás) összehasonlító vizsgálatai alapján történt.

**A szerződésben vállaltaktól nem tértünk el, vállalt feladatainkat maradéktalanul teljesítettük.**

**A kutatásban résztvevő kutatók személye annyiban változott, hogy a kísérleti munkák kivitelezésébe bekapcsolódott Biró Ibolya, aki 2005. évtől fiatal kutatóként dolgozik intézetünkben.**

**A pályázatban tervezett eszközbeszerzések változtak, részben a beszerzett eszköz, részben a befektetett összegek vonatkozásában. A változások okait az aktuális, éves részjelentésekben indokoltuk.**

### **Kísérletek és vizsgálatok rövid ismertetése**

I. kutatási év (2003): Tenyészedeny kísérletben, nagyhőrcsöki mészlepedékes csernozjom és őrbottyáni humuszos homok talajokban vizsgáltuk hazai viszonyok között termesztett 10 mezőgazdasági haszonnövény gyökerében a bennszülött AM gombák gyökérkolonizációjának mértékét. A bennszülött AM gombák infektivitása és effektivitása mellett tanulmányoztuk az egyes növény családok fajainak mikorrhiza függését (MD).

II. kutatási év (2004): Szabadföldi kísérletben, nagyhőrcsöki mészlepedékes csernozjom és őrbottyáni humuszos homok talajokban vizsgáltuk tavaszi árpa (*Hordeum vulgare*) gyökerében a bennszülött AM gombák gyökérkolonizációjának mértékét.

Tenyészedeny kísérleteink beállításához, oltóanyagként történő felhasználás céljából hazai izolálású és külföldi eredetű gombatorzseket szaporítottunk fel fehér here (*Trifolium repens*) és uborka (*Cucumis sativus*) gazdanövényeken. Három-három különböző élőhelyről származó, hazai izolálású *Glomus mossea* és *Glomus aggregatum* továbbá nemzetközi

törzsbankból származó hét BEG (International Bank of Glomeromycota; *Scutellospora heterogama* BEG35, *Glomus geosporum* BEG11, *Acaulospora longula* BEG8, *Glomus fasciculatum* BEG53, *Glomus versiforme* BEG47, *Gigaspora margarita* BEG34, *Glomus claroideum* BEG23) AM gombatörzslet szaporítottunk fel. A törzsek tisztaságát ellenőriztük és a gombák gyökérkolonizációja és titere alapján minősítettük.

Tenyészedény kísérleteket a fent említett nitrogéntrágyázásos tartamkísérlet parcelláiból származó, nagyhőrcsöki csernozjom és őrbottyáni humuszos homok talajokon állítottuk be. Tesztnövényként- a 2003-as kutatási évben beállított tenyészedény kísérlet eredményei alapján, mikorrhiza függés tekintetében leginkább alkalmasnak talált növények közül- kukoricát (*Zea mays*) és veteménybabot (*Phaseolus vulgaris*) használtunk. A mikorrhiza függés megállapítása érdekében mikorrhiza gomba oltóanyaggal kezelt ún. mikorrhizás növényeket és nem kezelt, nem mikorrhizás növényeket állítottunk elő. A talajmintákat sterilizáltuk, a mikorrhiza gomba oltóanyag alkalmazása a tenyészedények talajának tömegére számított 5%-ban történt. A szimbiózis gombapartnerként hazai izolálású AM gombatörzslet, egy spórából előállított *Glomus mosseae* oltóanyagát használtuk. A kísérletet négy N-adaggal (0, 50, 100, 150 mg N kg<sup>-1</sup> talaj) 12 ismétlésben állítottuk be. A foszfor (30 mg P kg<sup>-1</sup> talaj) és a kálium (60 mg K kg<sup>-1</sup> talaj) hatóanyag-mennyiségeket egységesen alkalmaztuk az összes tenyészedényben. Az AMF gyökérkolonizációt, a mikorrhiza függést és a növényi tápanyagfelvétel összehasonlító vizsgálatát a tenyészidő négy időpontjában vizsgáltuk (Nagyhőrcsök: 10., 20., 28. és 36. nap; Órbottyán: 5., 10., 15. és 20. nap).

III-IV. kutatási év (2005-2006): Folytattuk az előző évben megkezdett tenyészedény kísérleteket. Vizsgáltuk veteménybab és kukorica gyökerében a fent említett *Glomus mosseae* AM gomba infektivitását és effektivitását.

