

Kovács M. Gábor

Mikorrhiza vizsgálatok alföldi területeken

Ph.D. értekezés

Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi Kar
Környezettudományi Doktori Iskola
Természetvédelmi Ökológia Program
Programvezető: Prof. Dr. Gallé László

Témavezetők:

Dr. Jakucs Erzsébet

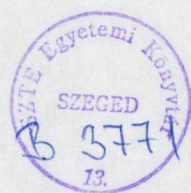
ELTE Növény szerkezettani Tanszék

Dr. Bagi István, Dr. Mihalik Erzsébet

SZTE Növénytan Tanszék

Szegedi Tudományegyetem, Növénytan Tanszék

2002



Tartalom

	oldal
1. Bevezetés	4
1.1. Irodalmi áttekintés	5
1.2. Célkitűzések	12
2. Anyag és módszer	15
2.1. A részletesen vizsgált mintavételi területek	15
2.2. Gyökérminták gyűjtése	15
2.3. Mikorrhizák mikroszkópos vizsgálatai	16
2.3.1. Státuszvizsgálatok	16
2.3.1.1. Gyökérminták előkészítése	16
2.3.1.2. A mikorrhiza kolonizáció kvalitatív és kvantitatív jellemzése	17
2.3.2. Ektomikorrhizák részletes morfológiai jellemzése	18
2.3.3. Gyökérkapcsolatok részletes fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatai	18
2.4. Gomba-növény <i>in vitro</i> gyökérkölcsonhatások kísérletei	19
2.4.1. A micélium és a növények előkészítése	19
2.4.2. Kísérletek	19
2.5. Molekuláris vizsgálatok	20
2.5.1. DNS kivonás, PCR körülmények, RFLP, szekvenálás	20
2.5.2. Szekvenciák kiértékelése, filogenetikai számítások	21
3. Eredmények	22
3.1. A kunfehértói területen végzett vizsgálatok eredményei	22
3.1.1. Státuszvizsgálatok és a <i>Terfezia terfezioides</i> potenciális partnerfajai	22
3.1.2. A <i>Terfezia terfezioides</i> nrDNS ITS szakaszának vizsgálatai	22
3.1.3. A <i>Botrychium virginianum</i> arbuskuláris mikorrhizájának anatómiája	24
3.2. A fülöpházi területen végzett vizsgálatok eredményei	28
3.2.1. Státuszvizsgálatok	28
3.2.2. A <i>Helianthemum ovatum</i> természetes ektomikorrhizái	30
3.3. A <i>Terfezia terfezioides in vitro</i> gyökér-interakciói	33
3.4. Az alföldi erdőkből származó ektomikorrhizák jellemzése	39
3.4.1. A <i>Tuber rapaeodorum</i> ektomikorrhizája	39
3.4.2. A tomentelloid mikorrhizák molekuláris vizsgálatai	41
4. Eredmények értékelése	43
5. Összefoglalás	57
6. Summary	60
7. Köszönetnyilvánítás	64
8. Irodalom	66

1. Bevezetés

A szárazföldi edényes növények legnagyobb része valamilyen gombával él gyökérszimbiózisban, ezt a mutualista együttélést mikorrhizának nevezzük. Magát a mikorrhiza elnevezést Frank 1885-ben írta le először, német erdőkkel kapcsolatos munkájában. A mikorrhizák főbb típusai az arbuszkuláris, ekto- és ektendomikorrhizák, továbbá elkülönítették a gazdanövények családjai alapján az arbutoid-, erikoid- és orchid-mikorrhizákat (1. táblázat). Az egyes típusokra jellemző, hogy milyen gomba taxon és növénycsoport képzik őket (1. táblázat).

1. táblázat: A fontosabb mikorrhiza típusok jellemzői. A struktúrára vonatkozó jelek kifejezett állapotra vonatkoznak. Harley (1991) után, kisebb módosításokkal.

	Mikorrhiza típusa						
	Arbuszkuláris	Ekto	Ektendo	Arbutoid	Monotropoid	Erikoid	Orchid
Gomba szeptált	–	+	+	+	+	+	+
Szeptálatlan	+	(+)	–	–	–	–	–
Hifák a sejtekben	+	–	+	+	+	+	+
Gomba köpeny	–	+	+ vagy –	+	+	–	–
Hartig-háló jelenléte	–	+	+	+	+	–	–
Hifahurkok a sejtekben	+	–	+	+	–	+	+
Hausztórium dichotómikus	+	–	–	–	–	–	–
Nem dichotómikus	–	–	–	–	+	–	+ vagy –
Vezikulumok jelenléte	+ (vagy –)	–	–	–	–	–	–
Klorofill nélküli gazda	– (vagy +)	–	–	– (vagy +)	+	–	+
Gomba taxon	Zygo	Basidio Asco Zygo ?	Basidio Asco	Basidio	Basidio	Asco (Basidio)	Basidio
Gazda taxon	Bryo Pterido Gymno Angio	Gymno Angio	Gymno Angio	Ericales	Monotropaceae	Ericales	Orchidaceae

A mikorrhiza terminus definíciója nem egységes, két fő irányvonala a funkcionális alapon jellemző, és a strukturális alapon behatároló iskola. Mindkettő nézetnek megvannak a korlátjai, a funkcionalista elképzelések legnagyobb problémája, hogy a korábban egyértelműen mutualistának tételezett szimbiózis inkább tűnik a parazitizmus-mutualizmus kontinuum mentén elhelyezkedni, melyen a helyzetét a kapcsolatnak nem kizárólag a fajok vagy törzsek határozzák meg, hanem például a körülmények, melyben a kölcsönhatás létrejön. További nehézséget okoz a funkció felőli megközelítésnél, hogy az obligát biotróf taxonokon kívül nehezen tisztázható a kapcsolatban részvevő felek fitnessére gyakorolt pozitív hatás, melyet általában csak a növények esetében vizsgálnak,

döntő többségében csak indirekt módszerekkel. Munkámban ezért strukturális értelemben beszélek mikorrhizákról, olyan esetben, ahol a struktúra megkérdőjelezi az egyértelmű mikorrhizas kapcsolatot (lásd homoki szarvasgomba *in vitro* kísérletek), a fajra irányuló korábbi munkáinkban is kerülöm a mikorrhiza szót.

A különböző mikorrhizákat különböző aspektusokból és különböző szerveződési szinteken vizsgálhatjuk. A főbb irányok a leíró, taxonómiai, az élettani és a gén-expressziós kutatási területek, és külön lehet kezelni az alkalmazott mikorrhiza kutatásokat is. Annak ellenére, hogy a magyarországi növény- és gombavilág erősen kutatott, nagyon keveset tudunk a hazánkban előforduló mikorrhizákról. Doktori munkám során arra törekedtem, hogy alföldi növénytársulások mikorrhiza viszonyaira irányuló vizsgálatokat végezzek különböző módszerekkel, elsősorban leíró szándékkal, egyed és egyed feletti szerveződési szinteken.

A dolgozat megírása során gondot jelentett az egyes angol szakkifejezések magyarra történő átültetése. Ennek legfőbb oka, hogy a magyar szaknyelvbe ezeknek a szakkifejezéseknek csak nagyon kis része épült be, remélem, ezek a szavak nem okoznak félreértéseket. A megszokottól eltérően dolgozatomban minden esetben kiírom a nemzetség nevét, elkerülendő az ugyanazon betűvel kezdődő génuszok összekeverését.

1.1. Irodalmi áttekintés

A szárazföldi edényes növények döntő többsége mikorrhizált, és ennek a mutualista kapcsolatnak a hatása mind a növények tápanyagfelvételére, mind a növénytársulások szerkezetére, általánosan ismert és bizonyított (Allen 1992, Smith és Read 1997, Varma és Hock 1998). Ennek ellenére, sajnos sok növénytani kutatásban máig ignorálják a mikorrhizákat, erről a jelenségről írta találóan Allen (1991), hogy “out of sight, out of mind”.

Nagyon sok növényről vannak mikorrhizáltságukra vonatkozó adatok, de annak a tulajdonságnak, hogy egy növény képez-e mikorrhizát, és ha igen, milyen típusút, mind az egyed, mind az egyed feletti szinteken megnyilvánuló magas variabilitása miatt sok információra lenne még szükség, hogy alaposabban megismerjük különböző típusainak gyakoriságát (Harley és Harley 1987, Read és mtsai. 1992). Többek között ehhez

szolgáltathatnak adatokat a mikorrhizáltsági státuszvizsgálatok, melyeknek az egyik legismertebb összefoglalása a brit flóra növényeire vonatkozik (Harley és Harley 1987), de hasonlóan nagy léptékű mikorrhizáltsági adatsort közöltek például indiai területek növényeiről is (Muthukumar és Udaiyan 2000). A brit mikorrhizáltsági adatokat a régió növényeinek ökológiai értékszámai közé is beillesztették (Grime és mtsai. 1998).

A mikorrhizák mellett fontos és gyakori gyökérekolonizáló gombák a „sötét szeptált” formacsoport tagjai. Mind ezeknek a gyökérkapcsolatoknak a hatása, mind az ezeket képző gombák rendszertani helyzete sokáig vitatott volt, de egyre inkább úgy tűnik, hogy ezek a kölcsönhatások is közel állnak a mikorrhizákhoz, és egyes – például alpesi – területeken fontosabb szerephez jutnak, mint például az arbuskuláris mikorrhizák (lásd Jumponen és Trappe 1998).

A mikorrhizák – különösen az arbuskuláris mikorrhizák – jelenléte és jelentősége a homokgyepekben és homokdűnés élőhelyeken általánosan ismert, és növényeik mikorrhizái alaposan tanulmányozottak (például Mejstrik 1972, Read és mtsai. 1976, Hopkins 1986, Miller 1987, Koske 1988, Blaschke 1991, Blaszkowski 1994, Dhillion és mtsai. 1995, Pawlowska és mtsai. 1996, Cordici és Rincón 1997, Fontenla és mtsai. 2001), és homoki növényeket használtak mikorrhizálási kísérletekben is (Allen és Allen 1984, Francis és Read 1995, Miller és mtsai. 1997, van der Herijden és mtsai. 1998a, van der Herijden és mtsai. 1998b).

Az Alföld egyik legjellegzetesebb élőhelye a homokbuckák kiemelkedései és besüllyedések által képzett mozaikos táj, melyen a kontinentális klíma és szegényes talajviszonyok miatt egy speciális növénytársulás, a nyílt homokgyep – némi félsivatagos tulajdonságokkal – alakult ki (Fekete és mtsai. 1995). Ezeknek az élőhelyeknek a vegetációja a régió egyik legjobban tanulmányozott növényzete (lásd Fekete és Tóthmérész 1993, Kovács-Láng 1993).

Az alapos botanikai feldolgozottsággal ellentétben, az Alföld speciális élőhelyeinek növényzete mikorrhizák szempontjából alig kutatott, és nagyon kevés publikált adat származik például a homokgyepek társulásaiból. Három homokgyep néhány növényfaját vizsgálták mikorrhizáltságukra vonatkozóan (Parádi és mtsai. 1998, Bratek 2000). A kutatások másik része a *Fumana procumbens* (Dun.) Gr. Godr. (Cistaceae) törpecserje faj ektomikorrhizáival foglalkozik (Jakucs és mtsai. 1999, Magyar és mtsai. 1999). Ennek a családnak egy másik képviselője is él alföldi homokterületeken, az ékes

napvirág (*Helianthemum ovatum* (Viv.) Dun.). A *Helianthemum* nemzetségről régóta tudott, hogy ektomikorrhizákat is képez (Read és mtsai. 1977, Malloch és Thorn 1985, Harley és Harley 1987), de például a *Terfezia* fajok („sivatagi szarvasgomba”) legismertebb mikorrhiza partnerei is ebből a családból és génusból kerülnek ki (Alsheikh 1984, Dexheimer és mtsai. 1985). Ennek ellenére a korábbi vizsgálatok során csak elenyészően kis figyelmet fordítottak az ékes napvirág mikorrhizáira.

Alföldi erdős területekről mikorrhiza adatok pedig kizárólag csak erdészeti szempontból érdekes fafajok ektomikorrhizáira vonatkozóak vannak (Jakucs 1997, Majoros 2000). Ez érthető is, hiszen ezeknek a vizsgálatoknak a legfőbb célja, hogy alföldi erdősítéseknel esetlegesen alkalmazott mikorrhizálásokhoz gyűjtsön adatokat.

A mikorrhizák részletes anatómiai vizsgálatainak több mint száz éves története során kifejlődtek az egyes mikorrhiza típusok jellemzésére használt terminusok és speciális módszerek. Az ektomikorrhizák esetében az első mikorrhiza jellemzést Frank (1885) végezte, pontosan dokumentálva azokat a jellemzőket, melyeket a mai napig az ektomikorrhizák legfontosabb bélyegeinek tekintenek. Az ektomikorrhizák anatómiai vizsgálatainak jelenleg két fő – nem független – irányvonala van, az egyik angolszász területeken (Ingleby és mtsai. 1990) a másik Németországban (Agerer 1991) alakult ki. A Magyarországon készített részletes ektomikorrhiza leírások az utóbbi módszereit és nevezékτανát követik (például: Jakucs és mtsai. 1997, 1998a, 1998b, Jakucs 1998, Jakucs és Agerer 1999b, Jakucs és Benken 1999). Az ektomikorrhizák funkcionális megismeréséhez fontos adatokat szolgáltatnak az ultrastruktúra, különböző spektroszkópos és immunhisztokémiai vizsgálatok (Norris és mtsai. 1991).

Az arbuskuláris mikorrhizák anatómiai jellemzésének történetében nagy jelentőségű Gallaud (1905) munkája, melyben elkülönítette ennek a mikorrhiza típusnak két fő formáját, a *Paris*- és az *Arum*-típust. A mikorrhizát képző *Zygomycota* gombák taxonómiájában elengedhetetlen a gyökéren belül és azon kívül képzett struktúrák részletes vizsgálata, és az arbuskuláris mikorrhizák anatómiai vizsgálatainak az ultrastruktúra és különböző funkcionális anatómiai vizsgálatok is jelentős részét alkotják (Norris és mtsai. 1992).

Az alföldi Kunfehértó mellett található homoki ültetett erdő az egyetlen hazai élőhelye a virginiai holdrutának (*Botrychium virginianum* (L.) Sw.), és ezért régóta folynak komplex növényökológiai vizsgálatok a területen (Csiky 1997, Bagi 1998). A páfrányfaj családjának mikorrhizáiról sok érdekes adatot közöltek már. Az Ophioglossaceae családból először az *Ophioglossum vulgatum* L. sporofitonjából írtak le gomba-gyökér asszociációt (Russow 1872). A kígyónyelv páfrányok családjába tartozó fajok mindkét életszakaszán végzett korai vizsgálatok (lásd Schmid és Oberwinkler 1996) majd a későbbi, sporofitonokon (Burgeff 1938, Boullard 1957, Mesler 1976, Berch és Kendrick 1982, Gemma és mtsai. 1992, Schmid és Oberwinkler 1996) és gametofitonokon (Burgeff 1938, Nishida 1956, Boullard 1963, Mesler 1975, 1976, Schmid és Oberwinkler 1994) végzett megfigyelések egyaránt a gazda szeptátalan hifák általi kolonizációjáról tesznek említést. Gallaud (1905) egy különleges, az arbuszkulum elágazásainak végén hólyagszerűen felduzzadt struktúrát dokumentált *Ophioglossum vulgatum* gyökeréből. Később Burgeff (1938) hasonló arbuszkulumot talált az *Ophioglossum pendulum* L. gyökerében, és azt "csillag-arbuszkulumnak" (Sternarbuskel) nevezte. A trópusi *Ophioglossum reticulatum* sporofitonjában később szintén megtalálták ezt a struktúrát, egy másik jellegzetes koralloid arbuszkulum-típus mellett (Schmid és Oberwinkler 1996). Annak ellenére, hogy a *Botrychium* genus sporofitonjainak gyökér-gomba asszociációit régóta általában (vezikuláris-) arbuszkuláris mikorrhizának tartják (Burgeff 1938, Boullard 1957, Berch és Kendrick 1982, Harley és Harley 1987), és molekuláris vizsgálatok szintén alátámasztani látszanak az Endogonales gomba jelenlétét (Camacho és Trappe 1998), a nemzetség mikorrhizáinak részletes, ultrastruktúrára is kiterjedő anatómiai vizsgálatai eddig nem történtek meg.

A kunfehértói erdőben a *Botrychium virginianum* egyik állományának területén nagy tömegben fordul elő a homoki szarvasgomba (*Terfezia terfezioides* (Matt.) Trappe), mely fajnak a mikorrhiza képzéséről nagyon kevés adat áll rendelkezésünkre (Király és mtsai. 1992, Bratek és mtsai. 1996). A *Terfezia* nemzetség (Ascomycota, Pezizales) fajai leggyakrabban a mediterrán régióban fordulnak elő, gyakorta sivatagos, félsivatagos élőhelyeken. Néhány fajuk piaci értéke miatt erősen kutatott.

Mind a terepi, mind az *in vitro* vizsgálatok során a legnagyobb figyelem a nemzetség fajainak *Helianthemum* fajokkal képzett mikorrhizáira irányult. A nagy

érdeklődés és sok munka ellenére, a mikorrhizáknak megbízható, alapos anatómiai vizsgálata nagyon kevés született, és meglehetősen sok félrevezető adatot is publikáltak.

A szubsztrát hatását a *Terfezia leonis* (Tul. és Tul.) Tul. és Tul. (nom. leg.: *Terfezia arenaria* (Moris) Trappe) *Helianthemum sessiliflorum* (Defis.) Pers. fajjal képzett mikorrhizájára vizsgálták ugyan (Roth-Bejerano és mtsai. 1990, Kagan-Zur és mtsai. 1994), de a bemutatott anatómiai jelleg megkérdőjelezhető, különösképp a Hartig-háló dokumentálása (Roth-Bejerano 1990), ami pedig a legfontosabb struktúrája az ekto- és ektendomikorrhizáknak.

A *Helianthemum ledifolium* (L.) Mill. és *Helianthemum salicifolium* (L.) Mill. *Terfezia boudieri* Chatin and *Terfezia claveryi* Chatin fajokkal végzett mikorrhizálásának anatómiai eredményei (és további két *Tirmania* fajjal) szegényesen dokumentáltak, és „intracelluláris arbuszkulákat” is említenek (Awamah és mtsai. 1979), ami teljesen nonszensz. Később Alsheikh (1984) anatómiai jellemzését adta ugyanezen növényfajoknak a fenti négy gombafajjal természetes élőhelyeken képzett mikorrhizáinak. Csak intracelluláris hifák kolonizálták a gyökerek kéregsejtjeit, és „sok rövid kanyarulatú és sűrűn átszövő kiterjedéseket” formáltak (Alsheikh 1984). Az epidermisz sejteket – melyek gyakorta összeestek – szintén kolonizálták néha a hifák (Alsheikh 1984). Alsheikh (1984) egyértelműen elkülönítette a mikorrhizákat az ekto-, ektendo- és arbuskuláris mikorrhizáktól, rámutatott néhány hasonlóságra az erikoid-mikorrhizákkal, de javasolta a forma „helianthemoid” mikorrhizaként való elkülönítését.

Spóraszuszpenziós inokulálást alkalmazva hozták létre a *Terfezia claveryi* mikorrhizáját a *Helianthemum almeriense* Pau egyedeivel (Cano és mtsai. 1991). Később különböző tápközegeknek az interakcióra gyakorolt hatását vizsgálták, de már micéliumkultúrát és mikropropagált növényeket használtak a kísérletekhez (Morte és mtsai. 1994, Morte és Honrubia 1995, 1997). Egy speciális táptalajjal optimalizált rendszert (Morte és Honrubia 1994, 1995, 1997) a későbbiekben a szárazság stressz hatásának vizsgálatára is használtak (Morte és mtsai. 2000). Habár a munkák fő célkitűzései nem anatómiai vizsgálatok voltak, a mikorrhizák struktúráját egyértelműen jellemezték, miszerint „mind a gyökereken kívüli, mind az intracelluláris hifák moniliformok vagy gyöngyszerűek voltak” és az „intracelluláris hifák hurkokat formáltak és teljesen kitöltötték a lument” (Morte és mtsai. 1994). Később köpenyről is

említést tettek, de ezt a szerzők nem tartották egyértelmű, biztos struktúrának (Morte és Honrubia 1997).

A *Terfezia leptoderma* Tul. egyértelmű ektomikorrhizát képzett *Helianthemum salicifolium*-mal, igaz köpeny nélkül, de jól fejlett Hartig-hálóval (Dexheimer és mtsai. 1985, Leduc és mtsai. 1986).

A *Terfezia claveryi* – *Helianthemum salicifolium* mikorrhizát endomikorrhizaként jellemezték, de egy átmeneti forma jellegzetességeivel, mely mind ekto- mind endomikorrhiza tulajdonságokat is mutat (Dexheimer és mtsai. 1985). Az intercelluláris hifák ritkábban fordultak elő, mint az intracellulárisok, melyek általában a kolonizált sejtek belső felszínénél csoportosultak (Dexheimer és mtsai. 1985).

A szubsztrát foszfát-koncentrációjának a *Helianthemum guttatum* Mill. *Terfezia arenaria* és *Terfezia claveryi* fajokkal szintetizált mikorrhizájára gyakorolt hatásának vizsgálatai nagyon érdekes eredményre vezettek (Fortas és Chevalier 1992). A tanulmányozott szarvasgombák magas foszfát-koncentrációnál ektomikorrhizát képeztek, Hartig-hálóval, de köpeny nélkül, míg alacsony foszfát-koncentrációnál ektendomikorrhizát, Hartig-hálóval, hurkokat képző intracelluláris hifával, köpeny nélkül (Fortas és Chevalier 1992).

Malloch és Thorn (1984) *Helianthemum* és *Terfezia* (illetve *Tirmania*) fajok közötti ektomikorrhiza képzést említenek, de ez teljesen hibás és félrevezető. A *Helianthemum salicifolium* esetében a szerzők Awamah és mtsai. (1979) munkáját idézik, melyben semmi olyan jellemző nincs, melyet ektomikorrhizának lehetne tekinteni (lásd fentebb). A *Helianthemum ledifolium* esetében Malloch és Thorn (1984) Alsheikh és Trappe (1983) munkára hivatkoznak. Ez a *Phaeangium lefebvrei* Pat. fajról közölt taxonómiai munka a faj potenciális mikorrhiza-partnereinek tárgyalásakor említést tesz Awameh és Alsheikh (1979) továbbá Awameh és mtsai. (1979) *Helianthemum* spp. és *Terfezia*, illetve *Tirmania* fajok mikorrhizáit vizsgáló munkáiról. Ezek a kölcsönhatások – mint azt láthattuk – semmiképpen nem tekinthetőek ektomikorrhizának.

A *Terfezia terfezioides* nemzetségbe sorolását (Trappe 1971) molekuláris eredmények alapján többen megkérdőjelezték (Díez és mtsai. 1998, Percudani és mtsai. 1999, Kagan-Zur és mtsai. 2001), de a többi *Terfezia* nemzetségbe tartozó fajhoz való közeli kapcsolata egyértelmű (Percudani és mtsai. 1999). A legmegbízhatóbb adatok a *Terfezia terfezioides* előfordulásáról a Kárpát-medencéből származnak, ahol a Duna



vízgyűjtő-területén, vegyes akácosokban, homokos talajon találták általában (Babos 1981, Király és mtsai. 1992, Ławrynowicz és mtsai. 1997). Habár leírták a fajnak a fehér akáccal (*Robinia pseudo-acacia* L.) képzett mikorrhizáját (Király és mtsai. 1992, Bratek és mtsai. 1996), a kapcsolatról rendelkezésünkre álló adatok hiányosak. Az interakcióknak legfőbb jellemzői a kéregsejteken hurkokat képző hifák, köpeny és Hartig-háló nélkül, de intercelluláris hifákat sem figyeltek meg (Bratek és mtsai. 1996). Mindezek ellenére Bratek és mtsai. (1996) nem zárják ki, hogy a talált mikorrhiza ektendo típusú. Az anatómiai struktúráknak szegényes és nehezen használható dokumentációja, továbbá az irodalmi összehasonlításban ejtett hibák a munkát megbízhatatlanná teszik.

A *Terfezia terfezioides* mikorrhizája fehér akáccal nagyon érdekes, hiszen a fát úgy hozták be Európába. A Kárpát-medencében a komolyabb erdősítések *Robinia pseudo-acacia*-val csak a XIX. században indultak (Magyar 1960). A fehér akácot arbuskuláris mikorrhizát képző növényként tartják számon (Harley és Harley 1987), és arbuskuláris mikorrhiza formáló gombákkal mikorrhizás kísérletekben is használták (Moiroud és mtsai. 1981, Olesniewicz és Thomas 1999), habár bizonytalan utalás ektomikorrhiza képzésre szintén fellelhető az irodalomban (Trappe 1962).

A gombák magi riboszómális DNS (rDNS) 5.8S génjét “közrefogó” internal transcribed spacer régió (ITS) egy relatíve konzervatívnak tartott génszakasz, melyet inkább inter- mint intraspecifikus variabilitás jellemez, és ezért gombák molekuláris taxonómiai vizsgálataihoz alkalmazható (White és mtsai. 1990, Gardes és mtsai. 1991, Gardes és Bruns 1993). Ezen régióknak a polimeráz láncreakción (PCR) alapuló vizsgálata rutinszerűen alkalmazott módszer, melyben nagy szerepe van annak, hogy az 1990-es évek elején kidolgoztak különböző gombaspecifikus primereket és az ezekhez tartozó reakciókörülményeket. Az intraspecifikus homogenitás mellett egyes esetekben a régió fajon belüli változatosságát is kimutatták (Henrion és mtsai. 1992, 1994, Kären és mtsai. 1997, Díez és mtsai. 2001, Gottlieb és Lichtward 2001), például aszkuszos gombák körében is, mint a *Tuber* nemzetségnél (Gandebouf és mtsai. 1997, Paolocci és mtsai. 1997) vagy éppen a *Terfezia* génusznál (Kagan-Zur és mtsai. 1999). Az ITS régió gombák identifikálására való használatáról rengeteg irodalmi adat van, a molekuláris módszerekkel történő azonosítás nélkülözhetetlen például az ektomikorrhizák vizsgálatainál. Az ektomikorrhizák anatómiai jellemzése során nagyon fontos (sajnos nem mindig

kivitelezhető) a gombapartner azonosítása. Sok esetben ezt megnehezíti, hogy két faj ektomikorrhizája anatómiai alapon megkülönböztethetetlen, mint például a *Xerocomus subtomentosus* (L.: Fr.) Quél. és *Xerocomus armeniacus* (Quél.) Quél. (Palfner és Agerer 1990), vagy a *Lactarius picinus* Fr. és *Lactarius fuliginosus* Fr. fajok esetében (Kraigher és mtsai. 1995). Problémát okoz az is, ha az adott gombacsoport termőtesteinek megtalálása nehéz, mint például a Thelephoraceae család egyes fajainál. Ez utóbbi esetben is segíthet az ITS régió vizsgálata, melynek segítségével egyes mikorrhizák azonosíthatóak (Köljalg és mtsai. 2000) és például a részletes anatómiai mikorrhiza jellemzést egyértelműen hozzá lehet rendelni egy taxonhoz (Köljalg és mtsai. 2001).

1.2. Célkitűzések

Doktori dolgozatomban azon munkáimat mutatom be, melyek során különböző módszerekkel vizsgáltam alföldi területeken található mikorrhizákat és az azokat létrehozó fajok jellemzőit. Egyes élőhelyeken célul tűztem ki, hogy az ott élő növények és gombák részletes mikorrhiza vizsgálatai mellett, adatokat gyűjtsék az adott növénytársulás lehető legtöbb fajának a mikorrhizáltságáról.

A kunfehértói erdőben régóta folyó komplex növényökológiai vizsgálatokhoz kapcsolódva, mikorrhiza vizsgálatokat kezdtünk a területen, célul tűzve ki, hogy az egyik erdőtag növényeinek mikorrhizáltsági státusát jellemezzük kvalitatív és kvantitatív módon, figyelmet fordítva nem mikorrhizás gyökér-endogén gombstruktúrákra is.

Mivel a területen nagy gyakorisággal találtuk meg a *Terfezia terfezioides* termőtesteit, a státus vizsgálatok során szeretnénk volna a gomba potenciális partnerfajait megtalálni, a *Terfezia* nemzetség endogén struktúráinak általános jellemzői alapján.

A homoki szarvasgomba molekuláris vizsgálatával tisztázni szeretnénk volna a faj ITS régiójának variabilitását. Ehhez a kunfehértói területről származó termőtestek ITS szakaszának RFLP és szekvencia vizsgálataival kívántunk megtenni, bevonva a vizsgálatokba olaszországi mintát is. Kíváncsiak voltunk, hogy erre a *Terfezia* fajra is jellemző-e az intraspecifikus variabilitása az ITS régióknak.

A területen végzett mikorrhiza vizsgálatok egyik legfontosabb célja a *Botrychium virginianum* sporofiton endomikorrhizájának részletes anatómiai vizsgálata volt. Tisztázni szeretnénk volna, hogy a génusz valóban arbuskuláris mikorrhizával rendelkezik-e, továbbá, hogy megtalálhatóak-e benne azok a speciális struktúrák, melyeket a kígyónyelv páfrányok családjának más fajaiban találtak.

A fülöpházi területet, mint jellegzetes alföldi homokgyepet választottuk státusz vizsgálatokhoz, melyről sok botanikai, viszont minimális mikorrhizákra vonatkozó adat áll rendelkezésre, pedig a terület speciális viszonyai miatt érdekesnek ígérkezett a mikorrhizáltságokra vonatkozó vizsgálat.

A fülöpházi területen azt is vizsgálni szeretnénk volna a növények gyökereiben és gyökerein található gombastruktúrák részletes tanulmányozása mellett, hogy van-e valamilyen összefüggés az egyes növényfajok mikorrhizáltsága és az adott társulásban rá jellemző cönológiai, ökológiai tulajdonságai közt.

A fülöpházi területen élő *Helianthemum ovatum* ektomikorrhizáinak részletes anatómiai és molekuláris taxonómiai vizsgálatát szeretnénk volna elvégezni, többek között arra keresve a választ, hogy milyen természetes mikorrhizákat képez, és ezek hasonlóak-e, mint amiket a területen élő másik törpecserje, a *Fumana procumbens* képez.

A kunfehértói területen talált *Terfezia terfezioides* termőtestekből izolált steril kultúráival végzett *in vitro* kísérletekkel és ezek részletes anatómiai vizsgálataival pontosabb képet szeretnénk volna kapni a gomba stratégiájáról, növénykapcsolatairól. Ezekhez a kísérletekhez két növényt választottunk.

A korábban partnerként leírt *Robinia pseudo-acacia* esetében pontos adatokat kívántunk szerezni ennek az érdekes kapcsolatnak jellemzőiről.

A másik növényfaj a *Helianthemum ovatum* volt, ahol vizsgálni szeretnénk volna, hogy egyáltalán képes-e a homoki szarvasgomba ezzel a növényvel kapcsolatba lépni. A gombát soha nem találták még olyan élőhelyeken, ahol ez a növény él. A kísérlethez használt növénymagok a fülöpházi területről származtak, mely emlékeztet azokra a félsivatagos élőhelyekre, ahol több, más *Terfezia* faj él. Ennek a növénynemzetségnek a kiválasztása azért is indokolt volt, hogy megkönnyítsük a korábban publikált anatómiai eredményekkel való összevetést.

Mindkét növény esetében a kísérletek során különböző foszfátkoncentrációjú táptalajokat használtunk, hogy vizsgáljuk, ebben az esetben is lesz-e a foszfátkoncentrációnak annyira karakterisztikus hatása az interakcióra, mint azt más *Terfezia* fajoknál találták.

Az alföldi erdők természetes ektomikorrhizáira irányuló kutatások során gyűjtött, a mintaterületeken talált termőtestek alapján feltételezhetően *Tuber rapaeodorum* szarvasgomba által képzett ektomikorrhiza pontos anatómiai jellemzését és ITS alapú molekuláris azonosítását szeretnénk volna elvégezni.

Ugyanezen vizsgálatok során gyűjtött mintáknál vizsgálni szeretnénk volna, hogy a morfológia alapján feltételezeten a Thelephoraceae családba tartozó gombák által képzett mikorrhizák molekuláris módszerrel azonosíthatóak-e.

2. Anyag és módszer

2.1. A részletesen vizsgált mintavételi területek

A Kunfehértó melletti terület átlagos éves csapadékmennyisége 550-600 mm, az éves átlagos hőmérséklet pedig 10.7 °C. A talaj felső rétege 0.5-1 m között változó vastagságú, gyengén karbonátos homok. A talaj szervesanyag tartalma a felső 30 cm-ben 3.3 – 8.5 %, a humusztípus erősen mineralizálódott moder. A terület növénytársulása Anthrisco cerefolii-Robinetum-ba átmenő tölgy-köris-szil ligeterdő (Bagi 1996, Csiky 1997).

A másik részletesen vizsgált élőhely a Kiskunsági Nemzeti Park IV-es számú körzete, a Fülöpháza melletti homokbuckás terület. A terület mérsékelt kontinentális klímájú, az átlagos évi hőmérséklet 10-11 °C, az éves csapadékmennyiség 550 mm júniusi és novemberi maximummal. Az éves napsütéses órák száma körülbelül 2050. A tengerszint feletti magasság 100-120 m. A terület homokbuckái dunai eredetű, szél által szállított bázikus homokból állnak. A dombok talaja nagyon szegény, bázikus vázta, kifejezett talajprofil elkülönülés nélkül. Az agyag és a kolloid frakció nagyon alacsony, a humusztartalom alacsonyabb 1%-nál. A desztillált vízben mért pH 8 vagy magasabb. A tápanyagok koncentrációja nagyon alacsony (Várallyai 1993, Kovács-Láng és mtsai. 2000). A mélyedések, buckaközök talaja valamivel magasabb humusztartalmú és savasabb kémhatású.

2.2. Gyökérminták gyűjtése

Gyökérmintákat a kunfehértói erdő 69/B erdőtagjának egy körülbelül 150 x 300 méteres területéről gyűjtöttük be 1999. október és 2000. október között, törekedve arra, hogy a növényekről lehetőleg a rájuk jellemző virágzási periódusban gyűjtsünk mintát. A mintavétel során törekedtünk arra, hogy a lehető legkevesebb bolygatást végezzük. Fajonként két-három egyed gyökeréből vettünk mintát, teljes növényt csak akkor gyűjtöttünk be, ha ez elkerülhetetlen volt, például a növény mérete miatt. A gyökereket

egyértelműen azonosítani lehetett megkeresve az eredést, illetve néhány esetben a gyökér morfológiája is pontosan meghatározta a fajt. A mintákat nedves talajjal együtt műanyag zacskókba zárva szállítottuk laboratóriumba, ahol maximum 48 órát tartottuk őket feldolgozás előtt 4 °C hőmérsékleten.

Hasonlóan jártunk el a fülöpházi területen, ahol a gyökérmintákat 2000. április és november között gyűjtöttük.

A *Botrychium virginianum* gyökérmintáit a sporofitonok kiásása nélkül, egyedenként néhány, különböző vastagságú gyökér levágásával gyűjtöttük, több alkalommal 1999. április és 2001. október között. A gyökereket laboratóriumba szállítás után a további munkáktól függően, megfelelő oldatokban rögzítettük.

Az ektomikorrhizákat talajminták éles késsel történő kivágásával gyűjtöttük, vagy a vizsgálni kívánt területen véletlenszerűen, vagy pedig a vizsgálni kívánt növény környékéről, törekedve a lehető legtöbb gyökér mintába kerülésére. A *Helianthemum ovatum* ektomikorrhizáit 1999. szeptember és 2000. október között gyűjtöttük a fülöpházi területeken, az alföldi erdőkből származó minták gyűjtési adatait a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: Az alföldi erdőkből származó ektomikorrhizák gyűjtési adatai

Minta kódja*	Feltételezett gomba	Gyűjtési hely	Gyűjtési idő	Gazdanövény
HU 86	Thelephoraceae	Püspökladány	1998. 04. 08.	<i>Quercus robur</i> L.
HU 125	Thelephoraceae	Tompa	1998. 06. 02.	<i>Populus alba</i> L.
HU 134	Thelephoraceae	Tompa	1998. 06. 02.	<i>Populus alba</i>
HU 170	Thelephoraceae	Tompa	1998. 06. 02.	<i>Populus alba</i>
HU 144	<i>Tuber rapaeodorum</i>	Kelebia	1998. 10. 08.	<i>Populus alba</i>
HU 182	<i>Tuber rapaeodorum</i>	Kelebia	1998. 10. 08.	<i>Populus alba</i>

* Jakucs Erzsébet gyűjteménye

2.3. Mikorrhizák mikroszkópos vizsgálatai

2.3.1. Státuszvizsgálatok

2.3.1.1. Gyökérminták előkészítése

A preparátumok elkészítéséhez Grace és Stribley (1991) munkáját követtük némi módosítással. Minden gyökérmintát először sztereómikroszkóppal átnéztük az extramatrikális struktúrák és az esetleges ektomikorrhizák vizsgálatának céljából. Ezután

minden gyökérmintának egy részét 10%-os KOH oldatban egy éjszakára 60 C°-on tartottuk, míg a maradék gyökérmintákat vízben 4 C°-on tároltuk. Azokat a gyökereket, melyek KOH oldatban 60 C°-on nem szintelenedtek el, 90 C°-on tovább szintelenítettük, addig, amíg szükséges volt. Ezután a mintákat legalább két órán keresztül desztillált vízben mostuk, többször cserélve a vizet. Az utolsó cserélés után néhány csepp tejsavval megsavanyítottuk a vizet (kb. 3-3.5 pH) és ebben az oldatban hagytuk a mintákat 30 percig. Mind a mosás, mind a savanyítás elengedhetetlen a festés eredményességéhez. Ezután megfestettük a mintákat tejsavas anilin-kék oldattal (0.5 g anilin-kék 30 ml cc. tejsavban oldva), majd visszaraktuk őket a savas oldatba, hogy kimosódjon a felesleges festék. Ezután tárgylemezen tejsavban elrendeztük a gyökereket, majd 24 x 50 mm-es fedőlemezzel fedtük le őket. Ha a minta értékelhetőnek tűnt, a maradék gyökereket FEA-ban (formadehid : 70%-os etanol : ecetsav, 5v:90v:5v) és a preparátumokat dokumentálás és további anatómiai vizsgálatok céljából adott sorszámok alatt gyűjteménybe helyeztük el.

2.3.1.2. A mikorrhiza kolonizáció kvalitatív és kvantitatív jellemzése

Az arbuskuláris mikorrhiza kolonizációt akkor tekintettük meglévőnek, ha a jellemző anatómiai struktúrák (vezikulum, arbuskulum, hifahurkok) megfigyelhetőek voltak a gyökérben. Minden egyes preparátumon a teljes gyökérmintát átvizsgáltuk különböző nagyításokkal (40-400 x), különös tekintettel az oldalsó és finom, vékony gyökerekre. A kolonizáció intenzitását és kiterjedtségét vizuális módszerrel becsültük fénymikroszkóp segítségével. Öt osztályt különítettünk el a kolonizáció kiterjedtségének jellemzésére: 1. osztály: maximum 5%-a; 2. osztály: 6-25%-a; 3. osztály: 26-50%-a; 4. osztály: 51-75%-a; 5. osztály: 76-100%-a a gyökér hosszának kolonizált (Hopkins 1987). A kolonizáció intenzitásának jellemzését három típus segítségével végeztük: A típus: a kolonizáció kicsi és élesen elkülönülő foltokban történik; B típus: nagyobb, de elkülönülő helyeken kolonizált; C típus: majdnem teljesen kolonizált, követve Hopkins (1987) módszerét.

Akkor tekintettünk egy növényt a *Terfezia terfezioides* potenciális mikorrhiza partnerének, ha gyökereiben megfigyelhetőek voltak a homoki szarvasgomba jellegzetes endogén struktúrái, melyeket terepi és *in vitro* kísérletek során megfigyeltek, úgymint a nagyjából párhuzamos szeptált hifák, melyek hurkokat formálnak a kéregsejtek belsejében.

A mikorrhiza jellemzőket nem mutató endogén szeptált gombák hifáit és a mikroszklerócium-szerű képleteket szintén vizsgáltuk. A fülöpházi minták vizsgálata során az endogén szeptált hifák, mikroszklerócium-szerű struktúrák és spóra-szerű képletek szintén a vizsgálat tárgyát képezték, de az externális szeptált, széles hifák és pigmentált, szemölcsös hifák jelenlétét is jelöltük. Ezeket a struktúrákat, akárcsak az ektomikorrhiza képzést, csak kvalitatív jellemzőként vizsgáltuk.

2.3.2. Ektomikorrhizák részletes morfológiai jellemzése

A munkák során követtük Agerer (1991) irányadó munkáját. Sztereómikroszkóp alatt lemostuk a gyökereket, majd a morfológiai alapon szétválogatott típusok friss állapotban megállapítható tulajdonságait jellemeztük. Ezután a fontos hisztokémiai reakciókat végeztük el, vizsgálva a friss mikorrhiza köpenyének színreakcióit Melzer-reagens, szulfo-vanilin, KOH, guajakol, FeSO₄ tejsav és anilin hozzáadásával. Ezután a mintákat FEA-ban rögzítettük. Az anatómiai jellemzéshez az ektomikorrhizákat sztereómikroszkóp alatt tüvel „megnyúzva” köpenypreparátumot készítettünk, melyet tejsavban fedtünk le. Ezeket a preparátumokat Nomarski (DIC) mikroszkóppal vizsgáltuk és fotókkal illetve rajztükör segítségével készített rajzokkal dokumentáltunk. Műgyantába ágyazott mikorrhizákból hossz- és keresztmetszeteket készítettünk, melyeken fáziskontraszt mikroszkóppal vizsgáltuk a jelentősebb anatómiai jellemzőket.

2.3.3. Gyökérkapcsolatok részletes fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatai

Az *in vitro* kísérletekből származó növények és a *Botrychium virginianum* sporofiton kunfehértói állományában gyűjtött gyökereit Sörensen-pufferben (pH 7,2) készült 2%-os glutár-aldehidben vákuum alatt fixáltuk, majd 4 °C-on tároltuk őket. A mintákat ezután hatszor 10 percig mostuk ugyanebben a pufferben, majd ozmium-tetroxidban (1% OsO₄ pH 7,2-es Sörensen pufferben, 1 óra) utófixáltuk. Felszálló acetonsoros dehidratálás után Spurr-féle ERL-be (1969) ágyaztuk be őket. Az infiltráció hat lépésen keresztül történt: ERL-aceton 1:2 arányú keverékben egy éjszakán keresztül 4 °C-on, 1:1 és 2:1 arányúban 30-30 percig, ezután kétszer 30 percig, majd egy éjszakán keresztül tiszta ERL-ben. A fénymikroszkópos vizsgálatokhoz félvékony (0.5-0.8 µm) hosszmetsetek készültek, melyeket neofukszin-kristályibolyával festettünk (Morgenstern 1969) és Entellanban fedtünk le. A TEM vizsgálatokhoz ultravékony (60-75 nm)

hosszmetszetek készültek, melyeket Formvarral fedett réz-gridekre vittünk, majd uranil-acetáttal (1%, 1 óra) és ólom citráttal (2%, 12 perc) festettünk. A vizsgálatokhoz LEO 906-os TEM készüléket használtunk.

2.4. Gomba-növény *in vitro* gyökérekölcsönhatások kísérletei

2.4.1. A micélium és a növények előkészítése

A *Terfezia terfezioides* törzset Kunfehértó mellett 1999-ben gyűjtött termőtestekből izoláltuk. A törzset módosított MMN táptalajon (Marx 1969) tartottuk fenn (50 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 500 mg/L K_2HPO_4 , 150 mg/L $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$, 50 mg/L $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, 25 mg/L NaCl, 20 mg/L FeEDTA, 10 g/L glükóz, 3 g/L maláta, 10 g/L agar, 2 ml/L Wickerham (1951) féle vitamin keverék, streptomycin, pH 8 autoklávozás előtt) 25 °C-on, sötétben.

A *Helianthemum ovatum* magjait 1999 őszén, a Fülöpháza melletti homokgyepeken gyűjtöttük. A *Robinia pseudo-acacia* magokat 2000 őszén, a szegedi Fűvészkertben gyűjtöttük. A magokat 23 °C-on kiszárítottuk, majd szobahőmérsékleten sötétben tároltuk őket felhasználásukig.

A növények magjainak felszín-sterilizálása 33%-os H_2O_2 -ban történt (15 perc), ezután háromszor negyven percig mostuk őket steril csapvízben. Miután felszínüket steril tűvel megsértettük, steril csapvízzel átítatott steril papírvattára kerültek Petri-csészékbe. Ezeket 12 óra sötét után az alábbiakban jellemzett fénykamrában tartottuk.

2.4.2. Kísérletek

Az interakciók vizsgálatához öt különböző foszfát-koncentrációt használtunk, 12.5, 25, 50, 100 és 200%-át a fenti MMN táptalaj foszfátsóinak mennyiségéből (31.25, 62.5, 125, 250, 500 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ és 62.5, 125, 250, 500, 1000 mg/L K_2HPO_4 ; összesen 0.6, 1.2, 2.4, 4.8, 9.6 mM PO_4^{3-}). A többi paramétert változatlanul hagytuk. A gomba micéliumokat néhány nappal a növények ráhelyezése előtt a táptalajra tettük.

A magok kicsírázása után a jól fejlett növényeket a táptalajra helyeztük, úgy, hogy gyökerüket a megindult micélium friss részén keresztül húzott sekély árokba illesztettük. A *Robinia pseudo-acacia* esetében a táptalaj felső harmadát kivágtuk, hogy elférjenek a

fejlődő levelek. Minden foszfátkoncentrációnál beállítottunk kontrollt is, mind a gombából, mind a növényekből. A növényes Petri-csészéket fénykamrában tartottuk, 12-12 órás fény-sötét periódus mellett (32 és 22 °C), a megvilágítás kevert spektrumú fényvel történt ($130 \mu\text{M}$ foton m^2s^{-1}). Ilyen körülmények mellett a növényeket 28-32 napig hagytuk fejlődni.

2.5. Molekuláris vizsgálatok

2.5.1. DNS kivonás, PCR körülmények, RFLP, szekvenálás

A molekuláris vizsgálatokhoz a mikorrhizamintákat begyűjtésük után CTAB pufferben (2% CTAB, 20mM EDTA pH 8, 100 mM Tris-HCl pH 9 és 1.4 mM NaCl) tároltuk. A *Terfezia terfezioides* ITS vizsgálataihoz a fülöpházi területen egy időpontban gyűjtött 19 kiszáritott termőtestet, az olasz minta esetén herbárium anyagot használtunk.

A DNS kivonást Gardes és mtsai. (1991) szerint végeztük kisebb módosításokkal. A mintákat 400 μl CTAB pufferben Eppendorf csövekben kevés sterilizált kvarchomok mellett üvegtörő segítségével dörzsöltük szét. A homogenizált anyagot 65°C-on 45 percig inkubáltuk, ezután kétszer tisztítottuk egy térfogatnyi kloroformban, minden tisztítás után 10 percig centrifugáltuk 12000 g-n. A tiszta felülúszóban oldott DNS-t két térfogat abszolút etanollal csaptuk ki -20°C-on, ezután 30 percig centrifugáltuk 12000 g-n, majd kétszer mostuk 70%-os etanollal. A kiszáritott peletet 30-70 μl steril milli-Q vízben vettük fel.

A PCR amplifikációt ITS1F és ITS4 primerpárral végeztük, követve Gardes és Bruns (1993) leírását kisebb módosításokkal. A reakcióelegy a templát anyagon kívül 0.1 térfogat 10 x PCR puffert (Zenon), 200 μM dATP-t, dCTP-t, dGTP-t és dTTP-t (Pharmacia), 2.5 mM MgCl_2 -ot, 0.5 μM mindkét primerből és 0.5 U Taq DNA polimerázt (Zenon) tartalmazott.

A reakcióhoz PTC-100 DNA thermocycler (MJ Research) készüléket használtunk a következő programmal: 3 perc denaturáció 93 °C-on, ezután 35 ciklus 30 másodperc denaturáció 93 °C-on, 30 másodperc „annealing” 51-55 °C-on (mintától függően, ahogy optimális volt), 90 másodperc extenzió 72 °C-on. A ciklusok után 10 perc végső extenzió következett 72 °C-on.

Az RFLP vizsgálatokhoz *CfoI*, *EcoRI* *HinfI* és *XhoI* restriktációs enzimeket (Kramer Biotech) használtunk, követve a gyártó leírását. A termékeket 1.7%-os, etídium-bromidot tartalmazó agaróz gélen, TAE pufferben futtatuk.

A DNS szekvenáláshoz a mintákat gélből visszaizolálva tisztítottuk, ezután a „cycle” szekvenáláshoz ABI PRISM BigDye Terminator Kit-et (Perkin Elmer) használtunk, a szekvenálás ABI PRISM 310 szekvenáló segítségével történt.

2.5.2. Szekvenciák kiértékelése, filogenetikai számítások

A szekvenciák kromatogramjait manuálisan ellenőriztük. A szekvenciákat az NCBI Blast (Altschul és mtsai. 1990) keresőjében vizsgáltuk (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Egyes számításokhoz a génbankba elhelyezett szekvenciákat is felhasználtunk. A filogenetikai számításokhoz a szekvenciákat ClustalX programmal (Thompson és mtsai. 1997) illesztettük az alapbeállításokon nem változtatva, majd egyes manuális korrekciókhoz a ProSeq 2.7 programot (Filatov 2001) is igénybe vettük. A filogenetikai számításokhoz a PHYLIP 3.57c programcsomagot használtuk (Felsenstein 1989, 1993). Az illesztésekből genetikai távolságot számítottunk a DNADIST programmal (minden esetben Kimura 2 paraméteres indexét és 2-es tranzíció/ tranzverzió arányt használva), majd ezen értékeket a Neighbor-Joining módszerrel a NEIGHBOR programmal elemeztük. A Maximum-likelihood elemzésekhez a DNAML programot használtuk az alapbeállításokkal, randomizált szekvencia input sorrenddel. A parszimónia elemzésekhez a DNAPARS programot alapértékekkel.

Az elágazások statisztikai vizsgálatához bootstrap módszert alkalmaztunk a SEQBOOT program segítségével, 1000 ismétléssel. Az adott elemzéssel (ML, parszimónia, NJ) kapott fákból konszenzus fát számítottunk a CONSENSE program segítségével.

A készült fákat a TreeView 1.6.6 programmal (Page 1996) jelenítettük meg, és tettük formázhatóvá különböző szerkesztőprogramok számára.

3. Eredmények

3.1. A kunfehértói területen végzett vizsgálatok eredményei

3.1.1. Státuszvizsgálatok és a *Terfezia terfezioides* potenciális partnerfajai

A kunfehértói területen 49 növényfajnak készült értékelhető gyökérpreparátuma, ezek endogén gombastruktúráinak részletes jellemzését végeztük el (3. táblázat).

A vizsgált fajok 78%-át tekintettük mikorrhizálnak. 11 növényfaj esetében nem találtunk a mintákban egyértelműen mikorrhizákra utaló struktúrákat, ezek közül 7 faj tartozott a Brassicaceae (2 faj), Caryophyllaceae (4 faj) és Chenopodiaceae (1 faj) családokba (3. táblázat).

37 faj bizonyult endomikorrhizálnak. A kolonizáció kiterjedtsége szempontjából 11%-uk 2-es osztályba, 28%-uk a 3-as osztályba, 31%-uk a 4-es osztályba és 29%-uk az 5-ös osztályba tartozott. 1-es osztályba tartozó kiterjedtséget nem találtunk. Vezikulumokat az endomikorrhizált fajok 86%-ában találtunk, 70%-uk tartalmazott arbuszkulumokat és 89%-uk hifahurkokat. (3. táblázat).

Öt növényfaj gyökerein találtunk ektomikorrhizát, ezek közül egy esetben fordult elő, hogy csak ektomikorrhizája volt a növénynek (*Quercus robur*) míg négy növénynél (*Morus alba*, *Crataegus monogyna*, *Prunus spinosa* and *Populus x canescens*) mind ekto- mind endomikorrhizák megfigyelhetőek voltak (3. táblázat).

A növények gyökereinek 80%-ában megfigyelhetőek voltak szeptált endogén gomba-képletek, és 52% gyökereiben figyeltünk meg mikroszklerocium szerű struktúrákat.

12 növényfajt a gyökereiben található endogén struktúrák alapján, mint a *Terfezia terfezioides* potenciális mikorrhiza partnereit jelöltük meg (3. táblázat)

3.1.2. A *Terfezia terfezioides* nrDNS ITS szakaszának vizsgálatai

Az egy időpontban, a kunfehértói erdőben gyűjtött 19 termőtestek ITS szakaszai a négy enzimmel kapott RFLP profiluk tekintetében teljesen homogénnek bizonyultak. Az *EcoRI* nem emésztette a régiót (kb 740 bp), míg a *CfoI*-el való emésztés két (kb 400 és 300 bp), a *HinfI*-el történt emésztés 3 (kb 340, 190, 145 bp) és az *XhoI*-el való emésztés 2 (kb 555 és 185 bp) látható sávot eredményezett. A szekvenálás után az eredményeket

3. táblázat: A kunfehértói erdő 69/B erdőtagjában gyűjtött növények mikorrhizáltsági státusa és egyéb endogén gombastruktúrái. Használt rövidítések: I: kolonizáció intenzitása, E: kolonizáció kiterjedtsége, V: vezikulum, A: arbuszkulum, L: hifahurok, E: ektomikorrhiza, s: széptált endogén hifa, ms: mikroszklerócium szerű struktúra, n: nem-mikorrhizálnak tekintett növény. Vastag betűvel vannak szedve a *Terfezia terfezioides* feltételezett partnernövényei.