Ugyancsak tenyészedény kísérletben, paradicsom tesztnövényen tanulmányoztuk egy hazai izolálású és négy BEG (International Bank of Glomeromycota) AM gombatörzslet azonos és különböző fajainak funkcionális diverzitását, fertőzőképességük és effektivitásuk intra- és interspecifikus variabilitását. Eredményeinket kiértékeltek és publikáltak.

## **ANYAG ÉS MÓDSZER**

### **Kísérletekben használt talajok**

Szabadföldi vizsgálatainkat az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete Nagyhőrcsöki és Órbottyáni Kísérleti telepein, 1984 őszén beállított nitrogéntrágyázási tartamkísérlet parcelláiban végeztük. Ezen mintavételi területeken belül nitrogénnel eltérő

menyiségben (0, 150, 300, 450 kg N ha év<sup>-1</sup>; N: ammónium-nitrát (28%N)) és foszforral (100 kg P ha év<sup>-1</sup>; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: szuperfoszfát (18% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)), káliummal (200 kg K ha év<sup>-1</sup>; K: kálium-klorid (40-60% K<sub>2</sub>O)) azonos mértékben kezelt parcellákban vizsgáltuk a bennszülött arbuszkuláris mikorrhiza gombák gyökérkolonizációját.

Tenyészedény kísérleteinket a fent említett, sterilizált talajokban állítottuk be, a szabadföldi kísérletek alapján számított nitrogén (0, 50, 100 150 mg N kg<sup>-1</sup> talaj), foszfor (30 mg P kg<sup>-1</sup> talaj) és kálium (60 mg K kg<sup>-1</sup> talaj) adagok mellett. Az AM gomba oltóanyagok felszaporítását és tenyészedény kísérleteket kontrollált fény és hőmérséklet viszonyok között klíma kamrában, steril és félsteril körülmények között végeztük.

### **Az AM gombák fertőzőképességének (infektivitás) és hatékonyságának (effektivitás) vizsgálata**

Az AM gombák gyökérkolonizációs mutatóinak megállapítása és kiértékelése Trouvelot (1986) módszere alapján történt (4). A kiválasztott gyökérdarabok tanulmányozása alapján megállapítottuk az AM gombák infekciós gyakoriságát (F%), a gyökerek mikorrhizáltságának intenzitását (M) és a növény-gomba szimbiózis működőképességére utaló arbuskuláltsági értékeket (a%, A%).

Az AM gombákkal történő oltás hatékonyságának vagy effektivitásának vizsgálata a mikorrhizás és nem mikorrhizás növények növekedési paramétereinek (hajtás , gyökér tömeg, magasság ) és tápanyagtartalmának (P, K, Ca, Co, Cu, Mg, Mn, Mo, Ni, Zn, S mg kg<sup>-1</sup> és N% ) összehasonlító vizsgálatából következettünk.

A gazdanövények mikorrhiza függőségét (relativ field micorrhizal dependence= RFMD) Plenchette és mts.-i (5.) által kidolgozott matematikai összefüggés alapján számoltuk, amelyben figyelembe vettük a mikorrhizás és nem mikorrhizás gazdanövények növekedési paramétereit.

### **EREDMÉNYEK**

Az őrbottyáni és nagyhőrcsöki talajok bennszülött AM gombáinak gyökérkolonizációs vizsgálatait során további kísérletek alapjául szolgáló infektivitási és mikorrhiza függésű növénycsoportokat különítettünk el. Az infekciós gyakoriságok (F%) és az arbuskuláltságok (a%, A%) mértékének alakulása a tíz gazdanövényenél hasonló tendenciát mutatott a két talajtípus esetén. Mindkét talajnál a legmagasabb infekciós gyakoriság értékeket a veteménybab gyökerében a legalacsonyabbat pedig a paradicsom gyökerében találtuk.

Infekciós gyakoriságok alapján a növényeket három jól elhatárolható csoportba soroltuk: erősen mikorrhizálódók ( $F\%=70-100\%$ ), közepesen ( $F\%=40-70\%$ ) és gyengén mikorrhizálódók ( $F\%<40$ ). Kísérleteink során erősen mikorrhizáló növények: veteménybab, kukorica, uborka, vörös here, napraforgó, hagyma voltak; közepesen mikorrhizáló növények: fehér here, sárgarépa, tavaszi árpa voltak; gyengén mikorrhizáló a paradicsom volt. A mikorrhizás és nem mikorrhizás kezelések növényeinek tömegéből számított mikorrhiza függés alapján leginkább mikorrhiza függő növények a veteménybab és hagyma, míg legkevésbé a tavaszi árpa és paradicsom voltak. Az arbuszkuláltságok ( $a\%$ ,  $A\%$ ) mértékének alakulásánál és a mikorrhiza függés tekintetében egyes növények között (talajtípustól függően is, ezáltal a talajok tápanyag ellátottságának függvényében is) nagyobb eltéréseket kaptunk, mint az infekciós gyakoriságok ( $F\%$ ) összehasonlítása kapcsán.