Növény	I	E	Struktúrák	Növény	I	E	Struktúrák
Apiaceae				Liliaceae			
<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) Hoffm.	B	4	L+s	<i>Polygonatum latifolium</i> (Jacq.) Desf.	B	4	V,A,L+s,ms
Asteraceae				<i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.) Druce	B	4	V,A,L
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	B	3	A,L+s	Moraceae			
<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronqu.	B	3	V,A,L+s,ms	<i>Morus alba</i> L.	C	4	V,A,L,E+s,ms
<i>Solidago gigantea</i> Ait.	B	2	V,L+s,ms	Oleaceae			
<i>Taraxacum officinale</i> Weber	B	5	V,L+s	<i>Ligustrum vulgare</i> L.	B	3	V
Berberidaceae				Ophioglossaceae			
<i>Berberis vulgaris</i> L.	B	3	V,A,L	<i>Botrychium virginianum</i> (L.) Sw.	B	3	V,L+s
Brassicaceae				Papaveraceae			
<i>Alliaria petiolata</i> (M. B.) Cavara et Grande	n			<i>Chelidonium majus</i> L.	n		s,ms
<i>Thlaspi perfoliatum</i> L.	n			Poaceae			
Cannabaceae				<i>Brachypodium sylvaticum</i> (Huds.) R. et Sch.	B	4	V,A,L
<i>Cannabis sativa</i> L.	C	5	V,A,L+s,ms	<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.	C	5	V,A,L+s
Caprifoliaceae				<i>Setaria pumila</i> (Poir.) R. et Sch.	C	5	A,L+s,ms
<i>Sambucus nigra</i> L.	B	4	V,A,L+s	Polygonaceae			
Caryophyllaceae				<i>Fallopia dumetorum</i> (L.) Holub	B	2	V,A
<i>Cucubalus baccifer</i> L.	n			Rhamnaceae			
<i>Silene latifolia</i> Poir. *	n		s,ms	<i>Rhamnus catharticus</i> L.	n		
<i>Saponaria officinalis</i> L.	n		s,ms	Rosaceae			
<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	n		s,ms	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	B	5	V,A,L,E+s
Celastraceae				<i>Geum urbanum</i> L.	B	3	V,A+s
<i>Euonymus europaea</i> L.	B	3	L+s	<i>Prunus padus</i> L.	C	4	V,A,L+s,ms
Chenopodiaceae				<i>Prunus spinosa</i> L.	C	5	L,E+s,ms
<i>Chenopodium album</i> L.	n		s,ms	<i>Rubus caesius</i> L.	C	5	V,L+s
Crassulaceae				Rubiaceae			
<i>Sedum telephium</i> L. **			V	<i>Galium aparine</i> L.	C	4	V,A,L+s
Fabaceae				Salicaceae			
<i>Robinia pseudo-acacia</i> L.	B	2	V,A,L+s,ms	<i>Populus x canescens</i> (Ait.) Sm. ***			V,A,L,E+s,ms
Fagaceae				Scrophulariaceae			
<i>Quercus robur</i> L.			E+s,ms	<i>Veronica hederifolia</i> L.	n		s,ms
Geraniaceae				Simaroubaceae			
<i>Geranium robertianum</i> L.	C	5	V,A,L+s,ms	<i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	B	4	V,A,L+s,ms
Lamiaceae				Ulmaceae			
<i>Ballota nigra</i> L.	B	3	V,A+s,ms	<i>Celtis occidentalis</i> L.	B	2	V,A,L+s
<i>Clinopodium vulgare</i> L.	B	3	A,L+s	<i>Ulmus minor</i> Mill.	C	5	V,A,L+s,ms
<i>Glechoma hirsuta</i> W. et K.	C	5	V,L+s,ms	Urticaceae			
<i>Salvia glutinosa</i> L.	B	3	V,L+s,ms	<i>Urtica dioica</i> L.	n		s,ms
Liliaceae				Violaceae			
<i>Muscari racemosum</i> (L.) Mill.	C	5	V,A,L+s	<i>Viola odorata</i> L.	C	4	V,L+s,ms
<i>Ornithogalum umbellatum</i> L.	C	4	V,L+s,ms				

* ssp. *alba* (Mill.) Greuter et Burdet

** ssp. *maximum* (L.) Crock.

*** a mennyiségi jellemzők nem voltak becsülhetőek

ellenőriztük, és figyelembe véve a nem detektálható kis fragmenteket, illetve a primereket, a kapott eredmények elfogadhatónak bizonyultak.

Az Olaszországból származó minta és a kunfehértói 19 termőtestből véletlenszerűen kiválasztott 3 minta szekvenciája teljesen azonos volt (4. táblázat). Ezek a

4. táblázat: A vizsgált *Terfezia terfezioides* ITS szekvenciák. Használt rövidítések: e: szárított termőtest, m: micélium kultúra, Gy. Ssz.: gyűjteményi sorszám, Sz. Típus: szekvencia típusa.

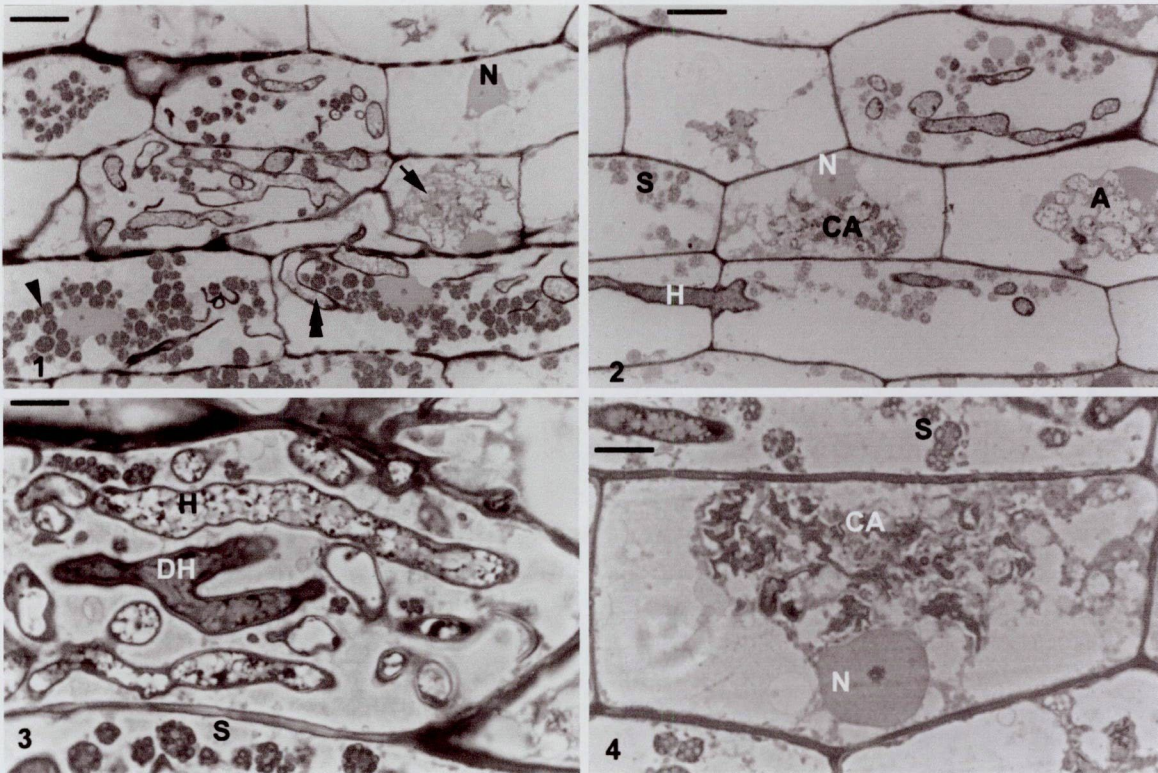
Gyűjtési hely	Gyűjtési idő	Minta típus	Gy. Ssz.	GenBank	Sz. Típus
Ravenna	1995. 12. 02.	e	KMG 10124	AJ305170	B
Kunfehértó	1999. 08. 30.	e	KMG 10125-4	AJ305169	B
Kunfehértó	1999. 08. 30.	e	KMG 10125-9	AJ306555	B
Kunfehértó	1999. 08. 30.	e	KMG 10125-12	AJ306556	B
Órbottyán *	1991. 09. 28.	m	Bratek2196	AJ272442	A
Órbottyán *	1991. 09. 29.	m	Bratek2196	AJ272444	A
Gyál *	1991. 09. 10.	m	Bratek2197	AJ272443	A
Sülysáp *	1996. 11. 13.	m	Bratek1131	AJ272445	B
Mogyoród *	1998. 10. 15.	m	Bratek1873	AJ305045	A

* más területekről származó minták

szekvenciák csupán két bázisban térnek el más magyarországi lelőhelyekről származó *Terfezia terfezioides* termőtestekből kapott ITS szekvenciáktól, de más területen is előfordult teljesen identikus ITS szekvencia (4. táblázat). A lelőhelyek adataiból látszik, hogy a két szekvenciatípus földrajzilag nem különül el, igaz, ekkora különbség mellett az összes szekvencia azonosnak tekinthető.

3.1.3. A *Botrychium virginianum* arbuskuláris mikorrhizájának anatómiája

A *Botrychium virginianum* gyökerei 1-3 mm vastagságúak, ritkán elágazóak, gyökérszőrök nem figyelhetőek meg rajtuk. Körülbelül a vizsgált gyökerek felét kolonizálták hifák. A gomba kolonizáció a gyökér kérgének kívülről a negyedik-hatodik sejtrétegére lokalizálódik (1. 2. ábra). A vékony gyökerekben és a gyökércsúcsi régiókban nem figyelhető meg kolonizáció. A legtöbb kéregsejtre jellemző a keményítő szemcsék jelenléte (1. 2. ábra), egyes sejtekben nagy mennyiségben is felhalmozódik (1. ábra). A szeptálatlan hifák hurkokat formálnak a kéregsejtekben (1. 3. ábra), elágazásuk hegyes szögű és dichotomikus (1. 3. ábra). Élő, a degradáció különböző szintjén álló és teljesen összeesett hifák egy sejtben együtt is előfordulnak (1. ábra). A gazda sejtfalának áttörésekor a hifák nem változtatják meg átmérőjüket (2. ábra). Egyes hifák a hurkokból leágaznak, és a szomszédos sejtekbe átjutva arbuskulumot képeznek (2. ábra). Az arbuskulumok végződése szélesek és lebeny-szerűek. Degradálódott arbuskulumok szintén előfordulnak, néha az élőkkel egy sejtben (1. 2. 4. ábra). Az arbuskulumok által



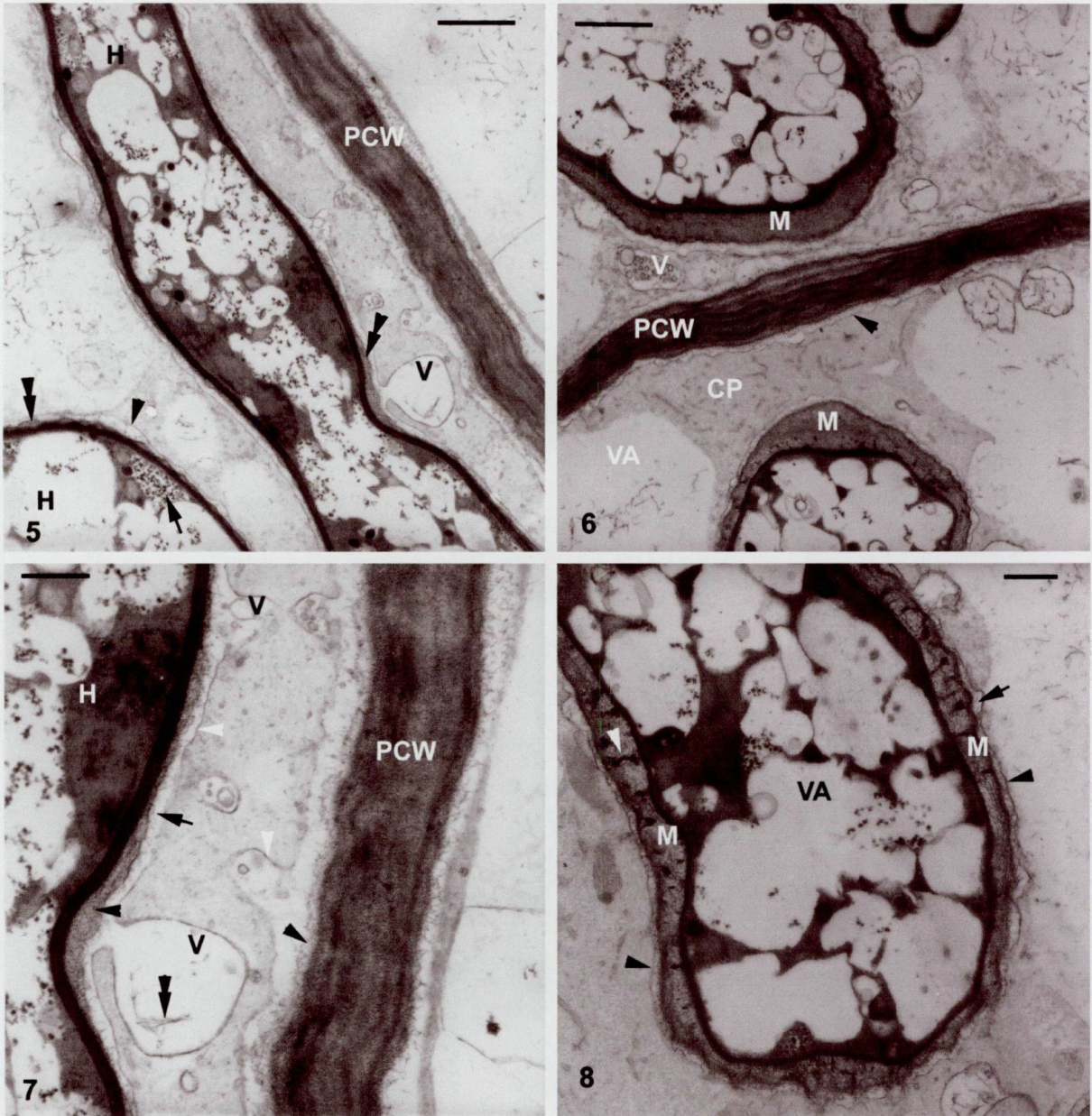
1.-4. ábra: A *Botrychium virginianum* mikorrhizájának fénymikroszkópos képei. **1. ábra:** Kolonizált és kolonizálatlan gyökér kéregsejtek. Nyíl: keményítő. Kettős nyíl: hifa-hurok. Nyíl: élő és összeesett arbuszkulum. Bár: 20 μm . **2. ábra:** Kolonizált kéregsejtek élő és összeesett arbuszkulumokkal és áttörő hifával. Bár: 20 μm . **3. ábra:** Hurkokat formáló élő és degradálódott hifák által kolonizált kéregsejt. DH: degradálódott hifa. Bár: 8 μm . **4. ábra:** Összeesett arbuszkulum egy kéregsejtben, a szomszéd sejtben hurkokat képző hifa és keményítő. Bár: 8 μm .

Az ábrákon gyakran használt rövidítések: CA: összeesett arbuszkulum, H: hifa, M: mátrix anyag, N: sejtmag, PCW: növényi sejtfal, S: keményítő, V: vezikulum, VA: vakuólum.

kolonizált gazdasejtek sejtmagjai gyakran a sejtfalak mellett figyelhetőek meg (2. ábra). Azokban a gazdasejtben, melyeket hifa hurkok kolonizáltak, a keményítő mennyisége nem különbözik a kolonizálatlan sejtekben lévőétől. Az arbuszkulumok által kolonizált sejtekből a keményítőszemcsék hiányoznak, akkor is, ha az arbuszkulum már összeesett (4. ábra).

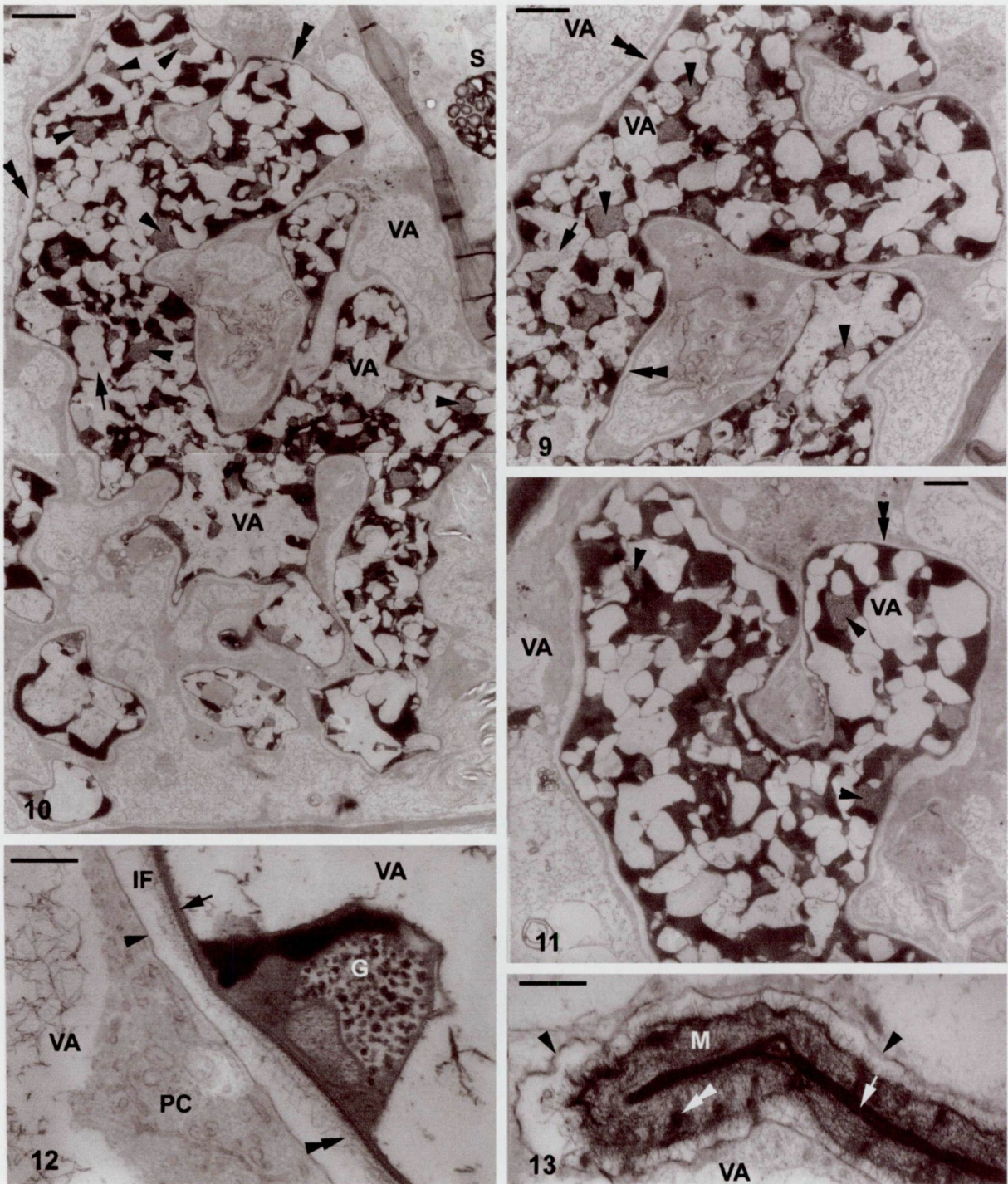
A sokmagvú, hurkokat formáló hifák vastagsága 3 és 6 μm között változik, ezen hifák falvastagsága 70 és 100 nm közötti. A hifák vakuolizáltak, néhány helyen glükogén partikulumok is megfigyelhetőek bennük (5. ábra). Polifoszfát-szerű granulumok szintén előfordultak. A hurkokat formáló hifák fala filamentózus sejtfal anyaggal borított, mely a gazdától származik (6. 7. 8. ábra). Ennek a szálak szerkezetű anyagnak a vastagsága 30 és 300 nm között változik (6. 7. 8. ábra). Az anyagot a gazdasejtek vezikulumai szállítják a





5.-8. ábra: A hurkot képző hifák elektron-mikroszkópos felvételei a *Botrychium virginianum* gyökeréből. **5. ábra:** Szeptátlan hifa egy kéregsejtben. Nyílvég: plazmolemma. Kettős nyílvég: mátrix anyag. Nyíl: glükogén partikulum. Bár: 1 μ m. **6. ábra:** Egy penetrációs zóna áttekintő képe. CP: citoplazma. Nyílvég: plazmolemma. Bár: 3 μ m. **7. ábra:** Hifa-hurok és növényi sejt határfelülete vezikulumokkal. Nyílvég: mátrix anyag. Kettős nyílvég: filamentózus tartalma a vezikulumnak. Nyíl: határfelület. Bár: 500 nm. **8. ábra:** Idősebb hifa-hurok. Fekete nyílvég: plazmolemma. Fehér nyílvég: fenolikus-anyag szerű dúsulás a mátrix anyagban. Nyíl: határfelület. Bár: 500 nm.

hifák falára (5. 7. ábra). A hifákat fedő anyag és a gazdasejtek falán található réteg azonos megjelenésű (6. 7. ábra) és folytonos is azokon a helyeket, ahol a hifák áttörik a növény sejtfalát. A hifákat borító filamentózus anyag vastag helyein nagy elektron-elnyelésű, valószínűleg fenolikus anyagok feldúsulásai is előfordulnak (8. ábra). A gyökérsejtek vakuolarizáltak, a vakuolumok kevés filamentózus anyagot is tartalmaznak, a citoplazmában megfigyelhetők a sejtorganelumok (6. 7. ábra). A hifák penetrációs



9.-13. ábra: A *Botrychium virginianum* gyökerében lévő arbuskulumok elektron-mikroszkópos felvételei. 9. ábra: Egy arbuskulum elágazásai. Nyílvég: glükogén szemcse. Kettős nyílvég: határfelület. Bár: 2 μ m. 10. ábra: Egy teljes arbuskulum áttekintő képe. Nyílvég: glükogén szemcse. Kettős nyílvég: határfelület. Nyíl: sejtmag. Bár: 3 μ m. 11. ábra: Dichotómikusan elágazó, lebeny-szerű végződése egy arbuskulumnak. Nyílvég: glükogén szemcse. Kettős nyílvég: határfelület. Bár: 2 μ m. 12. ábra: Arbuskulum körüli határfelület. G: glükogén. IF: határfelület. PC: növénysejt. Nyílvég: plazmolemma. Kettős nyílvég: mátrix anyag. Nyíl: gombasejt fala. Bár: 250 nm. 13. ábra: Vastag mátrix anyaggal borított összeesett arbuskulum. Nyílvég: plazmolemma. Kettős nyílvég: fenolikus anyagokra emlékeztető tartalma a mátrix anyagnak. Nyíl: az összeesett arbuskulumot képző hifa. Bár: 250 nm.

helyein a gazda sejtfalának vastagsága megnő, melynek az oka a fal lamináris rétegeinek divergálódása (6. ábra).

Az arbuszkulumok ritkásan ágaznak el, végződéseik szélesek (9. 10. 11. ábra). Habár némely metszeten az elágazódások elkeskenyedni látszanak a végek előtt, a sorozatmetszetek vizsgálatával tisztázódott, hogy ez csak a metszés következménye (9. 10. 11. ábra). Az elágazódó hifák vastagsága 4.5-5.5 μm (9. 10. 11. ábra). Az arbuszkulumokat formáló hifák vakuolarizáltak, néha filamentózus vakuólum tartalommal, glükogén raktározások gyakran előfordulnak (9. 10. 11. ábra). A hifák sejtfalai 20-40 nm vastagok, laza filamentózus anyaggal borítottak (12. ábra). Ennek a filamentózus rétegnek a vastagsága élő arbuszkulumokon 70-100 nm, összeesett arbuszkulumokon a vastagságuk nő, mintegy 100-150 nm lesz. Ilyen részeken sűrűbb, valószínűleg fenolikus anyagokat tartalmazó részek is megfigyelhetők (13. ábra). Az arbuszkulumokat tartalmazó gazdasejtek vakuolarizáltak, a vakuolumokban filamentózus anyagokkal (9. 10. 11. ábra). Sejtplazmájuk organelumokban – úgy mint plasztisz, mitokondrium, endoplazmatikus retikulum – gazdag (9. 10. 11. ábra). Az összeesett arbuszkulumokat tartalmazó sejtek hasonló tartalmú vakuolumokkal és sejtorganelumokat tartalmazó citoplazmával bírnak.

3.2. A fülöpházi területen végzett vizsgálatok eredményei

3.2.1. Státuszvizsgálatok

A fülöpházi homokterületeken a munkák során 29 különböző családba tartozó 89 növényfaj egyedeinek gyökérmintáit vizsgáltuk és jellemeztük (5. táblázat).

29 növényfaj gyökérmintáiban nem találtunk mikorrhizákra jellemző struktúrákat. Három esetben - úgymint a *Minuartia verna* ssp. *collina*, *Silene otites* és *Sedum hillebrandtii* - csak vezikulumokat figyeltünk meg, arbuszkulumok és hifa-hurkok nélkül. A 29 növényfaj 62%-a tartozik a Brassicaceae (5 faj), Caryophyllaceae (9 faj) és Chenopodiaceae (4 faj) családokba (5. táblázat). A nem-mikorrhizált fajok közül 18 gyökerében voltak endogén szeptált hifák, ezeknél 14 faj esetében mikroszklerócium szerű struktúrákat is megfigyeltünk, és 6 esetben spóra-szerű képletek is előfordultak (5. táblázat). Néhány faj esetében - pl. *Alyssum tortuosum*, *Erophila verna* és néhány Caryophyllaceae családba tartozó faj - ezen endogén struktúrák nagy intenzitású

5. táblázat: A fülöpházi terület növényeinek mikorrhizái és egyéb gyökereken előforduló gomba struktúrái. Használt rövidítések: I: Kolonizáció intenzitása, E: kolonizáció kiterjedtsége, V: vezikulum, A: arbuszkulum, L: hifahurok, E: ektomikorrhiza, s: szeptált endogén hifa, ms: mikroszklerócium-szerű struktúra, sp: spóra szerű képlet, Ex: exogén hifák, a: széles, szeptált hifa, es: szeptált hifa, v: szemölcsös, széles, szeptált hifa, n: nem-mikorrhizáltnak tekintett faj.

Növény	I	E	Struktúrák	Ex.	Növény	I	E	Struktúrák	Ex.
Aceraceae					Dipsacaceae				
<i>Acer negundo</i> L.	C	5	V,A,E+s,ms	es	<i>Scabiosa ochroleuca</i> L.	B	4	V,L+s,ms	es
Apiaceae					Euphorbiaceae				
<i>Pimpinella saxifraga</i> L.	C	4	V,A,L+s,ms		<i>Euphorbia cyparissias</i> L.		n		
Asclepiadaceae					<i>Euphorbia seguieriana</i> Necker	B	4	V,A,L	
<i>Asclepias syriaca</i> L.	C	3	V,A	es	Fabaceae				
Asteraceae					<i>Astragalus onobrichis</i> L.	C	5	V,A,L+s,ms	es
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	B	4	V,A,L		<i>Astragalus varius</i> Gmel.	C	5	V,A+s	es
<i>Anthemis ruthenica</i> M. B.	C	4	V,A,L+s	es	<i>Cytisus ratisbonensis</i> Schaeff.	A	2	V,A,L+s	
<i>Artemisia campestris</i> L.	C	5	V,A,L+s		<i>Medicago minima</i> (L.) Grufbg.	C	5	V,A,L+s,ms	a,es
<i>Centaurea arenaria</i> M. B. ex Willd.	C	4	V,A,L+s,ms		<i>Ononis spinosa</i> L.	C	5	V,A,L+s	
<i>Chondrilla juncea</i> L.	B	4	A,L+s		Lamiaceae				
<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronqu.	C	4	V,A,L+s		<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	C	4	V,A,L+s,ms,s	a,es
<i>Crepis rheoadifolia</i> M. B.	C	5	V,A,L+s,ms	a,es	<i>Thymus odoratissimus</i> Mill.	C	4	V,A+s	es
<i>Echinops ruthenicus</i> (Fisch.) M. B.	C	5	V,L		Liliaceae				
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench	C	4	V,A,L+s		<i>Asparagus officinalis</i> L.	C	5	V,A,L	
<i>Odontites lutea</i> (L.) Clairv.	C	3	L+s	es	<i>Muscari comosum</i> (L.) Mill.	B	3	V,A,L+s,ms	
<i>Senecio vernalis</i> W. et K.		n		a,es	Onagraceae				
<i>Solidago virga-aurea</i> L.	C	4	V,A,L+s	a,es	<i>Oenothera biennis</i> L.	B	3	A+s,ms,sp	
<i>Tragopogon floccosus</i> W. et K.	B	3	V,A,L		Plantaginaceae				
Berberidaceae					<i>Plantago arenaria</i> W. et K.	B	3	V,A,L+s	
<i>Berberis vulgaris</i> L.	C	4	V,A,L+s,ms	es	Poaceae				
Boraginaceae					<i>Bothriochloa ischaemum</i> (L.) Keng	B	3	V,L+s,ms	a,es
<i>Alkanna tinctoria</i> (L.) Tausch	C	5	V,A,L		<i>Bromus squarrosus</i> L.	C	4	V,A+s,ms	es
<i>Buglossoides arvensis</i> (L.) I. M. Johnst.	B	2	A+s	es	<i>Bromus tectorum</i> L.		n		es
<i>Myosotis stricta</i> Link		n		a,es	<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth	C	4	V,A,L+s	es,a
<i>Onosma arenaria</i> W. et K.	C	5	V,A,L+s		<i>Cenchrus incertus</i> M. A. Curtis		n	s,ms	es
Brassicaceae					<i>Cleistogenes serotina</i> (L.) Keng	C	5	V,A,L+s,ms	a,es
<i>Alyssum tortuosum</i> W. et K.		n	s,ms	es,a	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	C	4	V,A,L	
<i>Alyssum turkestanicum</i> Regel et Schmahl.		n			<i>Festuca vaginata</i> W. et K.	C	5	V,A,L+s	
<i>Erophila verna</i> (L.) Chev.		n	s,ms,sp		<i>Koeleria glauca</i> (Schkuhr) DC.	B	3	V,A,L+s,ms	es
<i>Erysimum canum</i> (Pill.) et Mitterp.		n	s	es	<i>Poa angustifolia</i> L.	C	4	V,A,L	
<i>Sisymbrium orientale</i> Torn.		n		es	<i>Poa bulbosa</i> L.		n	s,ms,sp	es
Caryophyllaceae					<i>Secale sylvestre</i> Host	B	4	V,A,L+s,ms	a,es
<i>Arenaria serpyllifolia</i> L.		n	s,ms,sp	es,a	<i>Setaria viridis</i> (L.) P. B.	B	2	A,L+s,ms	es
<i>Cerastium semidecandrum</i> L.		n	s,ms	a,es	<i>Stipa borysthena</i> Klokov	A	2	L	a,es
<i>Dianthus serotinus</i> W. et K.		n	s	a,es	<i>Stipa capillata</i> L.	C	5	V,A,L+s	
<i>Gypsophila fastigiata</i> L. ¹		n	s	a,es	<i>Tragus racemosus</i> (L.) All.	B	2	L+s	
<i>Gypsophila paniculata</i> L.		n		es	Polygonaceae				
<i>Holosteum umbellatum</i> L.		n	s,ms	a,es	<i>Polygonum arenarium</i> W. et K.		n		
<i>Minuartia verna</i> (L.) Hiern. ²		n	V+s,ms	a,es	Rosaceae				
<i>Silene conica</i> L.		n	s,ms,sp	es	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	C	5	V,A,L+s	a,es
<i>Silene otites</i> (L.) Wib.		n	V+s,ms,sp	a,es	<i>Potentilla arenaria</i> Borkh.	B	4	V,L+s	a,es
Chenopodiaceae					Rubiaceae				
<i>Bassia laniflora</i> (S. G. Gmel.) A. J. Scott		n			<i>Galium verum</i> L.	C	5	V,A,L	
<i>Chenopodium album</i> L.	A	1	V,A+s,ms	es	Salicaceae				
<i>Corispermum canescens</i> Kit.		n	s		<i>Populus alba</i> L.	C	5	V,A,L,E	
<i>Corispermum nitidum</i> Kit.		n		es	<i>Salix repens</i> L. ³	C	5	L,E+s,ms	a,es
<i>Salsola kali</i> L.		n			Scrophulariaceae				
Cistaceae					<i>Linaria genistifolia</i> (L.) Mill.	C	4	V,A,L	
<i>Fumana procumbens</i> (Dun.) Gren. et Godr.	B	4	V,A,L,E+s	a,es	<i>Verbascum lychnitis</i> L.	C	5	V,A,L	
<i>Helianthemum ovatum</i> (Viv.) Dun.	C	5	V,A,L,E+s,m	a,es	<i>Veronica praecox</i> All.	B	3	V,A,L+s,ms	a,es
Crassulaceae					Simaroubaceae				
<i>Sedum hillebrandtii</i> Fenzl		n	V+s,ms	a,es	<i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	B	4	V,L+s,ms	es
Cupressaceae					Violaceae				
<i>Juniperus communis</i> L.	C	5	V,A,L	es	<i>Viola kitaibeliana</i> R. et Sch.	B	3	V,A,L+s	a,es
Cyperaceae					Zygophyllaceae				
<i>Carex liparicarpus</i> Gaud.		n	s,ms	es,a	<i>Tribulus terrestris</i> L.		n	s,ms	a,es
<i>Carex stenophylla</i> Wahlbg.		n	s,ms,sp	es,a					
<i>Scirpoides holoschoenus</i> (L.) Soják	C	4	V,A+s	es					

¹ ssp. *arenaria* (W. et K.) Domin; ² ssp. *collina* (Neilr.) Domin; ³ ssp. *rosmarinifolia* (L.) Hartm.

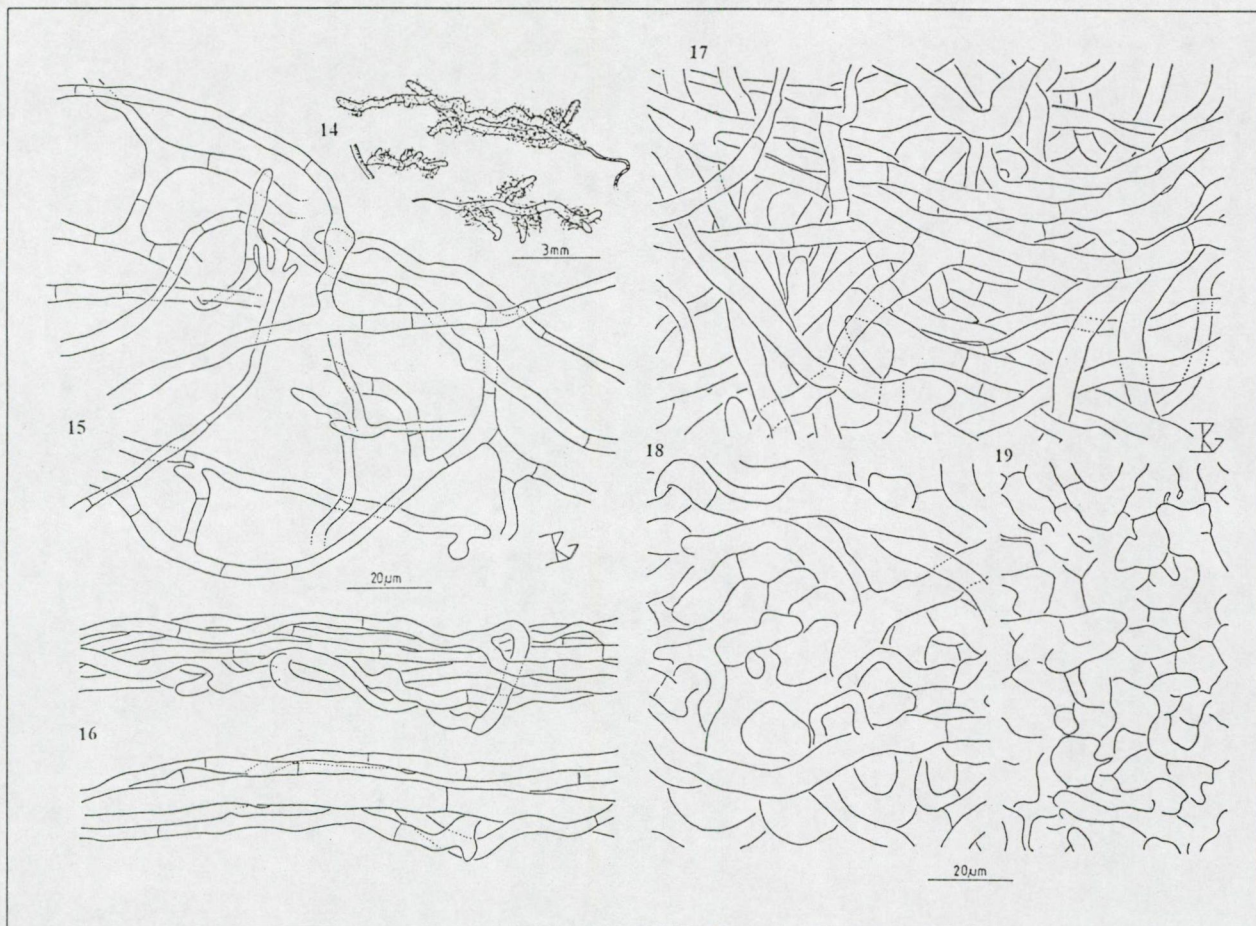
kolonizációja volt megfigyelhető. Exogén szeptált hifa 22 nem-mikorrhizált fajnál fordult elő, 14 faj esetében a gyökereken széles, szeptált hifák, míg 5 faj gyökerein pigmentált, szemölcsös hifák is előfordultak (5. táblázat).

60 növényfaj - a vizsgált fajok 67%-a - gyökerében fordultak elő mikorrhiza struktúrák. A fajok több mint felének a gyökereiben vezikulumok, arbuskulumok és hifhurkok együttesen voltak jelen (5. táblázat). A kolonizáció intenzitása elég magas volt, hiszen 38 C, 19 B és 3 A típust becsültünk. A kolonizáció kiterjedése is általában nagy volt, 78%-a mikorrhizás fajoknak tartozott a 4-es és 5-ös osztályba, számszerint 23 és 21 faj (5. táblázat). Öt faj - *Acer negundo*, *Fumana procumbens*, *Helianthemum ovatum*, *Populus alba* and *Salix repens* ssp. *rosmarinifolia* - gyökerein ektomikorrhiza struktúrák voltak megfigyelhetőek, de mindegyikük gyökerében előfordultak más, endogén mikorrhiza struktúrák is (5. táblázat). A mikorrhizált növények háromnegyedének gyökereiben voltak szeptált endogén hifák a mikorrhizák mellett, ebből 22 faj gyökerében voltak mikroszklerócium-szerű struktúrák, és csupán két fajnál voltak spóra-szerű képletek a gyökerekben (5. táblázat). Hozzávetőlegesen a fajok felének gyökerén voltak exogén szeptált hifák, 17 ezekből széles szeptált hifákkal, melyek közül öt faj esetében voltak szemölcsös, pigmentált hifák ezek között (5. táblázat).

3.2.2. A *Helianthemum ovatum* természetes ektomikorrhizái

A fülöpházi területen a *Helianthemum ovatum* gyökerein talált két különböző mikorrhiza jellemzését végeztük el.

Egyiküket az azonosítatlan mikorrhizák megnevezési szabályai szerint „*Helianthemirhiza hirsuta*” ideiglenes névvel jelöltük. A mikorrhiza világos barnás, egyszerű, vagy monopodiális fésűs elágazási rendszerű (14. ábra). Felszínét a fehér kiágazó hifák szőrössé teszik, néhol vattásan szőrös foltok is előfordulnak. Rhizomorfa szerű képletek ritkán megfigyelhetőek voltak a mikorrhizák körül. A mikorrhiza köpenye nem mutat semmilyen színváltozást kémiai reagensekkel, és sem UV-fény hatására, sem autofluoreszcens vizsgálata nem mutat megfigyelhető reakciót. A köpeny külső felszínét sűrű hifarendszer borítja, melyből a kiágazó hifák indulnak (15. 17. ábra). A kiágazó szeptált hifák rövid nyílt, vagy hosszú, egyszerű szeptált, zárt anasztomózisokkal kapcsolódnak össze; az anasztomózisok gyakoriak a hifák végeinél (15. ábra). A kiágazó hifák könyök-szerű törése gyakori. A köpeny külső rétege plektenchimikus, egyszerű



14.-19. ábra: A „*Helianthemirhiza hirsuta*” morfológiai jellemzői. 14. ábra: A mikorrhiza habitus képe. 15. ábra: Sűrűn elágazó kiágazó-hifák különböző anasztomózisokkal. 16. ábra: Felszíni képe és optikai metszete a rhizomorfa szerű hifakötegeknek. 17. ábra: A köpeny plektenchimatus külső rétege, felszínén a kiágazó hifákkal. 18. ábra: A köpeny középső rétege. 19. ábra: A köpeny belső felszíne. (A 15.-19. ábrákhoz tartoznak a 20 µm-es bárok.)

válaszfalakkal szeptált, csat nélküli széles hifák alkotják, melyek sokkal vastagabbak, mint a kiágazó hifák (17. 18. ábra). A réteg szabálytalan, egyes helyein viszont a hifák gyűrűszerű rendeződése megfigyelhető (A és B típus, Agerer 1991). A köpeny középső rétege szintén differenciálatlan, kompakt, a belső réteg felé a plektenchimatus szerkezet pszeudoparenchimatusba megy át, felismerhető hifás elemekkel (18. 19. ábra). Ezt a réteget is széles hifák alkotják. A mikorrhizához rhizomorfákra emlékeztető hifanyalábok kapcsolódnak, melyeket lazán összekapcsolódott szeptált hifák alkotnak.

A másik azonosítatlan ektomikorrhiza a „*Helianthemirhiza latihypha*” nevet kapta. Nehezen észrevehető, barna színű, leggyakrabban egyszerű elágazási rendszerű ektomikorrhizákat képez. A mikorrhiza felszínét néhol gyengén kiágazó hifák teszik enyhén szőrössé. A mikorrhiza köpenye az összes kémiai reagensre negatívan reagál, és

sem az UV-fénynek, sem az autofluoreszcens vizsgálatnak nincs megfigyelhető hatása. A mikorrhiza köpenye nagyon vékony, szinte lehetetlen belőle köpenypreparátumot készíteni. A köpenynek a külső rétege nem tekinthető kompaktnak, néhol a sűrűn szeptált, csat nélküli hifák között zselatinózusnak tűnő mátrix-anyag figyelhető meg (20. ábra). A hifák nagyon szélesek, plektenchimatikus, differenciálatlan szerkezetű vékony köpenyt



20.-22. ábra: A „*Helianthemirhiza latihypha*” anatómiai jellemzői. 20. ábra: A mikorrhiza felszíne a köpeny külső rétegével. 21. ábra: A köpeny középső rétege. 22. ábra: A köpeny belső rétege. (A 20.-22. ábrához ugyanaz a 20 µm-es bár tartozik)

alkotnak (20. ábra). Egyes helyeken elég vastag ahhoz a köpeny, hogy a belső rétegeiről is képet alkothassunk, mely réteg ezeken a részeken inkább pszeudoparenchimatikus szerkezetet mutat, nagyon széles, nagy sejtekkel (22. ábra). A két réteg között néhol kivehető egy szerkezetében átmeneti középső réteg (21. ábra). Egyértelműen a mikorrhizához tartozó rhizomorfa nem volt megfigyelhető. A kiágazó hifákon, és gyakran a mikorrhizák felszínén egyértelmű volt, hogy idegen hifák is előfordultak. Általában a hifák színtelenek voltak, bár idősebb részeken a hifák sárga, sárgásbarna pigmentációja is megfigyelhető volt.

A mikorrhizák azonosítása céljából a területen gyűjtött termőtestekből és a mikorrhizákból felszaporított ITS RFLP vizsgálatát is elvégeztük, mely kiértékelhető volt.

Az egyértelműen kiderült, hogy egyik bazídiumos termőtesttel sem azonos a két mikorrhiza, és egymástól is különbözik. A morfológiai alapon csak sejtett, öregedéssel együtt járó pigmentációt viszont igazolta, mert két azonosnak tételezett mikorrhiza valóban hasonló RFLP profilt mutatott. A szekvenálás is nehezen használható eredményekre vezetett, mert három minta közül kettő kevert volt. A kromatogramok kézi átvizsgálása és „tisztítása” majd a szekvenciák összehasonlítása és Blast vizsgálata alapján biztosan csak annyit állíthatunk, hogy a két mikorrhiza különbözik, a második típus valóban előfordul pigmentált hifákkal is, továbbá azt, hogy mindkét mikorrhizát az aszkuszos gombák közé tartozó fajok képezik.

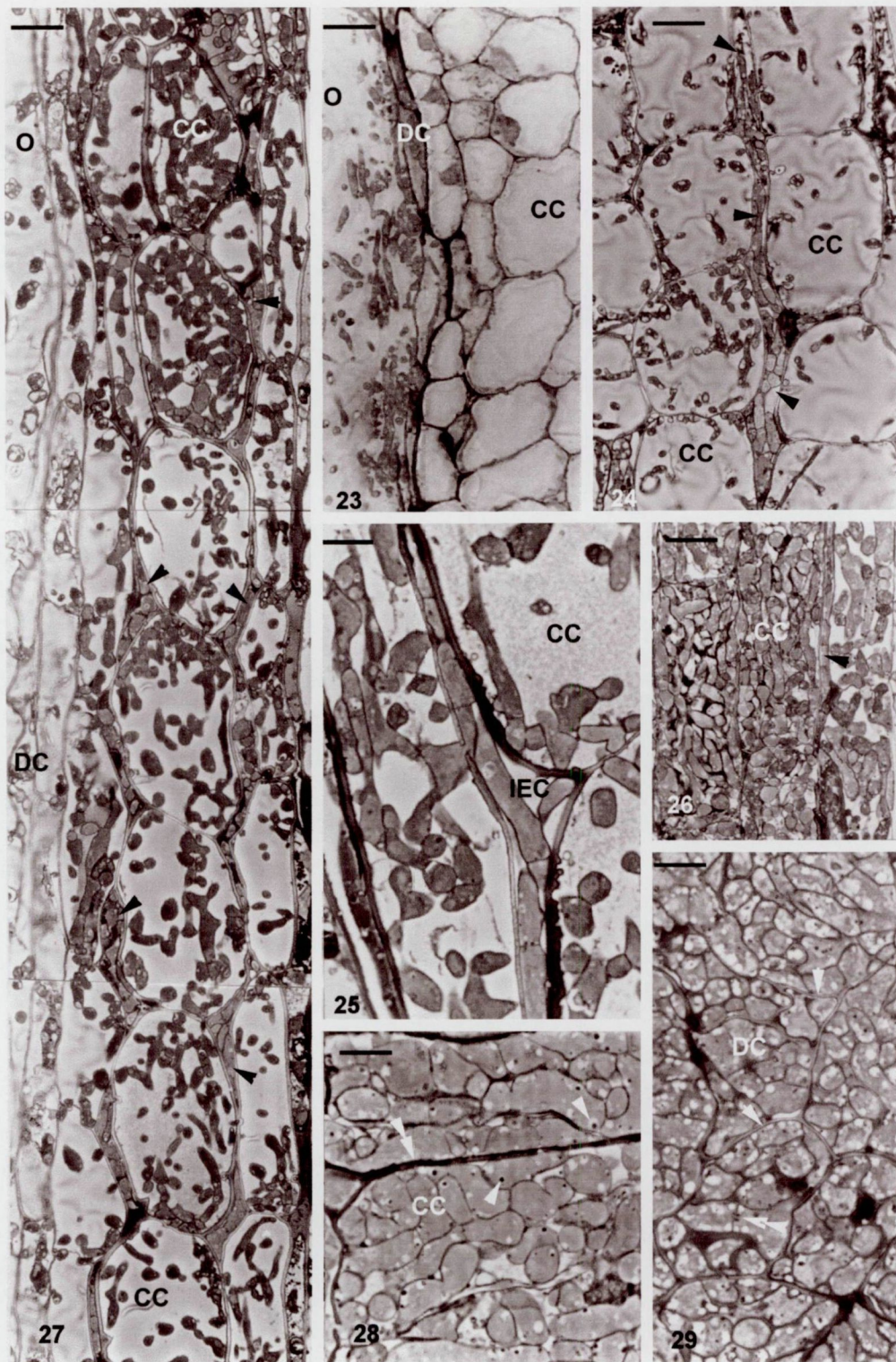
3.3. A *Terfezia terfezioides in vitro* gyökér-interakciói

A 28-32 nap hosszú kísérlet során a növények jól fejlődtek. A *Helianthemum ovatum* növénykéek 2-3 cm magasak voltak, 2-4 cm hosszú, elágazó gyökerekkel, míg a *Robinia pseudo-acacia* fácskák 3-5 cm magasak, 3-6 cm hosszúságú gyökerekkel fixálásukkor. A kontroll és az inokulált növények között nem volt szemmel látható különbség.

A kontroll növények kéregsejtjei éltek, és nem mutattak különbséget az inokulált növények élő kéregsejtjeitől. A kontroll gomba micéliumok szerkezete nem különbözött az inokulált növényeknél a gyökereken kívül megfigyelhető hifáktól. A szeptált hifák vakuolizáltak voltak, lipid-cseppekkel és Woronin-testekkel, ez utóbbiak gyakran rendeződtek a szeptumok környékére. (33. 41. 42. ábra)

A *Helianthemum* gyökereit köpeny-szerű hifatömörülés fedte (23. 27. ábra), ennek sűrűsége enyhén növekedett a foszfátkoncentráció emelkedésével. Ez a micélium-struktúra nem kapcsolódott szorosan a gyökerekhez, gyakran el is vezett a beágyazási procedúra során. Ennek a hifatömegnek a jelenléte és tulajdonsága a *Robinia pseudo-acacia* gyökereinek esetében is ugyanez volt (35. 36. ábra).

A legalacsonyabb foszfát koncentrációnál a *Helianthemum ovatum* gyökereinek kolonizációja nagyon gyenge volt. A hifák kolonizálták a rhizodermiszt és ritkán néhány külső kéregsejtet (23. 31. ábra). A hipodermisz tangenciális fala úgy tűnt, hogy megállította a hifáknak a kéregbe való jutását (23. 30. 31. ábra). A nem kolonizált

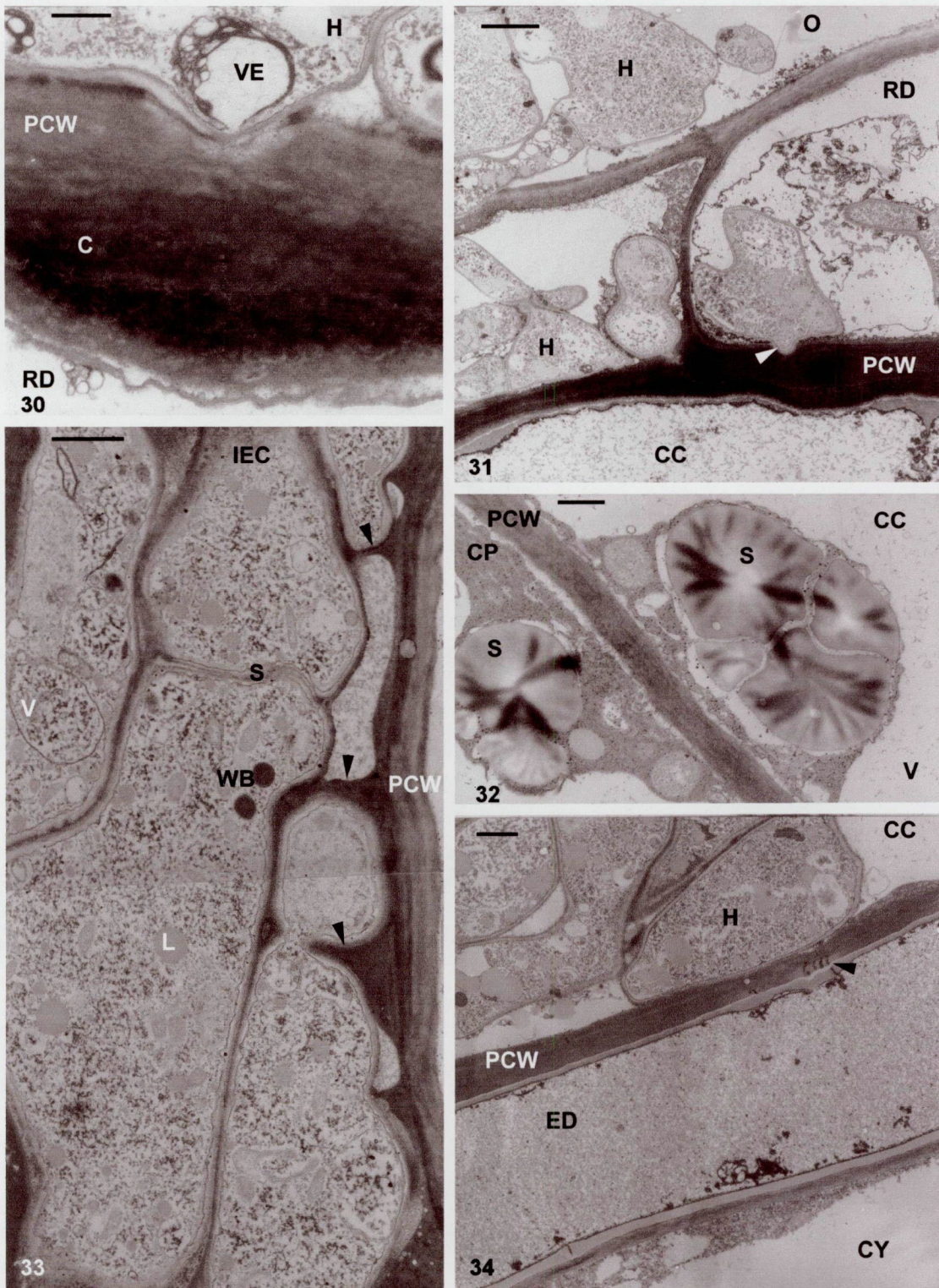


23.-29. ábra: A *Terfezia terfezioides* – *Helianthemum ovatum* *in vitro* interakció fénymikroszkópos képei.

23. ábra: A gyökér hosszmetsete hifákkal 0.6 mM foszfátnál. DC: rhizodermisz. Bár: 20 μ m. **24. ábra:** A kolonizált gyökér kéreg 1.2 mM foszfátnál. Nyílveg: intercelluláris hifa. Bár: 20 μ m. **25. ábra:** Kolonizált kéregsejtek és intercellulárisok 2.4 mM foszfátnál. Bár: 8 μ m. **26. ábra:** Kolonizált kéregsejtek 4.8 mM foszfátnál. Nyílveg: intercelluláris hifák. Bár: 20 μ m. **27. ábra:** Egy kolonizált gyökér hosszmetsete 2.4 mM foszfátnál. Nyílveg: intercelluláris hifák. Bár: 20 μ m. **28. ábra:** Kolonizált kéregsejtek 4.8 mM foszfátnál. Nyílveg: polifoszfát szemcsék, kettős nyílveg: növényi sejtfa. Bár: 8 μ m. **29. ábra:** Kolonizált rhizodermisz sejtek 9.6 mM foszfátnál. Nyílveg: növényi sejtfa, kettős nyílveg: Woronin-testek a sejtum körül. Bár: 8 μ m.