Tenyészedény kísérleteinkhez több hazai és külföldi eredetű AM gombatörzset állítottunk elő ill. szaporítottunk fel oltóanyagként történő felhasználás céljából. A törzsek előállítására és oltóanyagaik minősítésére új módszert dolgoztunk ki, amelyeket „Understanding and Modelling Plant-Soil Interactions in the Rhizosphere Research. 4. Microbiology, biochemistry and Molecular Biology”; Schweiger P. Sen R. eds.; 2005 mikrobiológiai módszerkönyvben publikáltunk.

Szabadföldi kísérletekben, az őrbottyáni és nagyhőrsöki talajokban azonos nitrogén kezelések mellett a tavaszi árpa gyökerében a talajok bennszülött AM gombák gyökérkolonizációja jelentős különbségeket mutatott. A nagyhőrsöki mészlepedékes csernozjom talajban a növény- és gombapartner között jól működő szimbiózisra utaló magas infekciós gyakoriság és arbuszkuláltság értékeket találtunk. Ezzel ellentétben az őrbottyáni humuszos homok talajban, a vizsgált gyökérminták mindegyikében a bennszülött AM gombák jelenléte csak kis mértékben volt kimutatható. A gyökérkolonizáció alakulásában a legnagyobb és egyben szignifikáns gátlást mindkét talajban a  $300 \text{ kg NH}_4\text{NO}_3 \text{ ha}^{-1} \text{ év}^{-1}$  dózisonál tapasztaltuk. A tavaszi árpa hajtásnak százalékos nitrogéntartalma a talaj nitrogén-ellátottságának növelésével a kontrollhoz és egymáshoz viszonyítva, mindkét kísérleti területen egyaránt szignifikánsan nőtt.

A tenyészedény kísérletek adatai alapján meghatároztuk a talaj nitrogén ellátásának, a növények mikorrhiza függésének és az AM gombák gyökérkolonizációjának viszonyát és a szimbiózis időbeni alakulását a nitrogén és foszfor ellátás együttes hatásától függően. A talajok nitrogén ellátottsága és a növények biomassa produkciója között szorosabb összefüggést találtunk, mint a mikorrhiza gombák jelenléte vagy kolonizációja és a biomassa alakulása között. Általánosan elmondható, hogy a nagyhőrsöki és őrbottyáni talajokban és 5-

10-(20) napos növényeknél a gyökérkolonizációs mutatók mennyisége (az infekciós gyakoriság, mikorrhizáltság intenzitásában, arbuskuláltságokban és az apresszórium szám) a nitrogén dózisok emelkedésével csökkent. Az esetek többségében a fent megnevezett mutatókban szignifikánsan kisebb értékeket a 300 kg N ha<sup>-1</sup> év<sup>-1</sup> dózisnak megfelelő 100 mg N kg<sup>-1</sup> talaj dózisonál találtunk. Az arbuskuláltság értékek és a fertőző AM gombahifák belépési pontjainak (apresszóriumok) száma egy érzékenyebb mutatója volt a szimbiotikus anyagcsere változásoknak, mint az infekciós gyakoriság. Alakulásuk egy fontos indikátora lehet nemcsak a fertőzőképességének, a talaj tápanyag ellátottságának, de a szimbiózis hatékonyságára is utalt. Jelentős különbséget találtunk az AM gombák raktározó képleteinek, vezikulumok számának időtől és tápanyagellátástól függő alakulásában is. A vezikulumok száma a kevésbé mikorrhiza függő kukorica gyökerében, a növény fiatalabb korában és nagyobb számban jelenik meg, mint a babban. A 30-40 napos növények gyökerében mért infekciós gyakoriságok már sem időben sem pedig a N dózisokkal nem változtak.