Általánosan használt rövidítések: CC: kéregsejt, CY: központi henger, H: hifa, IEC: intercelluláris tér, L: lipid, O: a gyökéren kívüli rész, PCW: növényi sejtfa, RD: rhizodermisz





30.-34. ábra: A *Terfezia terfezioides* – *Helianthemum ovatum* *in vitro* interakció elektronmikroszkópos képei. **30. ábra:** Rhizodermisz sejtbe kívülről betörő hifa 0.6 mM foszfátnál. VE: vezikulum, C: kallóz. Bár: 500 nm. **31. ábra:** Kolonizált halott rhizodermisz sejt 0.6 mM foszfátnál. Nyílvég: penetráló hifa. Bár: 2 μ m. **32. ábra:** Keményítő szemcse egy élő kéregsejtben 0.6 mM foszfátnál. S: keményítő. Bár: 500 nm. **33. ábra:** Hartig-háló az intercellulárisban 2.4 mM foszfátnál. Nyílvég: ujj szerű struktúrák. WB: Woronin-test. Bár: 1 μ m. **34. ábra:** Kolonizált kéregsejtek és a központi henger külső rétege 2.4 mM foszfátnál. ED: endodermisz, nyílvég: plazmodezma. Bár: 1 μ m.

kéregsejtek éltek, nagy vakuolumok és keményítőszemcsék voltak megfigyelhetőek bennük (31. 32. ábra). A kolonizált sejtek halottak voltak. Néhány helyen, ahol a hifák betörték a kéregsejtekbe, az élő szomszédos sejtek kallóz berakódással erősítették meg sejtfaikat (30. ábra). A penetrációs helyeken a hifákban tartalmukat ürítő vezikulumok is előfordultak (30. ábra).

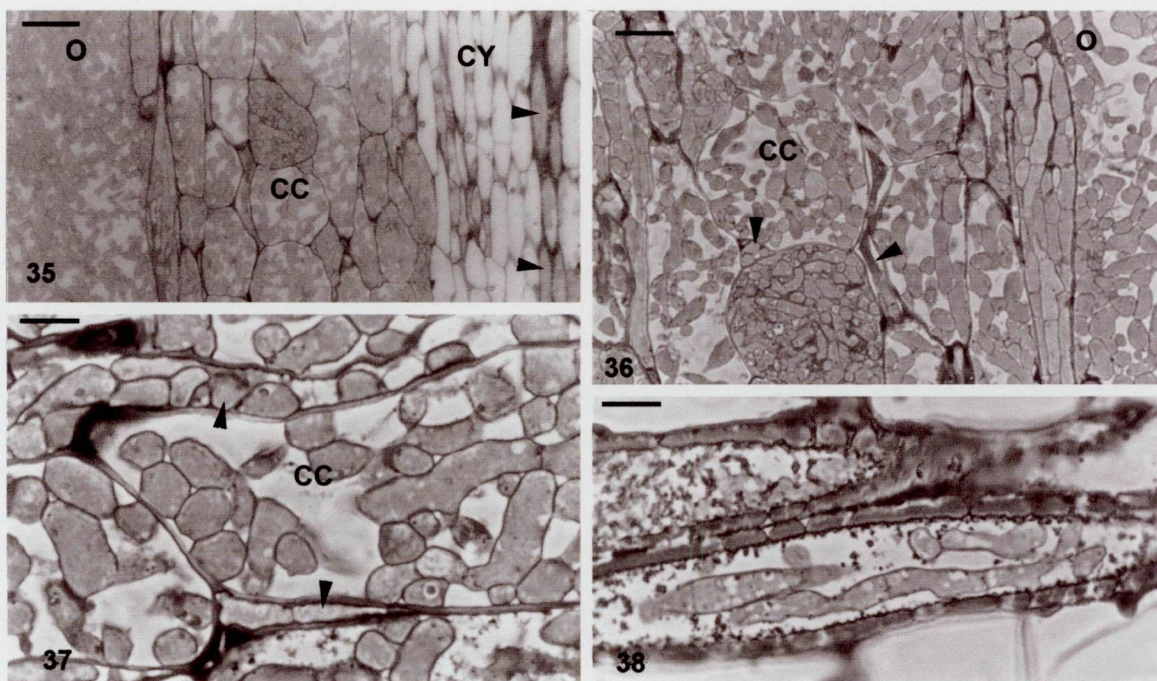
Az 1.2 mM-os foszfátszinten erősebb volt a kolonizáció. Az összes kéregsejtet kolonizálták a hifák, és intercelluláris hifák is megfigyelhetőek voltak a kéregben (24. ábra). A kolonizált kéregsejtek mind elhaltak, a degradáció különböző szintjein álltak. A központi henger sejtjei éltek, egy gyökérben a hifák a tracheákban is megjelentek. A kéregsejteknél a penetrációs helyeken megfigyelhetőek voltak védekező sejtfaivastagodások, a hifák sejtfai áttöréseivel szemben sejtfaanyag folytonossága nem volt megfigyelhető. Az intercelluláris hifák szorosan illeszkedtek a sejtfaikhoz, viszont semmilyen strukturális differenciálódást sem lehetett megfigyelni ezen helyeken.

A 2.4 mM-os foszfátkoncentrációnál a hifák minden kéregsejtet kolonizáltak, és a kolonizáció intenzív volt (25. 27. ábra). Minden kolonizált sejt elhalt, néhol a sejtfaanyag maradványai még megfigyelhetőek voltak, egyes helyeken pedig sejtfaanyag berakódások voltak a hifák penetrációs helyein. Az intercelluláris hifák szorosan illeszkedtek a sejtfaikhoz, és ujj-szerű struktúrák alakultak ki egyes helyeken (33. ábra). A központi henger és az endodermisz sejtjei életben voltak, néhol az utóbbiba már megpróbálták betörni a hifák (34. ábra).

A 4.8 és 9.6 mM-os foszfátkoncentrációnál a kéreg kolonizációja teljes volt, a rhizodermisz és a kéreg sejtjeit teljesen megtöltötték a gyakran szeptált, elágazó, néha kiszélesedő hifák (26. 28. 29. ábra). Az összes kolonizált sejt elhalt, míg a központi henger és az endodermisz sejtjei éltek.

A *Robinia pseudo-acacia* gyökereit nem kolonizálták hifák 0.6 mM-os foszfát szinten, még a rizodermisz sejtjeit sem. A kéregsejtek éltek, nagy vakuolumaik voltak, a sejtekben keményítő nem volt.

1.2 mM-os foszfátkoncentrációnál néhány rizodermális sejtet már kolonizáltak a hifák és néhány helyen gyengén a kéregsejteket is. A kolonizált sejtek elhaltak, az intercelluláris hifáknál semmilyen speciális anatómiai struktúra nem volt megfigyelhető.

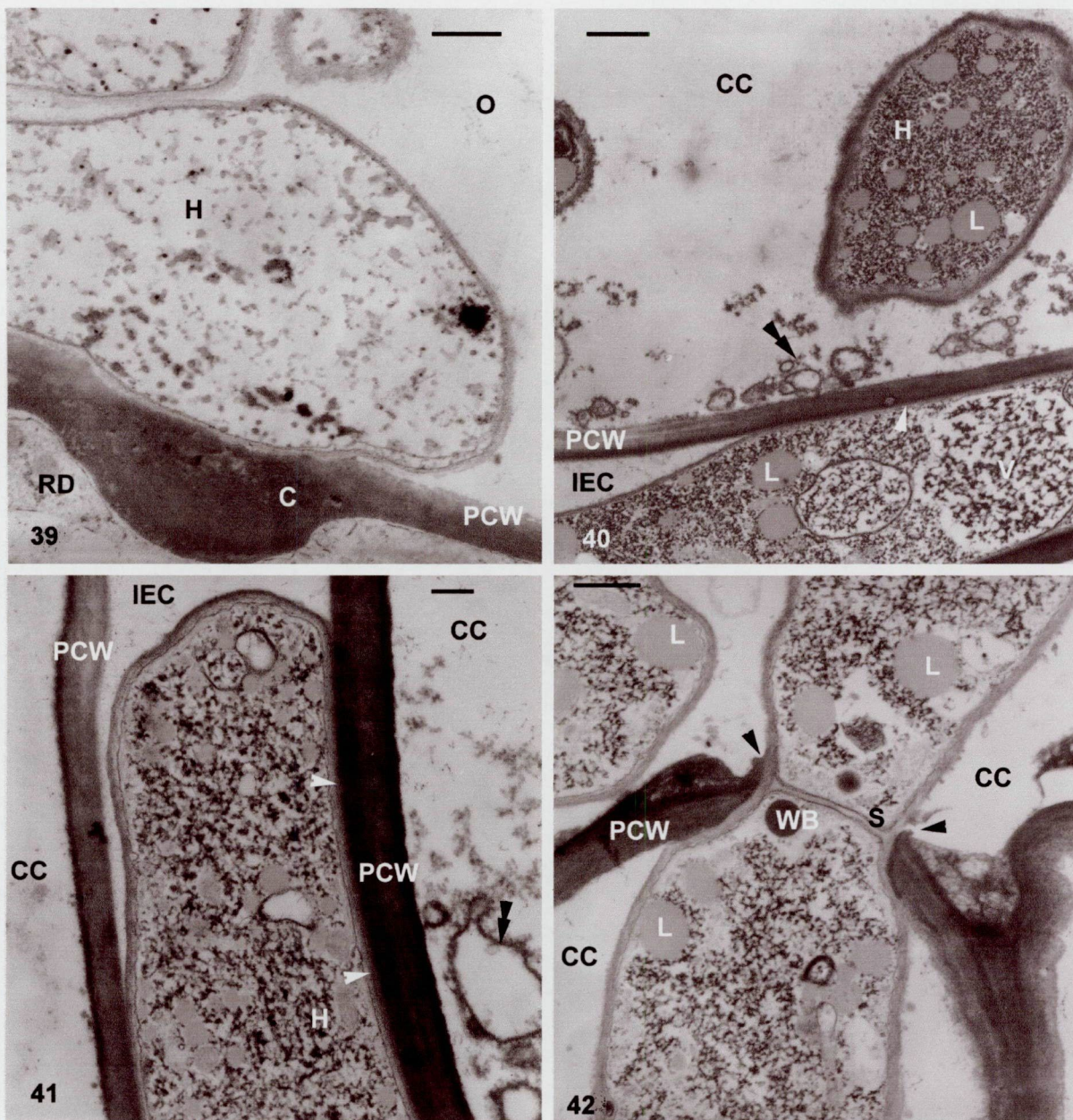


35.-38. ábra: A *Terfezia terfezioides* – *Robinia pseudo-acacia* *in vitro* interakció fénymikroszkópos képei 9.6 mM-os foszfátkoncentrációnál. **35. ábra:** Egy kolonizált gyökér radiális hosszmetsete. Nyílvég: kolonizált fa elemek. Bár: 40 μm . **36. ábra:** Kolonizált rhizodermisz és kéreg sejtek. Nyílvég: intercelluláris hifák. Bár: 20 μm . **37. ábra:** Kolonizált kéregsejt. Nyílvég: intercelluláris hifa. Bár: 8 μm . **38. ábra:** Kolonizált trachea. Bár: 8 μm .

2.4 mM-os foszfátszinten a legtöbb rizodermiszsejt kolonizált volt. Néhány helyen sejtfa megerősödések voltak megfigyelhetők a penetrációs helyeken (39. ábra). A kéregsejtek nagyrészt nem kolonizálta a gomba. Minden kolonizált sejt elhalt.

A 4.8 mM-os foszfátkoncentrációnál az összes rizodermiszsejt és kéregsejt kolonizált volt, az előbbi erősen, az utóbbi gyengébben. Minden kolonizált sejt elhalt (40. 41. ábra), a központi henger sejtjei viszont éltek.

A 9.6 mM-os foszfátkoncentrációnál minden rizodermiszsejt és kéregsejt kolonizált volt, a hifák majdnem teljesen kitöltötték a sejtet (35.-38. ábra). Habár a központi henger parenchimasejtjei élők és hifáktól mentesek voltak, a tracheákban gyakran előfordultak hifák (35. 38. ábra). Akárcsak a többi foszfátkoncentrációnál, ennél a szintnél sem fordultak elő ujj-szerű képletek a *Robinia* gyökerében lévő intercelluláris hifáknál (40. 41. ábra). A penetrációs helyeken a hifák és a sejtfa között semmiféle kontinuitás nem volt megfigyelhető (42. ábra).



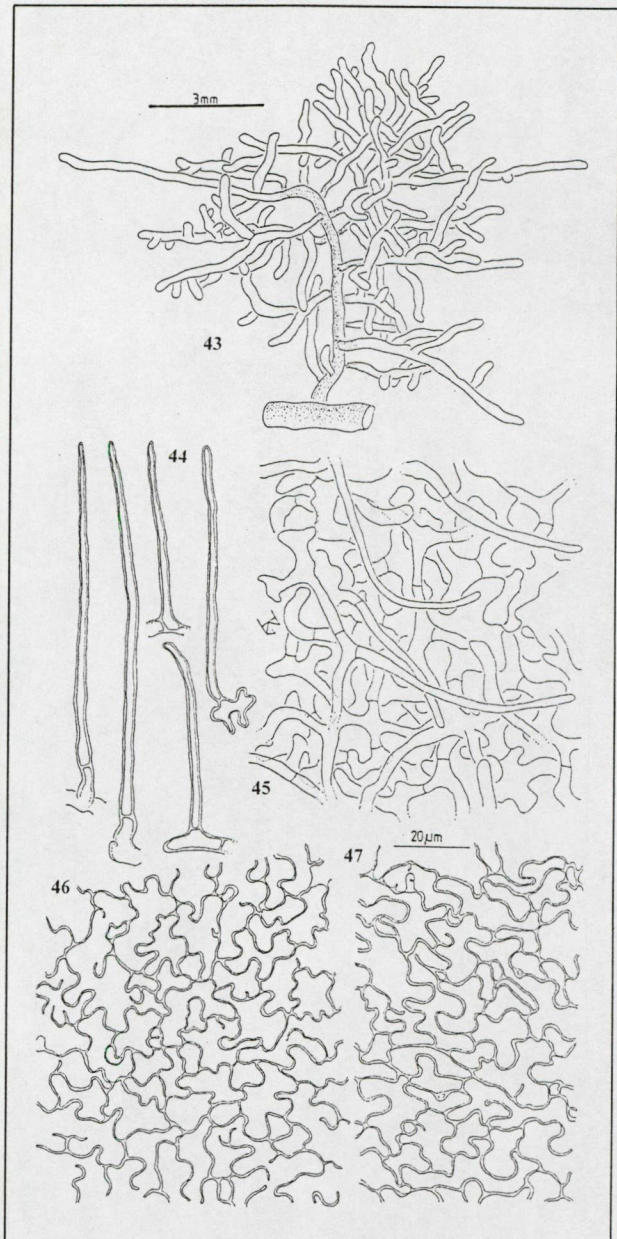
39.-42. ábra: A *Terfezia terfezioides* – *Robinia pseudo-acacia* *in vitro* interakció elektron-mikroszkópos képei. **39. ábra:** Halott hifa a gyökér felszínén, élő, megvastagodott falú rhizodermisz sejttel 2.4 mM foszfátnál. Bár: 500 nm. **40. ábra:** Összeeső hifa egy kolonizált kéregsejtben és intercelluláris hifa 4.8 mM foszfátnál. Nyílvég: szoros illeszkedése a sejtfalhoz a hifának, kettős nyílvég: összeesett sejtartalom, V: vakuólum. Bár: 1 μ m. **41. ábra:** Intercelluláris hifa 4.8 mM foszfátnál. Nyílvég: lehetséges határfelület, kettős nyílvég: összeesett sejtartalom. Bár: 500 nm. **42. ábra:** Sejt falon áttörő hifa 9.6 mM foszfátnál. Nyílvég: diszkontinuus sejt fal, WB: Woronin-test, S: szeptum. Bár: 500 nm.

3.4. Az alföldi erdőkből származó ektomikorrhizák jellemzése

3.4.1. A *Tuber rapaeodorum* ektomikorrhizája

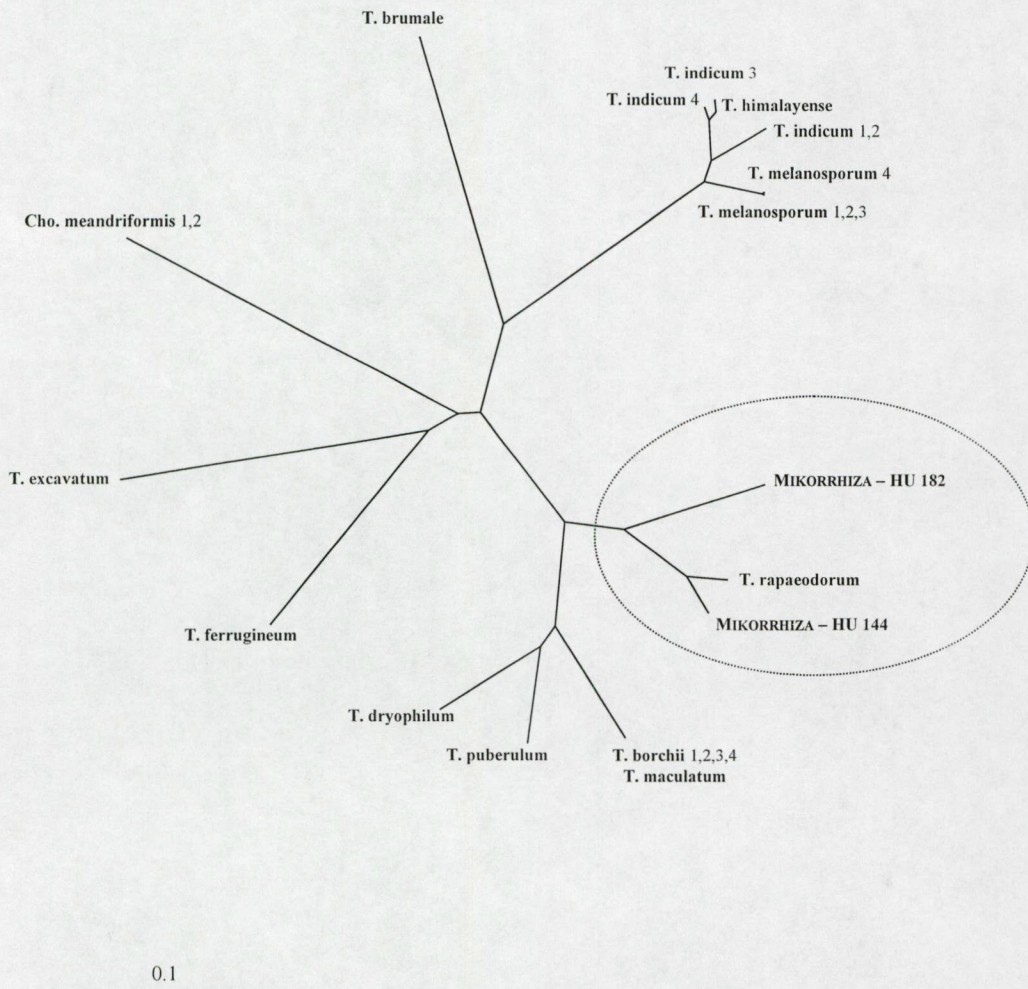
A mikorrhiza barnás, monopodiális fésűs, néha piramidális elágazású rendszerű (43. ábra). Felszíne sima, kissé szemcsés, melyet a már sztereomikroszkóp nagyobb nagyításainál is megfigyelhető cisztídiumok okoznak. Nagy méretű, akár centiméteres mérettartományú mikorrhiza rendszereket is találtunk (43. ábra). Sem rhizomorfák, sem kiágazó hifák nem voltak megfigyelhetők. A friss anyag nem adott színreakciót egyik fontosabb reagenssel sem. A köpeny legkülső rétegét egy hifahálózat alkotja – ez az Agerer-féle (1991) P típus jellemzője, de annak anguláris a pszeudoparenchimatikus köpenye – melyből kiágaznak a 20-50 μm hosszúságú, el nem ágazó cisztídiumok (44. 45. ábra). A köpeny külső rétege pszeudoparenchimatikus epidermoid,

szabálytalan, vastag falú sejtekkel, mely alapján az Agerer-féle (1991) M típusba sorolható (46. ábra). A köpeny belső rétege is pszeudoparenchimatikus, szerkezetében nem tér el a külső rétegtől, és az ezt alkotó sejtek is vastag falúak (47. ábra).



43.-47. ábra: A *Tuber rapaeodorum* ektomikorrhizája. 43. ábra: Egy fejlett mikorrhizarendszer. 44. ábra: Cisztídiumok. 45. ábra: A felszínt borító hifahálózat, cisztídiumokkal, alatta a köpennyel. 46. ábra: A köpeny külső rétege. 47. ábra: A köpeny szerkezete belülről. (A 44.-47. ábrákhoz ugyanaz a 20 μm -es bár tartozik.)

A molekuláris vizsgálatok során két mikorrhiza minta ITS régióját tudtuk amplifikálni és szekvenálni. A Blast keresésből kiválasztott, termőtestekből származó ITS szekvenciákkal a többmintás illesztés nem volt egyértelmű, csupán az 5.8-as gén és az ITS2 régió egy részének illesztése volt használható, így összesen 369 bp hosszú illesztést



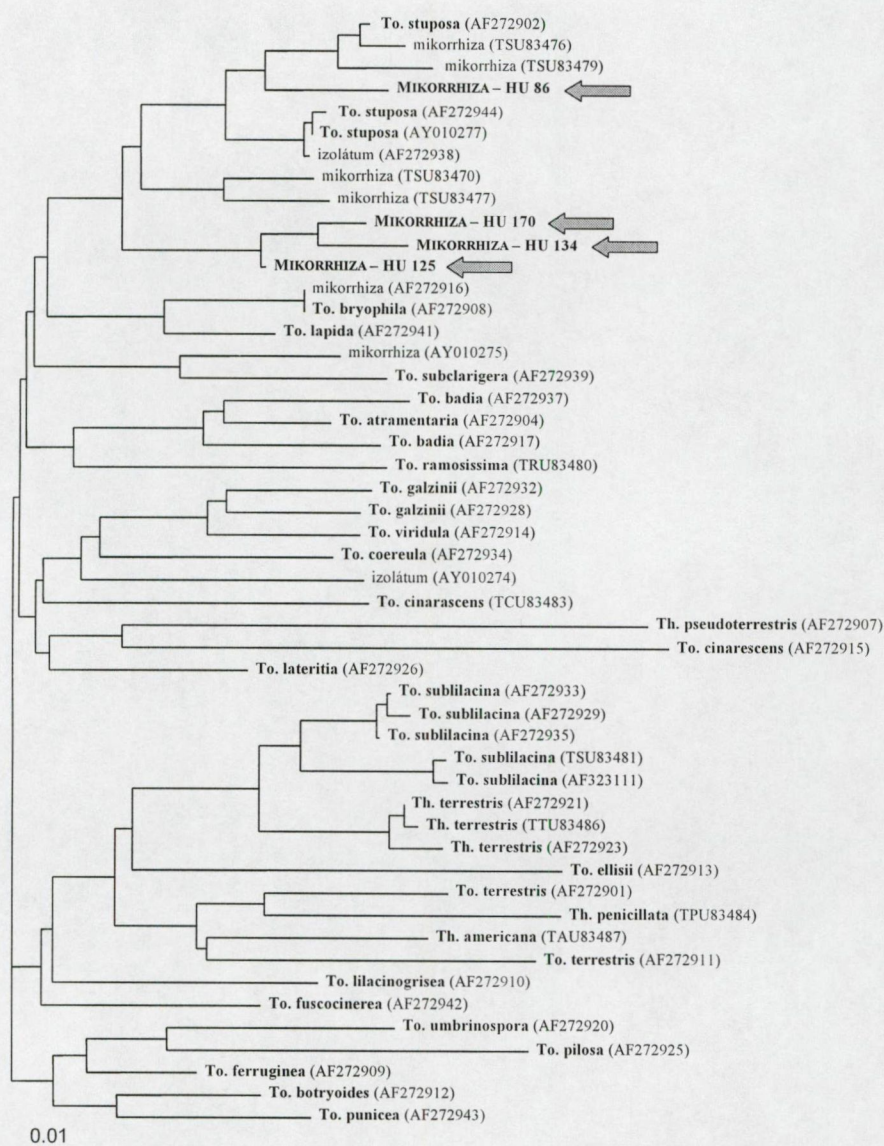
48. ábra: A termőtest adatok alapján feltételezeten a *Truber rapaeodorum* által képzett mikorrhizák ITS régiójának NJ vizsgálata génbanki adatokkal. Használt rövidítések és génbanki számok: T.: *Truber*, Cho.: *Choiromyces*. *Cho. meandriformis* 1: AF073508, 2: AF003910; *T. brumale*: AF132504; *T. indicum* 1: AF300823, 2: AF132502, 3: AF300824, 4: AF300822; *T. himalayense*: AF132503; *T. melanosporum* 1: AF132501, 2: AF300826, 3: AF300827, 4: AF300825; *T. rapaeodorum*: AJ278140; *T. borchii* 1: AF003920, 2: AJ002510, 3: AF132505, 4: AF 250291; *T. maculatum*: AF003909; *T. puberulum*: AF003918; *T. dryophilum*: AF003917; *T. ferrugineum*: AF132506; *T. excavatum*: AF073509.

használtunk az elemzésekhez, összesen 24 objektummal. Mind a három számítási mód ugyanolyan eredményre vezetett, ezért csak a NJ módszerrel készült, bootstrap eljárással vizsgált fa jól reprezentálja az eredményeket (48. ábra). A fán nem tüntettem fel a bootstrap értékeket, azok a határozás szempontjából fontos elágazások mindegyikénél

magas értékek voltak. A fában a két feltételezhetően *Tuber rapaeodorum* mikorrhiza szekvenciái egyértelműen egy csoportba rendeződtek a génbanki *Tuber rapaeodorum* szekvenciával, és élesen elhatárolódott a *Tuber borchii* csoporttól és egyéb *Tuber* csoportoktól (48. ábra).

3.4.2. A tomentelloid mikorrhizák molekuláris vizsgálatai

A munkák során négy mikorrhizából sikerült a magi rDNS ITS szakaszát amplifikálni és szekvenálni. A Blast keresőprogram segítségével kiválasztott 2 izolátum, 6 mikorrhiza és 38 azonosított termőtestből származó ITS szekvenciákkal végeztük a



49. ábra: A tomentelloid mikorrhizák ITS szekvencia alapú azonosításához számított NJ fa a génbankból származó szekvenciákkal. Rövidítések: To.: *Tomentella*, Th.: *Thelephora*.

filogenetikai elemzést. Az illesztés jól kivitelezhető volt, kevés helyen mutatott értelmetlen illeszkedést, így az illesztés után 566 karakter hosszúságú szakasszal tudunk dolgozni. A filogenetikai elemzés különböző módjai hasonló eredményre vezettek, így csak a bootstap módszerrel vizsgált Neighbor-Joining módszerrel készült fát mutatom be, melyet az is indokol, hogy jelen esetben az elemzés célja „csupán” azonosítás és nem filogenetikai hipotézis felállítása volt (49. ábra). A bootstrap értékek az azonosítás szempontjából lényeges összes elágazást magasak voltak. A fában a négy mikorrhiza közül három (HU 125, HU 134, HU 170) teljesen együtt maradt – ezek azonos területről és gazdanövényről származtak (2. táblázat) – míg egy (HU 86) különvált, de mind a *Tomentella stuposa* kládjába ékelődött be (49. ábra).