A mikorrhizás növények foszfor-, kálium- és nitrogénfelvételét a mikorrhiza gombák jelenléte általában növelte. Az AM gomba oltás hatékonyságát a növényfaj, a tesztnövény vegetációs állapota és nitrogén ellátottsága egyaránt befolyásolta. A növények nitrogén felvétele és foszforfelvétele között minden esetben negatív korrelációt találtunk. Összességében megállapítható, hogy a növényekben „optimális” tápanyag ellátottság mellett, amely esetünkben az (50)-100 mg N kg<sup>-1</sup> talaj dózis volt csökken a gombák kolonizációja. A kolonizáció csökkenése a gombának juttatott fotoszintetikus asszimilátumok mennyiségének leszabályozásával magyarázható. A nitrogénnel bőségesen ellátott ((100) 150 mg N kg<sup>-1</sup> talaj) növények foszforhiányban szenvednek, amely a mikorrhiza gombák kolonizációjának növelésével enyhíthető.

Hazai és külföldi eredetű *Glomus* sp. törzsek infektivitásában és effektivitásában, paradicsom gazdanövény esetében intra- és interspecifikus funkcionális diverzitást mutattunk ki. A hazai talajokból izolált törzsek, különös tekintettel egy *Glomus mosseae* törzs gombái a hazai talajhoz ill. körülményekhez jobban adaptálódtak és hatékonyabb növény-gomba szimbiózist alakítottak ki, mint a külföldi eredetű törzsek. A hazai és külföldi törzsek összehasonlító vizsgálatai alapján a gazdanövény és gomba közti kompatibilitási viszonyokról kaptunk információt.

A fent leírt eredmények felhívják a figyelmet arra, hogy az AM gombák fertőzőképességének (infektivitás) és hatékonyságának (effektivitás) vizsgálatánál mekkora jelentősége van a gazdanövény és a mintázási időpont megválasztásának. Mivel eddigi

kísérleteink és vizsgálataink során szabadföldi nitrogéntrágyázásos kísérletekben nem állt rendelkezésünkre nem mikorrhizás növény, vizsgálatainkat tenyészedény kísérletekben a szabadföldiekkel párhuzamosan folytattuk. Így nemcsak a mikorrhizás és nem mikorrhizás növények összehasonlító vizsgálatára volt lehetőségünk, hanem vizsgálataink során arra is választ kaptunk, hogy a tenyészedény kísérletekben kapott eredmények és következtetések milyen mértékben alkalmazhatóak a szabadföldi viszonyokra. A szabadföldi és tenyészedény kísérletek adatai elsősorban az arbuszkuláltságok alakulása alapján jól összevethetőek voltak és hasonló eredményekre vezettek. Eredményeink alapján a gyakorlat számára meghatározható egy a növényi tápanyagellátás és a szimbionta mikroorganizmusok működőképessége szempontjából egyaránt kedvező ill. optimális kijuttatott nitrogén dózis (adott foszfor ellátottság mellett). Kísérleteink bizonyítják, hogy hazai talajokban a hazai eredetű, hazai talajból izolált AM gombafajok nagyobb fertőzőképességet és hatékonyságot érnek el még azonos fajok vizsgálata esetén is (intraspecifikus diverzitás), mint a külföldi eredetűek.

#### **KUTATÁSI TÉMA TOVÁBBI LEHETSÉGES IRÁNYAI, AZ EREDMÉNYEK FELHASZNÁLÁSÁNAK, HASZNOSÍTÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI**

Eredményeink alapjául szolgáltak az „AMF szimbionta gombatörzsek alkalmazási lehetőségei az organikus zöldségtermesztésben” c. Magyar –Kínai Kormányközi TÉT Együtműködésnek, melynek célja a hatékony AM gombatörzsek izolálása és szelekciója és gazdaságos oltási technológia kialakítása.

#### **IRODALOMI HIVATKOZÁSOK**

1. GERDEMANN, J.W. 1968: Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **6**: 396-418.
2. MOSSE, B., HAYMAN, D. S., ARNOLD, D.J. 1973: Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. V. Phosphate uptake from <sup>32</sup>P labelled soil solution by three plant species. *New Phytol.*, **72**: 809-815.
3. FÜLEKY GY. 1999: Tápanyag-gazdálkodás. Mezőgazda Kiadó, p.: 37-51.
4. TROUVELOT, A., KOUGH, J.L., and GIANINAZZI-PEARSON, V. 1986: Measure du Taux de mycorrhization VA d'un systeme racinaire. In: 1er Symposium Europeen sur les Mycorrhizes. 217-221. INRA Paris
5. PLENCHETTE C., FORTIN, J.A. AND FURLAN V. 1983: Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions.