4. Az eredmények értékelése

Az alföldi élőhelyekhez kapcsolódó mikorrhiza vizsgálatok sok új adatot szolgáltatottak a területeken előforduló mikorrhiza típusokról, mind az egyes fajok, mind a vizsgált társulások szintjén.

A kunfehértói erdő azon fajai közül, melyek gyökerében a vizsgálatok során nem találtunk egyértelmű mikorrhiza-struktúrákat, néhányat a korábbi vizsgálatok is nem-mikorrhizás fajként jellemeztek. Ilyenek például az *Alliaria petiolata*, a *Saponaria officinalis* vagy a *Chelidonium majus*. Más esetekben korábbi adatot nem találtunk, például a *Thlaspi perfoliatum* vagy a *Cucubalus baccifer* fajoknál, de ezek a növények olyan családokba tartoznak, ahol általános jelenség, hogy nem mikorrhizáltak a növények. Más fajok esetében (pl: *Urtica dioica* és *Stellaria media*) mind mikorrhiza kapcsolat jelenlétét, mind hiányát jelzik korábbi vizsgálatok (Harley és Harley 1987), és ez utóbbi tulajdonságot találtuk mi is.

A nem-mikorrhizált növényfajok aránya a területen első ránézésre magasnak tűnhet, viszont csupán ezen adatok alapján téves következtetésekre juthatnánk a társulás mikorrhizáltságára vonatkozóan. Összevetve az adatokat az erdő területén korábban végzett cönológiai munkákkal (Bagi 1996, Csiky 1997) megállapítható, hogy nagyrészt mikorrhizás növények alkotják a társulást. Némely vegetációs időszakban az aljnövényzet szintjén egyes nem-mikorrhizált növények borítása magas lehet, de ennek ellenére, összességében mikorrhizás fajok jellemzik a növényzetet.

Néhány faj esetében, melyeket korábbi vizsgálatokban nem-mikorrhizáltaként tüntettek fel, a vizsgált példányokat endomikorrhizáltaknak találtuk, ilyen fajok voltak például az *Anthriscus sylvestris* és a *Ballota nigra*. Néhány fajnál mikorrhizáltságra vonatkozó korábbi adatokat nem találtunk, például az *Ailanthus altissima*, az *Ulmus minor*, a *Veronica hederifolia* és a *Fallopia dumetorum* esetében (Harley és Harley 1987).

A korábban a *Terfezia terfezioides* karakterisztikus endomikorrhiza struktúráiként jellemzett képleteket (Bratek és mtsai. 1996) ezen munka során is megtaláltuk a *Robinia pseudo-acacia* gyökerében. Az élőhelyek, ahol a homoki szarvasgombát eddig Magyarországon megtalálták, minden esetben akácos területek voltak (Babos 1981, Király és mtsai. 1992), mindemellett a holotípus élőhelyének leírásában az akác egyáltalán nem

szerepel (lásd Babos 1981). A jelen munkában a *Terfezia* potenciális mikorrhiza partnereként jelölt növények közönséges fajai az akácoknak. A lágyszárú fajok, mint például a *Brachypodium sylvaticum*, a *Viola odorata* és a *Glechoma hirsuta* gyakori aljnövényzet alkotók nemcsak a vizsgált területen, de általában a legtöbb *Robinia* erdőben. Ugyanígy a fásszárú növények, a *Celtis occidentalis*, a *Crataegus monogyna*, a *Prunus spinosa* és az *Ulmus* fajok, gyakorta előfordulnak elegendő akácainkban. A *Celtis occidentalis* például majdnem minden *Terfezia terfezioides* lelőhely leírásában szerepel (Babos 1981), és a *Crataegus monogyna* volt leggyakoribb cserjefaj a homoki szarvasgomba növénycönológiai vizsgálataiban (Király és mtsai. 1992). Mivel más *Terfezia* fajok teljesen különböző klimatikus és növényzeti övben élnek, semmi értelme sincs annak, hogy a feltételezett mikorrhiza partnereket összehasonlítsuk, az viszont megemlítendő, hogy egyaránt találhatóak a természetes mikorrhiza-partnerek között fás- és lágyszárú növények (Kagan-Zur és mtsai. 1999, Taylor és mtsai. 1995).

A kunfehértói erdőben gyűjtött *Terfezia terfezioides* termőtestek ITS régiójának RFLP profiljai teljesen megegyeztek. A fajon belüli RFLP variabilitás az ITS esetében is megfigyelt jelenség, általában távoli lelőhelyek példányai között, mint például a *Laccaria* fajok esetében, ahol az RFLP különbség korrelált a geográfiai távolsággal (Henrion és mtsai. 1992), a Fennoskandinávia ektomikorrhiza képző gombáinál (Kíren és mtsai. 1997) vagy például a *Tuber indicum* Cooke et Masse esetében (Paolocci és mtsai. 1997). Különös intraspecifikus heterogenitást dokumentáltak a *Terfezia pfeilii* RFLP vizsgálataiban során, egy területen belül két különböző RFLP mintázatot találtak és egy termőtest vegetatív micéliumából a két profil kevert képét is kimutatták (Kagan-Zur és mtsai. 1999).

Az ITS szekvenciák teljes egyezése a kunfehértói területről származó 3 minta és az észak-olaszországi egy minta esetében az eddigi *Terfezia* adatok tükrében egyedinek mondható. A többi magyarországi lelőhelyről származó ITS szekvenciákkal is nagyfokú az egyezés (Kovács és mtsai. 2001). Más *Terfezia* fajoknál lényegesen nagyobb intraspecifikus különbségeket dokumentáltak, a *Terfezia boudieri* Chatin esetében három törzs mutatott nagyfokú eltérést az ITS szekvenciában (Kagan-Zur és mtsai. 1998), de egy hifán belül is eltértek a szekvenciák (Aviram és mtsai. 2000b). A már fentebb említett RFLP különbségek a *Terfezia pfeilii* esetében (Kagan-Zur és mtsai. 1999) szekvencia szinten is bizonyítottak (Aviram 2000b). A *Terfezia terfezioides* ITS szekvenciájának homogenitása lehetővé tenné, hogy megbízható molekuláris markerként fajspecifikus PCR

primereket tervezésével a gazdanövények biztos azonosítását el lehessen végezni. Csupán gombaspecifikus primerek használata nem lenne elegendő, hiszen minden feltételezett partner esetében más endogén gombák is jelen voltak a gyökerekben. Ezzel a vizsgálattal végre pontosan tisztázni lehetne, hogy milyen fajokkal van gyökérkapcsolatban a homoki szarvasgomba.

Az ITS invariabilitás – szemben más *Terfezia* fajok intraspecifikus eltéréseivel – önmagában kevés bármilyen taxonómiai következtetés levonására. A korábban *Mattiolomyces terfezioides* (Matt.) Fischer faj Trappe 1971-es *Terfezia* nemzetségbe való sorolásának helyességét több molekuláris munka (Díez és mtsai. 1998, Percudani és mtsai. 1999, Kagan-Zur és mtsai. 2001) is megkérdőjelezte már. A régóta ismert elterjedési különbségek a *Terfezia* nemzetség többi fajától, és az in vitro gyökérkapcsolatok lényeges eltérései – a morfológiai hasonlóságok ellenére – szintén igazolhatják annak szükségességét, hogy a fajt visszasorolják korábbi, különálló nemzetségébe.

Már a státuszvizsgálatok során látszott, hogy a virgíniai holdruta sporofitonja arbuszkuláris mikorrhiza kapcsolattal rendelkezik, de a részletes anatómiai vizsgálatok egyértelművé tették, hogy a vizsgált gazdanövény-gomba kölcsönhatás az arbuszkuláris mikorrhizák általános jellegzetességeit mutatja (Scannerini és Bonfante-Fasolo 1983). A *Botrychium virginianum* gyökerében talált endogén gomba-struktúrák lokalizációja és anatómiai jellemzőinek legtöbbje megegyezik az *Ophioglossum reticulatum* esetében leírtakkal (Schmid és Oberwinkler 1996). Az arbuszkulumok viszont határozottan különbözőek. Az elágazások robusztusak és nem szélesednek ki hólyagokban a végeiken mint azok a speciális struktúrák amelyeket az Ophioglossaceae család más tagjaiból írtak le (Boullard 1905, Burgeff 1938, Schmid és Oberwinkler 1996). A jelen munkában bemutatott arbuszkulum-struktúra eltér a koralloid morfológiájától is, melyet a *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn sporofitonjában (Boullard 1979) és az Ophioglossaceae családban is megtaláltak (Schmid és Oberwinkler 1996). Az arbuszkulumok a „hagyományos”, vékony elágazásokkal rendelkező arbuszkulumoktól is egyértelműen különböznek (Bonfante-Fasolo 1984). A lebeny-szerű végződéses és a nagyon vastag, robusztus struktúrák erősen emlékeztetnek a Triász-kori fosszilis gyökerekből leírt arbuszkulumok jellemzőire (Stubblefield és mtsai. 1987a, 1987b). Ennek a valószínűleg ősi arbuszkulum-formának a

jelenléte összhangban van a páfrány evolúciós helyzetével, akkor is, ha a struktúrát a növény, a gomba, vagy együtt mindketten is determinálhatják.

Az arbuszkulumokat képző hifák különböznek a hurkokat formálóktól, akárcsak a gazdasejtek, melyeket ez a két különböző struktúra kolonizált. A glükogén partikulumok gyakoribbak az arbuszkulum formáló hifákban. Az arbuszkulumok sejtfa sokkal vékonyabb mint a hurkokat képző hifáké. Habár a filamentózus mátrix anyag vastagságának mérettartománya átfed, általában az arbuszkulumokon vékonyabb ez a réteg. A hifa-hurkok által kolonizált sejtek tartalmaztak keményítőt, míg az arbuszkulumok által kolonizáltak nem, és az utóbbiak citoplazmája nagyobb mennyiségben tartalmazott sejtorganelumokat. Ezek a különbségek a hurkok és az arbuszkulumok funkcióival lehetnek összefüggésben (Smith és Smith 1990), és azt mutatják, hogy a *Botrychium virginianum* mikorrhizájának fő funkcionális struktúrái az arbuszkulumok. A felhalmozott glükogén mennyiségének különbsége és az, hogy az arbuszkulumok által kolonizált sejtekből hiányzik a keményítő, egyértelművé teszik, hogy a cukrot az arbuszkulumok veszik fel. Ez az eredmény nem támasztja alá a szén és az ásványi anyag átadás térbeli elkülönülésének hipotézisét (szén – hifahurkok, ásványi anyagok – arbuszkulumok, lásd Smith és Read 1997). Habár eredetileg ez a modell csak közelítő javaslatként lett bemutatva (Gianinazzi-Pearson és mtsai. 1991, és lásd Bago 2000), a hipotézis erőltetése odáig vezetett, hogy az arbuszkulumokat mint a szén-transzport szempontjából nem lényeges határfelületet állítják be (Smith és Read 1997).

A *Botrychium virginianum* gyökerében a hurkokat formáló hifák vékonyabbak és vastagabb falúak, mint a *Botrychium lunaria* (L.) Sw. talajban élő gametofitonjában talált endogén hurokformáló hifák (Schmid és Oberwinkler 1994), de az ultrastrukturális jellemzőik hasonlóak. Az *Ophioglossum reticulatum* gyökereiben az arbuszkulumokat körülvevő nagy mennyiségű mátrix anyagot dokumentáltak (Schmid és Oberwinkler 1996), szemben az arbuszkuláris mikorrhizákra általában jellemzővel (Scannerini és Bonfante-Fasolo 1983). A *Botrychium virginianum* esetében az arbuszkulumokat körülvevő filamentózus mátrix anyag meglehetősen vékony, és ez összhangban van a határfelület általános bélyegeivel (Bonfante 2001). Míg az *Ophioglossum reticulatum* esetében az arbuszkulumok degradációjával párhuzamosan a keményítő újra megjelent a gazdasejtekben (Schmid és Oberwinkler 1996), a *Botrychium virginianum* esetében arbuszkulumok által kolonizált sejtekben keményítő nem volt megfigyelhető, még akkor

sem, ha az arbuszkulumok teljesen összeestek. A mintagyűjtés időpontja a jelen tanulmányban közel volt az éves vegetációs periódus végéhez, ez magyarázhatja azt, hogy a növény már nem tudta újratermelni a keményítőt azokban a sejtekben, melyekben felszívódott.

A baktérium-szerű képletek (BLO) általános struktúrák az arbuszkuláris mikorrhizákban (MacDonald és Chandler 1981, MacDonald és mtsai. 1982), és az Ophioglossaceae családból is leírták őket (Schmid és Oberwinkler 1994, 1996), a *Botrychium virginianum* sporofitonjában nem voltak megfigyelhetőek egyértelműen BLO-ra emlékeztető képletek.

A virginiai holdruta mikorrhizájának morfológiája nem illeszthető be a Gallaud (1905) által meghatározott két fő formába, az *Arum*- és *Paris*-típusba. Az előbbi típust a kiterjedt intercelluláris hifarendszer és az intracelluláris arbuszkulumok jellemzik, míg az utóbbi legfontosabb jellegzetessége az intracelluláris hifa-hurkok és a rajtuk előforduló kisebb arbuszkulumok (Gallaud 1905, Smith és Smith 1997). A *Botrychium virginianum* sporofitonjának mikorrhizája a *Paris*- és *Arum*-típus közötti átmeneti formának tekinthető. Intercelluláris hifák nem figyelhetőek meg, az intracelluláris hurkokat ritkán elágazó hifák képezik, és ezekből leágazó hifák áttörve szomszédos sejtekbe hozzák létre az arbuszkulumokat. Ezek a jellemzők azonosak a korábban, az *Ophioglossum reticulatum* sporofitonjából leírt mikorrhiza (Schmid és Oberwinkler 1996) és az Ophioglossaceae egyéb sporofitonjaiból dokumentált mikorrhizák jellegzetességeivel. Habár mind a gazdanövény, mind a gomba meghatározhatja, hogy milyen típusú endomikorrhiza jön létre (lásd Smith és Smith 1997 és a benne idézett referenciákat), a legfőbb jellemzői ezen mikorrhizáknak úgy tűnik, közös karakterei az Ophioglossaceae családnak.

Számos homokterület és dűne növénytársulás és néhány száraz élőhely növényeit vizsgálták mikorrhizáltságukra vonatkozóan, ezeknek az élőhelyeknek a földrajzi, klimatikus és edafikus viszonyaik határozottan eltérnek a doktori munkám során vizsgált fülöpházi területtől. A korábbi homokgyepekre és száraz élőhelyekre vonatkozó adatok leginkább más kontinensekről származnak (pl. Miller 1987, Dhillon és mtsai. 1995, Fontenla és mtsai. 2001), míg a homokbuckákra vonatkozó tanulmányokat szinte kizárólagosan vízparti dűnéken végezték (Nicolson 1960, Koske és Halvorson 1981,

Giovanetti és Nicolson 1983, Koske 1988, Koske és Gemma 1990, Blaskowski 1994, Corkidi és Rincón 1997).

A magyar Alföld területein eddig végzett mikorrhizavizsgálatok, vagy csak egy növényfajra koncentráltak (Jakucs et al 1999, Magyar et al 1999, Kovács és Jakucs 2001), vagy a vizsgált fajok száma volt alacsony és az eredményeket rosszul dokumentálták (Parádi és mtsai. 1998, Bratek 2000).

A hasonló alföldi növénytársulásokban végzett vizsgálatok szerint szinte az összes növényt arbuskuláris mikorrhizásnak tüntették fel (Parádi és mtsai. 1998, Bratek 2000). A jelen munka során a vizsgált növényfajok jelentős hányada bizonyult nem mikorrhizáltnak. Legtöbbjük olyan növénycsaládokba tartozik, mint a Chenopodiaceae, Caryophyllaceae és Brassicaceae, melyeket általánosan nem-mikorrhizás növénycsaládokként tartanak számon. Némelyiküket (*Arenaria serpyllifolia*, *Dianthus serotinus*, *Silene borysthenica*, *Silene conica*, *Minuartia verna*, *Salsola kali*, *Bassia sedoides* és *Alyssum montanum*) vizsgálták a korábbi munkák, és legtöbbjüket mikorrhizáltnak tüntették fel (Parádi és mtsai. 1998, Bratek 2000), de ezeket a munkákat komoly ellentmondások – növényfajok konzekvens rossz családba sorolása, számszerű összeggések hibái – teljesen megbízhatatlanná teszik.

A legtöbb hideg időszaki szubpesszimumra (kora tavasz) jellemző egynyári növény, mint az *Arenaria serpyllifolia*, *Erophila verna*, *Cerastium semidecandrum*, *Holosteum umbellatum* és *Myosotis stricta*, akárcsak a száraz időszaki szubpesszimum (késő nyár) karakterisztikus fajainak nagyrésze, mint a *Bassia laniflora*, *Corispermum nitidum*, *Corispermum canescens*, *Polygonum arenarium* és *Salsola cali*, nem-mikorrhizáltak. A homokgyepek növényfajainak aspektusok szerinti csoportosítását (Kárpáti és Kárpáti 1954) nézve hasonló képet láthatunk, a nem-mikorrhizált növények leginkább a korai és késői aspektusokba tartoznak. Ezt a jelenséget a nem-mikorrhizált növényeknek a mikorrhizáltaktól való egyfajta időbeli szegregációjaként magyarázhatjuk, melyre a túl erős kompetíció elkerülése érdekében van szükség, mely stratégiának a térben történő megvalósulását már leírták (Francis és Read 1995). Ha figyelembe vesszük, hogy a nem-mikorrhizált fajok nagy része nem domináns, és ez a rhizoszféra szintjén is elmondható róluk – nagyrészüknél gyenge, nem túl mély gyökérszerve van (Simon és Bataouny 1971) – ezt szintén tekinthetjük egyfajta térbeli szeparációnak. Mivel más összefüggés a mikorrhizáltsági jellemzők és a rendelkezésünkre álló cönológiai adatok

között nem állapítható meg, további vizsgálatok lennének szükségesek a mikorrhizáltság és a társulás szerkezetének jellemzői közötti összefüggések tisztázására.

A terület legnagyobb részét borító nyílt évelő homokgyepek domináns növényfajai mind kolonizáltak mikorrhiza-képző gombákkal. Ezek a növényfajok a xerofil fűvek, mint a *Festuca vaginata*, *Stipa borysthenaica*, *Koeleria glauca*, és a legszegényebb talajokon a törpecserje *Fumana procumbens*. A mélyedések sűrűbb, rétszerű vegetációjának uralkodó fajai, mint a *Poa angustifolia*, *Calamagrostis epigeios* és a cserje *Salix repens* ssp. *rosmariniifolia* szintén mikorrhizáltak. A nyílt egynyári homokgyepnek leginkább domináns faja (*Secale sylvestre*) szintén mikorrhizált, akárcsak a vegetációtípus másik fontos faja a *Bromus squarrosus*, de a *Bromus tectorum* gyökereiben nem találtunk mikorrhizát. A zavart területeket uraló gyomnövények szintén mikorrhizásak. A *Cleistogenes serotina* erősen mikorrhizált; ennek a fajnak az invázióját 1970-es évektől a terület jelentős részén megfigyelték, de szerepe a homokgyepek növénytársulásában még nem tisztázott (Bagi 1997, 2000, Molnár 2000). Annak ellenére, hogy relatíve magas arányban fordultak elő a vizsgált növényfajok között nem-mikorrhizált növények, figyelembe véve a fentebb részletezett cönológiai sajátosságokat, elmondhatjuk, hogy a területen a mikorrhizált növényfajok dominálnak.

A legtöbb agresszív, és – a terület skáláján nézve – inváziós faj (mint pl. az *Ailanthus altissima*, *Asclepias syriaca*, *Cleistogenes serotina*, *Ambrosia artemisiifolia* és *Conyza canadensis*) endomikorrhiza-képző gombákkal kolonizált, akárcsak a kunfehértói területen. Ez az eredmény összhangban van egyes, az invazív növények endomikorrhiza kapcsolatairól alkotott hipotézissel (Richardson és mtsai. 2000). Habár az invazív *Cenchrus incertus* nem mikorrhizált, ez a faj pionír, a területen általában szabad homokfelszíneken sikeres (de Lisle 1963, Szigetvári 1999).

Az ektomikorrhizas növényfajok kevert kolonizációja nem mond ellent a korábbi adatoknak, melyeket a *Populus alba*, *Salix repens* fajokról és az *Acer* és *Helianthemum* nemzetségekről közöltek (Harley és Harley 1987). A *Fumana procumbens* gyökerein az endomikorrhizáktól az ekto-típus felé történő ontogenetikus szukcesszióról alkotott hipotézist (Bratek 2000) nem támasztották alá megfigyeléseink. A Cistaceae család egyik törpecserjéje faján sem találtunk semmiféle összefüggést a mikorrhizáltság típusa és az egyedfejlődés szintje között, minden esetben egyaránt ekto- és endomikorrhizák is megfigyelhetőek voltak a gyökereken.

A szeptált endogén gombastruktúrákat és hifákat – melyek általában a sötét-szeptált formacsoportba tartoznak – majdnem minden égövről és a gazdanövények nagyon széles csoportjából jelezték már (Jumpponen és Trappe 1998). Míg az alpin és szubalpin növénytársulások esetében a sötét-szeptált struktúrákat alaposan tanulmányozták (Haselwandter és Read 1980, Bledsoe és mtsai. 1990, Blaschke 1991, Stoyke és Currah 1991, 1992, Väre és mtsai. 1992), addig a homokgyepek és dűnék esetében általában csak az arbuskuláris mikorrhizákat vizsgálták, annak ellenére, hogy a sötét-szeptált struktúrák jelenléte homoki fajokban régóta ismert (Nicolson 1959, 1960, és lásd Jumpponen és Trappe 1998). Az endomikorrhiza képletek mellett a jelen vizsgálatok során a növények nagy részében előfordultak ezek a gomba-struktúrák, akárcsak a kunfehértói erdő esetében. Sem a taxonómiája, sem a szerepe ezeknek az endogén gombáknak nem teljesen tisztázott, bár úgy tűnik inkább pozitív, mint negatív a gazdanövényekre gyakorolt hatásuk. A gyakori és általános alpin előfordulásuk ésszerű magyarázataként azt az elméletet állították fel, hogy jelentőségük a környezetben erősödő stresszel egyre nő (Väre 1992, Read és Haselwandter 1981, Haselwandter és Read 1982, Stoyke és mtsai. 1992, Gardes és Dahlberg 1996, Jumpponen és Trappe 1998). A gyakori előfordulásuk ezeken az alföldi területeken alátámasztani látszik a jelenlétük, jelentőségük és a stressz közötti összefüggés hipotézisét, habár szerepük az alpin társulásukban az arbuskuláris mikorrhiza kolonizáció kis gyakorisága miatt, valószínűleg fontosabb.

A fülöpházi területről gyűjtött *Helianthemum ovatum* gyökerekről kimutatott két ektomikorrhiza részletes anatómiai és molekuláris jellemzése alapján egyértelműen különbözik az ugyanezen a területen, szintén a Cistaceae családba tartozó *Fumana procumbens* egyedéről leírt *Hebeloma ammophilum* Bohus és *Inocybe heimii* Bon ektomikorrhizáktól (Jakucs és mtsai. 1999, Magyar és mtsai. 1999). A „*Helianthemirhiza hirsuta*” névvel leírt mikorrhiza anatómiai jellemzése alapján úgy tűnt, hogy bazídiumos gomba képezte ezt az ektomikorrhizát (Kovács és Jakucs 2001). Ezt a dolipórus-szerű struktúrák jelenléte miatt feltételeztük, de a molekuláris adatok egyértelműen megmutatták, hogy aszkuszos gombáról van szó. A *Terfezia terfezioides* ultrastuktúra vizsgálatai során tapasztalt jelenség, miszerint gyakran két-két Woronin-test rendeződik a szeptumok környékére és ez fénymikroszkóppal nagyon hasonlít a dolipórusra, magyarázatul szolgált arra, hogy miként tűnhetett ez az ektomikorrhiza bazídiumos gomba

által képzettnek. Ez a Woronin-test elrendeződés nem csak a *Terfezia terfezioides* hifáiban fordulhat elő, más aszkuszos gombáknál is dokumentálták (Danielson 1984, Buscott és Kottke 1990). Ezek tükrében megkérdőjelezhető ennek az ektomikorrhizák Agerer-féle (1991) leírásánál használatos fénymikroszkópos adatnak a megbízhatósága. A „*Helianthemirhiza latihypha*” a széles, sűrűn szeptált hifák miatt már morfológiai alapon is aszkuszos gomba által képzettnek tűnt, melyet a molekuláris eredmények megerősítettek. Ennek a mikorrhizának az anatómiája nagyon emlékeztet azokra a gyökérkapcsolatra, melyet ITE.1 jellel írtak le azkuszos gomba ektomikorrhizájaként (Ingleby és mtsai 1990).

Általánosan elmondható, hogy a területen dominálnak az aszkuszos gombák által képzett mikorrhizák és egyéb gyökérstruktúrák, és sok esetben emlékeztettek azonosított aszkuszos gombák által képzett formákra (Danielson 1982, 1984, Yang és Wilcox 1984, Wang és Wilcox 1985). A dolog érdekessége, hogy ezen gombák úgy tűnik, kapcsolatban vannak a DS gombákkal (Jumponnen és Trappe 1998) melyek szintén nagy gyakoriságú gyökérkolonizálók a területen. Érdekes, hogy korábban ezeket a struktúrákat elsősorban nyitvatermő fákról írták le, és hasonlóan a DS gombákhoz, elsősorban magashegységi, hideg területeken vizsgálták őket. Egyes tulajdonságaiban még a „*Helianthemirhiza hirsuta*” is emlékeztet ezekre a mikorrhizákra, különösen a köpenyt alkotó széles hifák miatt. Sajnálatos, hogy ezen érdekes, sokszor „pszeudomikorrhizáknak” is nevezett gombákon, illetve a DS csoport taxonjain a molekuláris vizsgálatokat általában nem az ITS szakasz alapján végezték, így az általunk nyert szekvenciák pontos azonosításukhoz nem voltak használhatóak.

A *Helianthemum* nemzetség mikorrhizáira irányuló vizsgálatok nagy részének a tárgyát a *Terfezia* nemzetséggel képzett gyökérkapcsolatai adják. Fortas és Chevalier (1992) leírták korábban a tápközeg foszfátkoncentrációjának a hatását két *Terfezia* fajnak a *Helianthemum guttatum* növényvel képzett mikorrhizájának anatómiájára. A változó foszfát tartalom hatása a *Terfezia terfezioides in vitro* gyökérkapcsolataira szintén jelentős volt, igaz máshogy nyilvánult meg. A növekvő foszfát tartalommal a kolonizáció mértéke egyre emelkedett, mind egyre több sejtet kolonizáltak a hifák, mind pedig egyre jobban kitöltötték a sejteket. A kolonizáció mértéke a *Helianthemum ovatum* esetében 4.8 mM és 9.6 mM foszfátkoncentrációnál, a *Robinia pseudo-acacia* esetében 9.6 mM-os szintnél

artefaktumnak tekinthető. A tápközeg csökkentett tápanyag-koncentrációja általában segíti a mikorrhizációt (Smith és Read 1997), jelen vizsgálatnál viszont a külső cukorforrás és a relatíve magas tápanyag-koncentráció fokozta a kolonizációt. Az alacsony tápanyag-koncentrációt tartották a mikorrhizaképzés gátlás okának a *Helianthemum sessiliflorum* és *Terfezia leonis* esetében (Roth-Bejerano és mtsai. 1990, Kagan-Zur és mtsai. 1994). Külső cukorforrás nélkül, nagyon alacsony tápanyagszinten 5 hét után csak kezdődő (és nagyon megbízhatatlan) mikorrhizaképzést tudtak kimutatni (Roth-Bejerano és mtsai. 1990). Módosított MMN táptalajt, a jelen munkában használttól eltérő összetételben, használtak *Helianthemum almeriense* és *Terfezia claveryi* közötti mikorrhizaképzés tanulmányozására (Morte és mtsai. 1994, Morte és Honrubia 1995). Az általunk használt táptalajhoz képest alacsonyabb foszfát- és cukortartalom mellett Morte és mtsai. (1994) csak a negyedik hét után tapasztalt mikorrhiza-képzést. Később Morte és Honrubia (1995, 1997) kifejlesztette speciális MH táptalaját ezen fajok mikorrhizálásához, és megfelelőbbnek találták az MMN-nél. Ez a táptalaj jelentős mennyiségű cukrot tartalmaz (15 g/L szukróz), viszont foszfátból csak a felét a jelen munka során használt legalacsonyabb koncentrációnak (Morte és Honrubia 1994, 1997). Habár komoly korlátjai vannak az összehasonlításnak, a tapasztalt hatása a foszfátnak magyarázhatja azt, hogy a *Terfezia terfezioides* esetében miért volt az interakció kialakulása sokkal gyorsabb. A külső cukorforrás pozitív hatását magas ásványianyag-tartalom mellett ektomikorrhiza-képző gombáknál is jelezték (Guerin-Laguette és mtsai. 2000). Habár a *Terfezia terfezioides* által képzett struktúrákat és a kolonizációt össze lehet hasonlítani, figyelembe kell vennünk, hogy a jelen tanulmányban tapasztalt interakciót nem lehet egyértelműen mikorrhizának tekinteni.

A *Terfezia terfezioides* által képzett struktúrák mutatják néhány anatómiai jellemzőjét más *Terfezia* fajok mikorrhizáinak. Viszont míg a *Terfezia claveryi* és *Helianthemum salicifolium* endomikorrhiza ultrastruktúra vizsgálatok során élő kolonizált sejtekről és működő határfelületről számoltak be (Dexheimer és mtsai. 1985), a jelen vizsgálatokban minden kolonizált sejt, függetlenül a kolonizáció mértékétől, elhalt. Mivel a *Helianthemum ovatum* és a *Robinia pseudo-acacia* gyökerében talált intracelluláris struktúrák hasonlóak voltak, és általános megjelenésükben nem tértek el a korábbi *Terfezia* endomikorrhizáktól, az Alsheikh (1984) által javasolt „helianthemoid” típus helyett a „terfezioid” típus elkülönítése indokoltabbnak látszik. A *Terfezia pfeilii* Henn.

Citrullus vulgaris Schrad. gyökerében képzett mikorrhiza hasonlósága (Kagan-Zur és mtsai. 1999) szintén alátámasztja ezt az elkülönítést. Mindemellett meg kell említeni, hogy a *Terfezia* fajok mikorrhizáinak az „E-strain” struktúrához való hasonlítása (Fortas és Chevalier 1992) szintén nem tekinthető megalapozatlannak.

Számos esetben jeleztek korábban *Terfezia* fajok mikorrhizáinál intercelluláris hifákat a *Helianthemum* fajok gyökereiben (Dexheimer és mtsai. 1985, Cano és mtsai. 1991, Morte és mtsai. 1994). A *Terfezia leptoderma*-*Helianthemum salicifolium* mikorrhizájánál ujj szerű struktúrákat dokumentáltak (Dexheimer és mtsai. 1985, Leduc és mtsai. 1986), mely karakter a Hartig-háló legjellemzőbb anatómiai sajátossága (Kottke és Oberwinkler 1987). Jelen vizsgálatok során mindkét növény esetében találtunk intercelluláris hifákat, de ujj szerű struktúrára emlékeztető képlet csak a *Helianthemum ovatum* gyökerében fordult elő. Az akác gyökereiben az intercelluláris hifák általában szorosan illeszkedtek a sejtfalakhoz, de ujj szerű struktúrák nem voltak megfigyelhetőek. Ezt a különbséget a gazdanövények okozhatják. Habár bizonytalan utalás van az irodalomban a *Robinia pseudo-acacia* ektomikorrhiza-képzésére (Trappe 1962), általában a fehér akácot, mint arbuskuláris mikorrhiza képző fát tartják számon (Harley és Harley 1987). A *Helianthemum* fajok viszont ektomikorrhizákat (is) gyakran képeznek (Read és mtsai. 1979, Harley és Harley 1987). A *Helianthemum ovatum* a vizsgált területen is képez ektomikorrhizákat. Ez a különbség magyarázat lehet arra, hogy miért csak az ékes napvirág gyökerében fordult elő ujj szerű képlet. Ennek hiánya az akácnál természetesen nem zárja ki, hogy az ott előforduló, szoros illeszkedésű intercelluláris hifák határfelületet alkossanak, hiszen ez lehet az egyedüli működő kapcsolódási felület a növény és a gomba közt. A gazdanövény befolyását jelezték *Terfezia leptoderma* esetében is, mely sem Hartig-hálót, sem egyértelmű mikorrhizát nem képzett két *Cistus* fajjal, csupán a *Helianthemum salicifolium* egyedeivel (Leduc és mtsai. 1986).

A kísérlet rövid időtartama alatt nem volt észrevehető hatása növényeken a *Terfezia terfezioides* inokulálásnak, nem különböztek a kontrol növényektől az inokuláltak, a kapcsolatról nem dönthető el egyértelműen, hogy mikorrhiza kapcsolat lenne. Az endodermisz kolonizációja és a hifák jelenléte a tracheákban megkérdőjelezi a tisztán mikorrhizás viselkedést. Sajnos azonban nem zárható ki, hogy ezek a jelenségek csupán artefaktumok lennének. A növény védekező reakciói a hifák penetrációs helyein szintén bizonytalanná teszik a mikorrhizás jelleget, habár hasonló jelenséggel egyes

mikorrhizáknál is találkozhatunk (Scannerini és Bonfante-Fasolo 1983, Smith és Read 1997), illetve általánosan elfogadott, hogy minden valóban működő mikorrhiza kapcsolat létrejöttének kezdeti szakaszában parazita kölcsönhatás jellemzőit mutatja. Más oldalról az ujj szerű képletek megjelenése, és a külső cukortartalom ellenére bekövetkező kolonizáció magyarázható úgy, mint a mikorrhiza kapcsolat jele. Sajátságos, nem egyértelmű mikorrhiza-képzési tulajdonságokat más aszkuszos gomba esetében is leírtak már (pl. Buscott és Kottke 1990), és a fakultatív mikorrhiza képzés sem kizárható.

További *in vitro* vizsgálatokhoz a *Helianthemum ovatum*-*Terfezia terfezioides* rendszer jól használható modellnek tűnik. A növény kis mérete miatt könnyen kezelhető steril körülmények közt, így más tápanyagok (mint például a kritikus cukor tartalom) változásának hatásának további tanulmányozására megfelelő. Hosszabb időskálán végzett kísérleteken túl, a *Robinia pseudo-acacia* mellett eddig hipotetikusán megjelölt potenciális gazdanövényeket is érdemes lenne a kísérletekbe bevonni. Remélhetőleg ezek a vizsgálatok tisztázni fogják a homoki szarvasgomba növényekkel alkotott interakciójának – egyelőre – kérdéses jellemzőit.

Ellentétben a *Terfezia* nemzetség mikorrhiza anatómiájának ellentmondásos, gyakran pontatlan adataival, számos *Tuber* ektomikorrhiza pontos anatómiai jellemzését végezték már el (Blaschke 1987, Rauscher és mtsai. 1995, Müller és mtsai. 1996a, 1996b, Rauscher és mtsai. 1996, Comandini és Pacioni 1997, Giomaro és mtsai. 2000) és a gazdasági jelentősége miatt a nemzetség molekuláris módszerekkel is erősen kutattott. A jelen vizsgálatokban a lelőhelyre vonatkozó termőtest adatok alapján *Tuber rapaeodorum* által képzettnek feltételezett mikorrhizáról egyértelműen kiderült a molekuláris jellemzések alapján, hogy valóban ezen taxon ektomikorrhizájáról van szó. A morfológiai eredmények szerint az ektomikorrhiza megkülönböztethetetlen a *Tuber borchii* által képzett ektomikorrhizától (Rauscher és mtsai. 1996). Mindkét faj cisztidái hasonló méretűek és morfológiájúak, köpenyük egyaránt pseudoparenchimatikus-epidermoid amit egy hifahálózat borít. Az eddig részletesen jellemzett egyéb *Tuber* mikorrhizáktól megkülönböztethető morfológiai alapon is, hiszen azokra gyakran más anatómiájú cisztidák vagy köpeny jellemző, és a felszínen futó hifahálózat ilyen cisztidákkal ritka karakter.

A *Tuber rapaeodorum* ITS szakaszának az ITS1F-ITS4 primer párral való PCR amplifikációja nem általános a *Tuber* fajok körében. A *Tuber aestivum* Vitt és *Tuber uncinatum* Ch. esetében nem tudták felszaporítani az ITS-t (Henrion és mtsai. 1994), igaz az előző fajnál később sikerült (Lanfranco és mtsai. 1995).

A *Tuber* fajok molekuláris módszerekkel is megerősített pontos taxonómiája nem csupán alapkutatási szempontokból lényeges, hanem piaci értékük miatt fogyasztóvédelmi szempontból is fontos, hogy az alacsonyabb gasztronómiai értékkel bíró fajok termőtesteit egyértelműen meg lehessen különböztetni morfológiai alapon nagyon hasonló fajoktól. Több szarvasgomba esetében ezért faj specifikus ITS PCR primereket terveztek mint például a *Tuber melanosporum* Vitt., *Tuber brumale* Vitt., *Tuber indicum* (Rubini és mtsai. 1998) és *Tuber borchii* Vitt. (Bertini és mtsai. 1998) esetében. A pontos azonosítás természetvédelmi vonatkozásai miatt is fontos lehet, hiszen míg egyes *Tuber* fajok árusíthatóak, gyűjthetőek, addig mások egyáltalán nem. Például a *Tuber borchii* Magyarországon a tervezett védelmi szabályozások alapján árusítható (Rimóczi és mtsai. 1999) Sok szarvasgombáról nincsenek megbízható magyarországi elterjedési adataink, hiszen a gyűjtők, piaci értékesítők szigorúan titokban tartják mind a lelőhelyeket, mind a mennyiségi adatokat. Molekuláris adatbázis segítségével mikorrhiza szinten viszont pontosítani lehetne előfordulásuk gyakoriságát.

Az aszkuszos gombák általános mikorrhiza képzése mellett, egyes bazídiumos gomba csoportok is általános mikorrhizaképzők mérsékelt égövi területeken, mint például a Thelephoraceae család egyes fajai. Annak ellenére, hogy a tomentelloid *sensu* Köljalg (Köljalg és mtsai. 2000) fajok általános elterjedése termőtestképzésük alapján régóta tudott, mikorrhizák szintjén molekuláris módszerekkel kevés esetben igazolták generális előfordulásukat (Köljalg és mtsai. 2000, 2001). Magyarországi élőhelyeken való állandó jelenlétük morfológiai alapon már ismert volt korábban és három *Tomentella* faj mikorrhizáját külföldi laborokban molekuláris módszerekkel azonosították (Köljalg és mtsai. 2001). Az alföldi erdőkből származó morfológiai alapon a tomentelloid csoportba sorolt ektomikorrhizákról a molekuláris eredmények egyértelműen igazolták, hogy valóban a *Tomentella* nemzetséghez tartozó gombák képezték őket. A HU 86-os sorszámú minta minden bizonnyal a *Tomentella stuposa* faj által képzett ektomikorrhiza, viszont a többi három minta esetében a faji hovatartozás az eredmények alapján csak

valószínűsíthető. Ennek a fajnak ez a második mikorrhizaképzésre vonatkozó megbízható adata, először svédországi fenyőerdőkben bizonyították mikorrhizaképzését (Köljalg és mtsai. 2000). Az, hogy a mikorrhizákat feltehetően formáló *Tomentella stiposa* faj északi területeken és magyarországi, alföldi erdőkben egyaránt előfordul, és gyökérkapcsolatot létesít, jól mutatja a generális előfordulását a gombának. Biztosan elmondható, hogy ez a korábban sokáig szaprotrófnak gondolt gombacsoport, jelentős mikorrhizaképző nem csak a skandináv, de magyarországi területeken is. A molekuláris vizsgálatokhoz kapcsolódó részletes morfológiai jellemzés remélhetőleg elég adatot fog szolgáltatni ahhoz, hogy a csoport változatos anatómiájú fajaival ektomikorrhiza karakterevolúciós problémákra próbáljunk hipotéziseket lehessen felállítani.

Az ITS szekvenciákkal végzett számítások során a közös területről és gazdanövényről származó ektomikorrhizák szétváltak. Nem zárható ki, hogy ITS szekvenciák szintjén is megmutatkozó gazdanövénytől és területtől függő szétválás jelentkezzen, mint a *Pisolithus tinctorius* esetében találták (Diez és mtsai. 2001), további adatok alapján ez a feltételezés vizsgálható lesz.

A kapott eredmények és a fa topológiája összhangban van azokkal az eredményekkel, melyeket eddig közöltek a csoport rendszeréről. Már morfológiai alapon jelezték taxonómiai munkákban, hogy a *Tomentella* nemzetség valószínűleg nem monofiletikus (Corner 1968, Köljalg 1996), és ezt a feltételezést a későbbi molekuláris filogenetikai számítások is igazolták (Köljalg és mtsai. 2000).

5. Összefoglalás

Dolgozatomban az alföldi területek mikorrhizáira irányuló a munkáimat mutattam be. A vizsgálatok során két különböző növénytársulás, összesen 138 növényfajának mikorrhizálságát és gyökérendogén gombastruktúráit jellemeztük. Vizsgáltuk az egyik területen élő gombafaj ITS szakaszának variabilitását, részletes anatómiai jellemzését adtuk egy páfrányfaj arbuszkuláris és egy törpecserje faj két ektomikorrhizájának, egy gombafajnak *in vitro* körülmények között két növénnyel alkotott gyökérkapcsolatának részletes anatómiai vizsgálatát végeztük el, és alföldi erdőkből származó ektomikorrhizákat jellemeztünk és azonosítottunk anatómiai és molekuláris módszerekkel.

Az egyik részletesen vizsgált terület a kunfehértói erdő volt, ahol 49 növényfaj mikorrhizálságának kvalitatív és kvantitatív jellemezése készült el, melyek közül több faj esetében ezek voltak az első mikorrhizálsági adatok. A területen relatíve magas volt a nem-mikorrhizált növényfajok aránya, de figyelembe véve a társulások cönológiai viszonyait, egyértelműen mikorrhizált növények dominálnak az élőhelyen.

Az erdőben jelentős állománya él a homoki szarvasgombának (*Terfezia terfezioides*), a státuszvizsgálatok során 12 növényfajt jelöltünk meg, mint a gomba hipotetikus partnernövényét. Hangsúlyozni kell azonban, hogy a módszerek miatt a gazdanövények biztos azonosításához további molekuláris módszerekkel végzett vizsgálatok szükségesek.

A területről gyűjtött 19, és egy Olaszországból származó *Terfezia terfezioides* termőtest ITS szakaszának RFLP és szekvencia szintű vizsgálatai, ellentétben más *Terfezia* fajok ugyanezen génszakaszának intaspecifikus variációjával, az ITS régió teljes homogenitását mutatják, nagy földrajzi távolságok esetén is. Ez a tulajdonság lehetővé teszi a szakasz megbízható molekuláris markerként való használatát és fajspecifikus PCR primerek tervezésével a természetes gazdanövények azonosítását.

A kunfehértói erdőben élő szigorúan védett virgíniai holdruta (*Botrychium virginianum*) sporofiton mikorrhizáinak részletes fény- és elektron-mikroszkópos tanulmányozása egyértelműen igazolta, hogy a faj arbuszkuláris mikorrhizát képez. Az arbuszkulum morfológiája eltér a korábban az Ophioglossaceae családból leírt speciális

formáktól, robusztus, lebeny-szerű megjelenése fosszilis arbuszkulumokra emlékeztet. A mikorrhiza típusa egyedi, nem illeszthető a két fő forma (*Arum*- és *Paris*-típus) egyikébe sem.

Az ultrastruktúra vizsgálatok egyértelműen igazolják *Botrychium virginianum* sporofiton gyökerében lévő arbuszkulumok széntranszportban játszott fontos szerepét, mely elmélet szintjén nem általánosan elfogadott. Ez az első, a *Botrychium* nemzetség valamely fajának sporofitonjára vonatkozó részletes, ultrastruktúrára is vonatkozó eredményeket bemutató mikorrhiza vizsgálat.

A másik részletesen vizsgált terület a fülöpházi homokbuckás gyepek volt, ahol 89 növényfaj részletes mikorrhizáltsági vizsgálatát végeztük el, szintén figyelve az egyéb – elsősorban a DS gombák által képzett – gyökérendogén struktúrákra. Hasonlóan a kunfehértói területhez, ezen növények esetében is becsültük a kolonizáció intenzitását és kiterjedtségét. A nem-mikorrhizált növényfajok időbeli és bizonyos térbeli elkülönülésére lehetett következtetni a cönológiai, növényökológiai adatok alapján.

Mindkét területen nagy gyakorisággal kolonizálták a gyökereket a „sötét, szeptált” hifájú gombák struktúrái. Ez a tény megerősíti azt a hipotézist, hogy a gombacsoport gyakorisága, jelentősége összefügg a stresszel.

A fülöpházi gyepekben élő ékes napvirág (*Helianthemum ovatum*) két természetes azonosítatlan ektomikorrhizáját jellemeztük részletesen. A gombapartner mind a „*Helianthemirrhiza hirsuta*”, mind a „*Helianthemirrhiza latihypha*” esetében aszkuszos gomba (ezt a molekuláris eredmények is alátámasztják). Ezen eredmények az első részletes jellemzése egy *Helianthemum* faj ektomikorrhizájának.

A kunfehértói területről izolált *Terfezia terfezioides* szövettenyészetekkel *in vitro* kísérletekben vizsgáltuk a gomba interakcióját *Robinia pseudoacacia* és a fülöpházi területről származó *Helianthemum ovatum* növényekkel. A gyökerek kolonizációjának erőssége pozitív összefüggésben volt a tápközeg foszfátkoncentrációjával. A gomba intracelluláris hurkokat képző jellegzetes hifái minden esetben halott gazdasejtekben fordultak elő. Egyes struktúrák a növény védekező reakcióit is mutatták. Hartig-háló szerű struktúrák megfigyelhetőek voltak a *Helianthemum ovatum* esetében – az akácnál az intercelluláris hifák egyszerű lefutásúak voltak. Az eredmények alapján megkérdőjelezhető a *Terfezia terfezioides* tisztán mikorrhizás viselkedése.

Az alföldi erdők ektomikorrhizáinak vizsgálata során gyűjtött *Tuber rapaeodorum* ektomikorrhizája anatómiai jellemzők alapján nem különíthető el a *Tuber borchii* ektomikorrhizájától, viszont az elvégzett ITS szekvencia vizsgálatok kiértékelése során a két faj egyértelműen szétvált, és ez lehetővé tette a mikorrhizák biztos azonosítását.

Az alföldi erdőkben gyűjtött négy tomentelloid mikorrhiza ITS szekvenciáján alapuló molekuláris vizsgálat lehetővé tette a mikorrhizák azonosítását, és ezek alapján feltételezhető, hogy a mikorrhizákat a *Tomentella stuposa* faj képezte. A különböző minták szekvenciái területek illetve gazdanövények alapján rendeződtek csoportokba, de ennek a tisztázásához további adatokra van szükség.

Ezek, és a fentebb említett eredmények Magyarországon az első olyan vizsgálatok, melyekben DNS szekvencián alapuló módszerekkel történt meg ektomikorrhizák jellemzése, azonosítása.

6. Summary

Most of the vascular plants are mycorrhizal, and the influence of this mutualistic interaction on the nutrient uptake of the plants or on the plant community structure is generally known (Allen 1992, Smith and Read 1997, Varma and Hock 1998). Although the mycorrhizal status of lots of plants has been investigated, because of the high variability of this character at all organization levels, more information is needed to complete our knowledge on the distribution of the different types of this association (Harley and Harley 1987, Read et al. 1992).

The vegetation of the Great Hungarian Plain has been well studied, but the mycorrhizal status of the species of the plant communities in this area has been poorly investigated. Some plants of its sandy grasslands have been studied regarding their mycorrhizae (Parádi et al. 1998, Bratek 2000) and ectomycorrhizae have been described from some woody plants of the area (Jakucs 1997, Jakucs et al. 1999, Magyar et al. 1999, Majoros 2000).

The main purposes of the works presented in this thesis were to obtain data regarding the mycorrhizae of plant-communities on the Great Hungarian Plain. Mycorrhizal status studies, detailed anatomical, ultrastructural, molecular studies and *in vitro* experiments were carried out during the work.

A mixed deciduous forest by Kunfehértó was one of the studied area where we wanted to check the mycorrhizal status of the plants. This sampling area is protected as the red-list fern *Botrychium virginianum* lives there. Roots of forty-nine plant species were collected and their endogenous fungal structures were described. The rate of the endomycorrhizal colonisation was estimated and the colonisation type was determined. 78 % of the plant species were mycorrhizal.

As the sampling area was a habitat of *Terfezia terfezioides* we looked for characteristic endogenous structures of this fungus and twelve plant species were considered as the mycorrhizal partner of *Terfezia terfezioides*.

The internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) with the 5.8S gene of the nuclear ribosomal DNA (rDNA) of *Terfezia terfezioides* were studied to test the variability of this region. The ITS region of twenty fruitbodies originating from the forest by Kunfehértó and Italy were studied and compared. The amplification and sequencing of the ITS region

was successful with the *ITS1F-ITS4* primer pair. No differences of the restriction fragment length polymorphism (RFLP) profiles were detected among 19 samples collected in one place (Kunfehértó) at the same time. The sequences of ITS region are also highly invariable. These results indicate an intraspecific homogeneity of the ITS region which seems to be an important species-specific characteristic of *Terfezia terfezioides* in contrast to other *Terfezia* species studied previously. If we compare the ITS data of the samples collected from different and distant localities of the European area of the species, we can consider that the ITS sequence of *Terfezia terfezioides* is a very conservative, reliable molecular marker of the fungus.

The mycorrhizal structures of the sporophytes of the red-list fern *Botrychium virginianum* originated from this forest have been studied by light and electron microscopy. The characteristics of the mycorrhiza have been compared with the general features of the arbuscular mycorrhizae and also with the previously described mycorrhizae of the sporophytes from the family Ophioglossaceae. The fungal colonization is restricted to two-three cell layers of the root cortex. The sometimes dichotomously ramifying hyphae form coils in the host cells. Single hyphae arise from the coils and penetrate to neighbouring cells and form arbuscules. The ultrastructure of the non-septate colonizing hyphae shows the main features of the arbuscular mycorrhizal fungi. The electronmicrographs show high functional activity of the arbuscules characterised by high glycogen content in the hyphae, thin layer of filamentous matrix material in the interface between fungus and root cell, frequent cell organelles in the cytoplasm and lack of starch in the host cells containing arbuscules. The main distinctive feature of the mycorrhizae of *Botrychium virginianum* is the morphology of the arbuscules, which differs not just from the common fine-branched ones, but also from the special structures reported previously from the Ophioglossaceae. The robust, lobe-like branching arbuscules mostly resemble the arbuscule structures found in fossils. The work presented here is the first ultrastructural study of the mycorrhiza of the sporophyte of the genus *Botrychium*.

The second sampling place was a strictly protected sandy grassland area of the Great Hungarian Plain. The mycorrhizae and other root-associated fungal structures of 87 plant species belonging to 29 different families were investigated. Two-thirds of the studied species formed endomycorrhizae. Quantitative characteristics of the mycorrhizal colonization of their roots have been estimated. Considering the coenological features and

the dominance relations of the plant community, the area is dominated by mycorrhizal plants. Just a few plants of the families considered as non-mycorrhizal groups have been colonized by mycorrhizal fungi. The annual species characteristic to the cold-season subpessimum and to the dry-season subpessimum period are mostly non-mycorrhizal plants, this seems to be some separation from the mycorrhizal plants in time. Endogenous septate fungal hyphae and microsclerotium-like structures have been observed in the roots of the majority of the plants; this phenomenon is probably related to the stressful environment.

Two dwarf shrub species of the family Cistaceae live on this grassland. One of them is *Fumana procumbens* from which two ectomycorrhizae were described previously (Jakucs et al. 1999, Magyar et al. 1999). We wanted to study the second one – *Helianthemum ovatum* – to check whether this species formed same mycorrhizae like *Fumana*. The other reason to study this plant is the mycorrhizal connection of some *Terfezia* species with plants from the genus *Helianthemum*. Two non-identified ectomycorrhizae of *Helianthemum ovatum* have been described originating from this area. „*Helianthemirhiza hirsuta*” and „*Helianthemirhiza latihypha*” have interesting characteristics resembling some ectomycorrhizae formed by ascomyceteous fungi. Based on some dolipore-like structures „*Helianthemirhiza hirsuta*” was considered as formed by basidiomyceteous fungus (Kovács and Jakucs 2001) but later the molecular results clarified the ascomyceteous partner; the dolipore like structures probably were the Woronin-bodies around the septa. These two detailed descriptions are the first comprehensive characterization of ectomycorrhizae from the genus *Helianthemum*.

To study the interactions of *Terfezia terfezioides* with plants in vitro experiments were carried out with a fungal strain isolated from fruitbodies originating from Kunfehértó. The main aims of experiments were to study the anatomy and ultrastructure of the interaction of *Terfezia terfezioides* with *Robinia pseudo-acacia* and *Helianthemum ovatum*, the seeds of the latter were collected at Fülöpháza. The aseptic experiments were carried out on modified MMN substrates with different phosphate concentrations to check whether the phosphate had influence on the interactions like in the case of other *Terfezia* species described previously. No difference between the inoculated and control plants was detected during the short time of the experiments. The colonization of the roots increased as the phosphate level increased. The colonization of the roots of black locust was always



weaker than of *Helianthemum*. The main characteristics were the intracellular coiled, branched, frequently septated hyphae in dead root cells. The intercellular hyphae formed Hartig-net with finger like structures in *Helianthemum*. In black locust the intercellular hyphae did not show any distinctive feature. The hyphae mass covering the root surfaces was ambiguous mantle as its contact to the root was not strong and it covered non-colonized roots, too. Although the intercellular structures show the main characteristics described previously about different *Terfezia* mycorrhizae, which structure is supposed to distinguish itself as “terfezioid” type, the interactions could not be considered unambiguously as mycorrhizae.

The anatomical and molecular characteristics of the ectomycorrhiza of *Tuber rapaeodorum* collected during the study of the natural ectomycorrhizae of the forest on Graet Hungarian Plain were studied. The mycorrhiza had the same anatomical features like the mycorrhiza of *Tuber borchii*, like the pseudoparenchymatic epidermoid mantle, hyphal network on the surface of the mycorrhiza and straight cystidas. The ITS region of two mycorrhizae were sequenced and compared with ITS sequences from the Genbank by phylogenetical analysis. The sequences of the mycorrhizae separated unambiguously from the *Tuber borchii* group and grouped with the sequence of *Tuber rapaeodorum*.

The ITS region of the fungal partner of four ectomycorrhizae collected in the project mentioned above from forests on The Great Hungarian Plain were sequenced and analysed to determine the fungal taxon. Based on morphological features they were considered as the mycorrhizae of tomentelloid *sensu* Kõljalg (Kõljalg et al. 2000) fungi. The sequences grouped into the group of *Tomentella stiposa*, but the four sequences separated by the collection area and the host plant.

The molecular results mentioned above are the first characterisations of ectomycorrhizae in Hungary based on fungal DNA sequences.

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton is szeretném megköszönni Zsuzsinak szerető gondoskodását és türelmét, mellyel mindvégig mellettem állt munkáim során. Szeretném megköszönni Szüleimnek, Családomnak és Barátaimnak, hogy a munkám során mindvégig számíthattam segítségükre.

Szeretném megköszönni dr. Jakucs Erzsébet témavezetőmnek a doktori kutatásaimban nyújtott sok segítségét és azt, hogy bevezetett a mikorrhizák csodálatos világába.

Szeretném megköszönni *sensu stricto* alma materem, a SZTE Növénytani Tanszék minden munkatársának nem csak a doktori éveimet, hanem azt a több mint hat évet, melyet az intézetben töltöttem. Külön köszönöm dr. Bagi Istvánnak a sok segítséget, melyet nemcsak mint témavezető, kolléga, hanem mint barát is nyújtott. Szintén nagy hálával tartozom dr. Mihalik Erzsébet tanszékvezetőnek, témavezetőmnek, hogy munkámhoz minden rendelkezésre álló feltételt biztosított, és hogy munkámat szabadon végezhettem. Külön köszönöm Porkoláb Erzsébetnek számos labor munkában a precíz technikai segítségét.

Szeretném megköszönni a SZTE Mikrobiológiai Tanszékén dr. Kevei Ferenc tanszékvezetőnek, hogy munkámat végezhettem az intézetben. Különösen szeretném megköszönni dr. Vágvölgyi Csabának a sok segítséget és azt, hogy laborjában végezhettem munkáimat, továbbá köszönöm minden tanszéken dolgozó embernek azt a sok tanácsot és segítséget, melyet a molekuláris biológia területén végzett munkáim során nyújtottak.

Szeretném megköszönni a SZTE Ökológiai Tanszékének a technikai segítségeket, külön köszönöm dr. Péntes Zsolt és Szigetvári Csaba barátaimnak a rengeteg segítséget, bátorítást, tanácsot, és közös munkát.

Ezúton is szeretném megköszönni azoknak az egykori tanárainak a segítségét, akikhez bármikor fordulhattam tanácsért, vagy éppen anyagokért, műszerekért.

Köszönettel tartozom Prof. José Luis Manjónnak és Jesús Díeznek (Alcalá de Henaresi Egyetem, Spanyolország), hogy bekapcsolódhattam munkáikba és betekintést kaphattam a molekuláris és *in vitro* mikorrhiza munkákba.

Köszönöm Prof. Reinhard Agerernek (Ludwig-Maximilian Egyetem, München), hogy két alkalommal is dolgozhattam laborjában, és bármikor számíthattam segítségére.

Köszönöm Prof. Ingrid Kottkénak és Prof. Franz Oberwinklernek (Tübingeni Egyetem, Németország), hogy minden feltételt és segítséget biztosítottak ahhoz, hogy az intézetükben töltött idő alatt elvégezhessem vállalt munkámat. Szeretném megköszönni Vánky Kálmán barátomnak azt a sok segítséget, amit tübingeni tartózkodásom alatt Tőle kaptam.

Ezúton is szeretném megköszönni a Móra Ferenc Kollégium mindenkori vezetésének, különösen Erdélyi Ágnes igazgatónőnek, hogy a doktori éveim alatt a Mórában élhettem.

Végül, de egyáltalán nem utolsó sorban, szeretném megköszönni jelenlegi munkahelyemen, az MTA Állatorvostudományi Kutatóintézetében dr. Harrach Balázsnak és dr. Benkő Máriának, hogy a fokozatszerzés folyamatában támogattak, és minden feltételt biztosítottak ahhoz, hogy megírhasam, befejezhessem dolgozatomat.

A doktori munkám során külföldi és belföldi tanulmányútajaimat, és a kutatások egyes költségeit anyagilag támogatta a SZTE TTK HÖK, a Prudentia Alapítvány, az ERASMUS, a Soros Alapítvány, a Kiskunsági Nemzeti Park, a Baden-Württemberg Tartomány kulturális ügyekért felelős minisztériuma és az OTKA.

8. Irodalom

- Agerer, R. 1991. Characterization of ectomycorrhiza. In: Norris, J. R., Read, D. J., Varma, A. K. (szerk.) Techniques for the study of mycorrhiza. Methods Microbiol. 23: 25-73.
- Allen, M. F. 1991. The ecology of mycorrhizae. Cambridge University Press.
- Allen, M. F. (szerk.) 1992. Mycorrhizal functioning. Chapman and Hall, New York, London.
- Allen, E. B. & Allen, M. F. 1984. Competition between plants of different successional stages: mycorrhizae as regulators. Can. J. Bot. 62: 2625-2629.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., Lipman, D. J. 1990. Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol. 215: 403-410.
- Alsheikh, A. 1984. Mycorrhizae of annual *Helianthemum* species formed with desert truffles. Proceedings of 6th North American Conference on Mycorrhizae, Oregon State University, Corvallis.
- Alsheikh, A. M., Trappe, J. M. 1983. Taxonomy of *Phaeangium lefebvrei*, a desert truffle eaten by birds. Can. J. Bot. 61: 1919-1925.
- Aviram, S., Roth-Bejerano, N., Kagan-Zur, V. 2000a. Phylogenetic relations between isolates of several *Terfezia* species. NCBI GenBank. AF301420 és AF301422.
- Aviram, S., Roth-Bejerano, N., Kagan-Zur, V. 2000b Two ITS forms within a single hypha of *Terfezia boudieri* strain. NCBI GenBank. AF301418 and AF301419.
- Awamah, M. S., Alsheikh, A. 1979. Laboratory and field study of four kinds of truffle (Kamah), *Terfezia* and *Tirmania* species, for cultivation. Mushroom Sci. 10: 507-517.
- Awamah, M. S., Alsheikh, A., Al-Ghawas, S. 1979. Mycorrhizal synthesis between *Helianthemum ledifolium*, *H. salicifolium* and four species of the genera *Terfezia* and *Tirmania* using ascospores and mycelial cultures obtained from ascospore germination. 4th North American Conference on Mycorrhizae, Abstracts, Colorado State University, Fort Collins.
- Babos, M. 1981. A fehér szarvasgomba és a homoki szarvasgomba elterjedése Magyarországon. Mikol. Közl. 20: 47-56.

- Bagi, I. 1996. A JATE Növényzeti Tanszéke cönológiai és botanikai kutatásai a KNP-ben, 1984-1995. In: Tóth K. (szerk.) 20 éves a Kiskunsági Nemzeti Park 1975-1995. Kecskemét, pp. 133-146.
- Bagi, I. 1998. A *Botrychium virginianum* (L.) Sw. kunfehértói állományának eredetéről. *Kitaibelia* 3: 199-208.
- Bagi, I. 2000. A *Cleistogenes serotina* inváziójának dokumentumai a Kiskunsági Nemzeti Park "Fülöpházi homokbuckák" UNESCO bioszféra-rezervátum magterületein, 1975–1999. In: Virágh, K. & Kun, A. (szerk): *Vegetáció és dinamizmus*, MTA ÖBKI, Vácrátót, pp. 147-156.
- Bago, B. 2000. Putative sites for nutrient uptake in arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 226: 263-274.
- Barni, E., Siniscalco, C. 2000. Vegetation dynamics and arbuscular mycorrhiza in old-field successions of the western Italian Alps. *Mycorrhiza* 10: 63-72.
- Berch, S. M., Kendryck, B. 1982. Vesicular-arbuscular mycorrhizae of Southern Ontario ferns and fern-allies. *Mycologia* 74: 769-776.
- Bertini, L., Agostini, D., Potenza, L., Rossi, I., Zeppa, S., Zambonelli, A., Stocchi, V. 1998. Molecular markers for the identification of the ectomycorrhizal fungus *Tuber borchii*. *New Phytol.* 139: 565-570.
- Biró, M., Molnár, Zs. 1998. A Duna-Tisza köze homokbuckásainak tájtípusai, azok kiterjedése, növényzete és tájtörténete a 18. századtól. *Történelmi Földrajzi Tanulmányok*, Nyíregyháza, pp. 30-34.
- Blaschke, H. 1987. Vorkommen und Charakterisierung der Ektomykorrhizaassoziation *Tuber puberulum* mit *Picea abies*. *Z. Mykol.* 53: 283-288.
- Blaschke, H. 1991. Multiple mycorrhizal associations of individual calcicole host plants in the alpine grass-heath zone. *Mycorrhiza* 1: 31-34.
- Blaszkowski, J. 1994. Arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) of the Hel Peninsula, Poland. *Mycorrhiza* 5: 71-88.
- Bledsoe, C., Klein, P., Bliss, L. C. 1990. A survey of mycorrhizal plants on Truelove Lowland, Devon Island, N.W.T., Canada. *Can. J. Bot.* 68: 1848-1856.

- Bonfante, P. 2001. At the interface between mycorrhizal fungi and plants: the structural organization of cell wall, plasma membrane and cytoskeleton. In: Hock, B. (szerk.) *Mycota IX. Fungal Associations*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 45-61.
- Bonfante, P., Perotto, S. 1995. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytol.* 130: 3-21.
- Bonfante-Fasolo, P. 1984. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In: Powel, C. L., Bagyaraj, D. J. (szerk.) *VA Mycorrhiza*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 5-33.
- Borhidi, A., Sánta, A. (szerk.) 1999. *Vörös könyv Magyarország növénytársulásairól. TermészetBÚVÁR Alapítvány Kiadó, Budapest.*
- Boullard, B. 1957. La mycortophie chez les ptéridophytes. Sa fréquence, ses caractères, sa signification. *Le Botaniste* 41: 5-185.
- Boullard, B. 1979. Considération sur la symbiose fongique chez les Ptéridophytes. *Syllogeus* 19: 1-59.
- Bratek, Z., Jakucs, E., Bóka, K., Szedlay, Gy. 1996. Mycorrhizae between black locust (*Robinia pseudoacacia*) and *Terfezia terfezioides*. *Mycorrhiza* 6: 271-274.
- Bratek, Z. 2000. Mikorrhiza-kapcsolatok élettani, morfológiai és ökológiai jellemzése. PhD értekezés. ELTE, Növényélettani Tanszék, Budapest.
- Bruns, T. D., Gardes, M. 1993. Molecular tools for the identification of ectomycorrhizal fungi-taxon-specific oligonucleotid probes for suilloid fungi. *Mol. Ecol.* 2: 233-242.
- Bruns, T. D., Szaro, T. M., Gardes, M., Cullings, K., Pan, J. J., Taylor, D. L., Horton, T. R., Kretzer, A. M., Garbelotto, M., Li Y. 1998. A sequence database for the identification of ectomycorrhizal basidiomycetes by phylogenetic analysis. *Mol. Ecol.* 7: 257-272.
- Burgeff, H. 1938. Mycorrhiza. In: Verdoorn, F. (szerk) *Manual of Pteridology*. Nijhoff, The Hague, pp. 159-196.
- Buscot, F., Kottke, I. 1990. The association of *Morchella rotunda* (Pers.) Boudier with roots of *Picea abies* (L.) Karst. *New Phytol.* 116: 425-430.
- Camacho, F. J., Trappe, J. M. 1998. DNA examination of the root fungal community of pumice grape fern, *Botrychium pumicola*. 2nd International Conference on Mycorrhizas, Abstracts, Uppsala, Sweden.

- Cano, A., Honrubia, M., Molina-Niñirola, C. 1991. Mycorrhizae in semiarid ecosystems: synthesis of mycorrhizae between *Terfezia claveryi* Chat., *Picoa juniperi* Vit. and *Helianthemum almeriense* (Cistaceae). 3rd European Symposium on Mycorrhizas, Abstracts, Sheffield, United Kingdom.
- Comandini, O., Pacioni, G. 1997. Mycorrhizae of asian black truffles, *Tuber himalayense* and *T. indicum*. Mycotaxon 63: 77-86.
- Corkidi, L., Rincón, E. 1997. Arbuscular mycorrhizae in a tropical sand dune ecosystem on the Gulf of Mexico. I. Mycorrhizal status and inoculum potential along a successional gradient. Mycorrhiza 7: 9-15.
- Corner, E. J. H. 1968. A monograph of *Thelephora* (Basidiomycetes). Beihefte zur Nova Hedwigia 27: 1-110.
- Csikó, J. 1997. A *Botrychium virginianum* (L.) Sw. fitocönológiai és ökológiai vizsgálat a kunfehértói holdrutás erdőben. Kitaibelia 2: 56-68.
- Danielson, R. M. 1982. Taxonomic affinities and criteria for identification of the common ectendomycorrhizal symbionts of pines. Can. J. Bot. 60: 7-18.
- Danielson, R. M. 1984. Ectomycorrhiza formation by the operculate discomycete *Sphaerospora brunnea* (Pezizales). Mycologia 76: 454-461.
- de Lisle, D. G. 1963. Taxonomy and distribution of the genus *Cenchrus*. Iowa St. J. Sci. 37: 259-351.
- Dexheimer, J., Gerard, J., Leduc, J-P., Chevalier, G. 1985. Étude ultrastructurale comparée des associations symbiotiques mycorrhiziennes *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia claveryi* et *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia leptoderma*. Can. J. Bot. 63: 582-591.
- Dhillon, S. S., Vidiella, P. E., Aquilera, L. E., Friese, C. F., De Leon, E., Armesto, J. J., Zak, J. C. 1995. Mycorrhizal plants and fungi in the fog-free Pacific coastal desert of Chile. Mycorrhiza 5: 381-386.
- Díez, J., Martín, F., Manjón, J. L. 1998. Molecular phylogeny of mycorrhizal desert truffles based on the ITS and 18S sequences of the nuclear rDNA. 2nd International Conference on Mycorrhiza, Abstracts, Uppsala, Sweden.
- Díez, J., Anta, B., Manjón, J. L., Honrubia, M. 2001. Genetic variability of *Pisolithus* isolates associated with native hosts and exotic eucalyptus in the western Mediterranean region. New Phytol. 149: 577-587.
- Fekete, G., Tóthmérész, B. 1993. Vegetation science in Hungary. J. Veg. Sci. 4: 279-282.

- Fekete, G., Tuba, Z., Précésényi, I. 1995. Application of three approaches to evaluate abundance and rarity in a sand grassland community. *Coenoses* 10: 29-38.
- Felsenstein, J. 1989. PHYLIP – Phylogeny Interference Package (Version 3.2). *Cladistics* 5: 164-166.
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Interference Package) version 3.5c. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- Filatov, D. 2001. Processor of sequences manual. University of Birmingham.
- Fontenla, S., Puntieri J., Ocampo, J. A. 2001. Mycorrhizal associations in the Patagonian steppe, Argentina. *Plant and Soil* 233: 13-29.
- Fortas, Z., Chevalier, G. 1992. Effet des conditions de culture sur la mycorrhization de l'*Helianthemum guttatum* par trois espèces de terfez des genres *Terfezia* et *Tirmania* d'Algérie. *Can. J. Bot.* 70: 2453-2460.
- Francis, R., Read, D. J. 1995. Mutualism and antagonism in the mycorrhizal symbiosis, with special reference to impacts on plant community structure. *Can. J. Bot.* 73: S1301-S1309.
- Frank, A. B. 1885. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 3: 128-145.
- Gallaud, J. 1905. Études sur les mycorrhizes endotrophes. *Rev. Gen. Bot.* 17: 1-500.
- Gandebouf, D., Dupré, C., Roeckel-Drevet, P., Nicolas, P., Chevalier, G. 1997. Typing *Tuber* ectomycorrhizae by polymerase chain amplification of the internal transcribed spacer of rDNA and the sequence characterized amplified region markers. *Can. J. Microbiol.* 43: 723-728.
- Gardes, M., Bruns, T. D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.* 2: 113-118.
- Gardes, M., White, T. J., Fortin, J. A., Bruns, T. D. Taylor, J. W. 1991. Identification of indigenous and introduced symbiotic fungi in ectomycorrhizae by amplification of nuclear and mitochondrial ribosomal DNA. *Can. J. Bot.* 69: 180-190.
- Gardes, M., Dahlberg, A. 1996. Mycorrhizal diversity in arctic and alpine tundra: an open question. *New Phytol.* 133: 147-157.

- Gemma, J. N., Koske, R. E., Flynn, T. 1992. Mycorrhizae in Hawaiian Pteridophytes: occurrence and evolutionary significance. *Am. J. Bot.* 79: 843-852.
- Gianinazzi-Pearson, V., Smith, S. E., Gianinazzi, S., Smith, F. A. 1991. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. V. Is H⁺-ATPase a component of ATP-hydrolysing enzyme activities in plant-fungus interfaces? *New Phytol.* 117: 61-74.
- Giomaro, G., Zambonelli, A., Sisti, D., Cecchini, M., Evangelista, V., Stocchi, V. 2000. Anatomical and morphological characterization of mycorrhizas of five strains of *Tuber borchii* Vittad. *Mycorrhiza* 10: 107-114.
- Giovanetti, M., Nicolson, T. H. 1983. Vesicular-arbuscular mycorrhizas in Italian sand dunes. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 80: 552-557.
- Gottlieb, A. M., Lichtwardt, R. W. 2001. Molecular variation within and among species of Harpellales. *Mycologia* 93: 66-81.
- Grace, C., Stribley, D. P. 1991. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycol. Res.* 95: 1160-1162.
- Grime, J. P., Hodgson, J. G., Hunt, R. 1988. Comparative plant ecology: a functional approach to common British species. Unwin Hyman, London.
- Guerin-Laguette, A., Plassard, C., Mousain, D. 2000. Effects of experimental conditions on mycorrhizal relationships between *Pinus sylvestris* and *Lactarius deliciosus* and unprecedented fruit-body formation of the Saffron milk cap under controlled soilless conditions. *Can. J. Microbiol.* 46: 790-799.
- Hargitai, Z. 1940. Nagykörös növényvilága II. A homoki növényközvetkezetek. *Bot. Közlem.* 37: 205-240.
- Harley, J. L., Harley, E. L. 1987. A check-list of mycorrhiza in the British flora. *New Phytol.* 105: S1-S102.
- Harley, J. L. 1991. Introduction: The state of the art. In: Norris, J. R., Read, D. J., Varma, A. K. (szerk.) *Techniques for the study of mycorrhiza. Methods Microbiol.* 23: 1-23.

- Haselwandter, K., Read, D. J. 1980. Fungal associations of roots of dominant and sub-dominant plants in high-alpine vegetation systems with special reference to mycorrhiza. *Oecologia* 45: 57-62.
- Haselwandter, K., Read, D. J. 1982. The significance of a root-fungus association in two *Carex* species of high-alpine plant communities. *Oecologia* 53: 352-354.
- Henrion, B., Chevalier, G., Martin, F. 1994. Typing truffle species by PCR amplification of the ribosomal DNA spacers. *Mycol. Res.* 98: 37-43.
- Henrion, B., Le Tacon, F., Martin, F. 1992. Rapid identification of genetic variation of ectomycorrhizal fungi by amplification of ribosomal RNA genes. *New Phytol.* 122: 289-298.
- Hopkins, N. A. 1986. Mycorrhizae in a California serpentine grassland community. *Can. J. Bot.* 65: 484-487.
- Ingleby, K., Mason, P. A., Fast, F. T., Fleming, L. V. 1990. Identification of ectomycorrhizas. ITE Res. Publ. 5, HMSO, London.
- Jakucs, E. 1997. Az eddig ismert magyarországi tölgy-mikorrhizák határozókulcsa. *Mikol. Közl.* 36: 35-38.
- Jakucs, E., Agerer, R., Bratek, Z. 1997. "*Quercirhiza fibulocystidiata*" + *Quercus* spec. *Descr. Ectomyc.* 2: 67-71.
- Jakucs, E. 1998. "*Fagirhiza vermiculiformis*" + *Fagus sylvatica* L. *Descr. Ectomyc.* 3: 7-11.
- Jakucs, E., Bratek, Z., Agerer, R. 1998a. *Genea verrucosa* Vitt. + *Quercus* spec. *Descr. Ectomyc.* 3: 19-23.
- Jakucs, E., Bratek, Z., Beenken, L., Agerer, R. 1998b. *Rhizopogon vulgaris* (Vitt.) M. Lange var. *intermedius* Svrcek + *Pinus nigra* Arn. *Descr. Ectomyc.* 3: 111-116.
- Jakucs, E., Agerer, R. 1999a. *Tomentella pilosa* (Burt) Bourdot & Galzin + *Populus alba* L. *Descr. Ectomyc.* 4: 135-140.
- Jakucs, E., Agerer, R. 1999b. *Scleroderma bovista* Fr. + *Populus alba* L. *Descr. Ectomyc.* 4: 121-126.
- Jakucs, E., Beenken, L. 1999. *Russula amoenolens* Romagn. + *Populus alba* L. *Descr. Ectomyc.* 4: 115-119.

- Jakucs, E., Magyar, L., Beenken, L. 1999. *Hebeloma amophilum* Bohus + *Fumana procumbens* (Dun.) Gr. Godr. Descr. Ectomyc. 4: 49-54.
- Jakucs, E., Agerer, R. 2001. *Tomentella subtestacea* Bourdot & Galzin + *Populus alba* L. Descr. Ectomyc. 5: 213-219.
- Johnson, N. C., Wedin, D. A. 1997. Soil carbon, nutrients, and mycorrhizae during conversion of dry tropical forest to grassland. Ecol. Appl. 7: 171-182.
- Jumponen, A., Trappe, J. M. 1998. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. New Phytol. 140: 295-310.
- Kagan-Zur, V., Kuang, J., Tabak, S., Taylor, F. W., Roth-Bejerano, N. 1999. Potential verification of a host plant for the desert truffle *Terfezia pfeilii* by molecular methods. Mycol. Res. 103: 1270-1274.
- Kagan-Zur, V., Raveh, E., Lischinsky, S., Roth-Bejerano, N. 1994. Initial association between *Helianthemum* and *Terfezia* is enhanced by low iron in the growth medium. New Phytol. 127: 567-570.
- Kagan-Zur, V., Holdengraeber, S., Martin, F., Roth-Bejerano, N. 1998. Intraspecific variability of *Terfezia bouderi* ITS region suggests that lobed fruit-bodies could arise from fusion of independent initiation. NCBI GenBank. AF092096, AF092097 és AF092098.
- Kårén, O., Högborg, N., Dahlberg, A., Jonsson, L., Nylund, J-E. 1997. Inter- and intraspecific variation in the ITS region of rDNA of ectomycorrhizal fungi in Fennoscandia as detected by endonuclease analysis. New Phytol. 136. 313-325.
- Kárpáti, I., Kárpáti, V. 1954. The aspects of the calciphilous turf (*Festucetum vaginatae danubiale*) in the environs of Vácrátót in 1952. Acta Bot. Hung. 1: 129-157.
- Kihuchi, K., Matsushita, N., Guerin-Laguette, A., Ohta, A., Suzuki, K. 2000. Detection of *Tricholoma matsutake* by specific ITS primers. Mycol. Res. 104: 1427-1430.
- Király, I., Bratek, Z., Albert, L., Lukács, Z. 1992. A homoki szarvasgomba (*Terfezia terfezioides*). Mikol. Közl. 31: 49-54.
- Koske, R. E., Halvorson, W. L. 1981. Ecological studies of vesicular-arbuscular mycorrhizae in a barrier sand dune. Can. J. Bot. 59: 1413-1422.

- Koske, R. E. 1988. Vesicular arbuscular mycorrhizae of some Hawaiian dune plants. *Pac. Sci.* 42: 217-229.
- Kottke, I., Oberwinkler, F. 1987. Cellular structure and function of the Hartig net: coenocytic and transfer cell-like organization. *Nordic J. Bot.* 7: 85-95.
- Kovács, G. M., Bagi, I. 2001. Mycorrhizal status of a mixed deciduous forest from the Great Hungarian Plain with special emphasis on the potential mycorrhizal partners of *Terfezia terfezioides* (Matt.) Trappe. *Phyton* (in press).
- Kovács, G. M., Jakucs, E. 2001. "*Helianthemirhiza hirsuta*" + *Helianthemum ovatum* (Viv.) Dun. *Descr. Ectomyc.* 5: 49-53.
- Kovács-Láng, E. 1993. Casual community ecology in Hungary. *J. Veg. Sci.* 4: 283-291.
- Kovács-Láng, E., Kröel-Dulay, Gy., Kertész, M., Fekete, G., Mika, J., Dobi-Wantuch, I., Rédei, T., Rajkai, K., Hahn, I., Bartha, S. 2000. Changes in the composition of sand grasslands along a climatic gradient in Hungary and implications for climate change. *Phytocoenologia* 30: 385-407.
- Köljalg, U. 1996. *Tomentella* (Basidiomycota) and related genera in temperate Eurasia. *Synopsis Fungorum* 9. Fungiflora, Oslo.
- Köljalg, U., Dahlberg, A., Taylor, A. S. F., Larsson, E., Hallenberg, N., Stenlid, J., Larsson, K.-H., Fransson, P. M., Kåren, O., Jonsson, L. 2000. Diversity and abundance of resupinate theleporoid fungi as ectomycorrhizal symbionts in Swedish boreal forests. *Mol. Ecol.* 9: 1985-1996.
- Köljalg, U., Jakucs, E., Bóka, K., Agerer, R. 2001. Three ectomycorrhiza with cystidia formed by different *Tomentella* species as revealed by rDNA ITS sequences and anatomical characteristics. *Folia Crypt. Est.* 38: 27-39.
- Kraigher, H., Agerer, R., Javornik, B. 1995. Ectomycorrhizae of *Lactarius lignyotus* on Norway spruce, characterized by anatomical and molecular tools. *Mycorrhiza* 5: 175-180.
- Lanfranco, L., Arlorio, M., Matteucci, A., Bonfante, P. 1995. Truffles. Their life cycle and molecular characterization. In: Stocchi, V., Bonfante P., Nuti, M. (szerk) *Biotechnology of Ectomycorrhizae*. Plenum Press, New York, pp. 139-149.

- Ławrynowicz, M., Marković, M., Milenković, M., Ivančević, B. 1997. *Terfezia terfezioides* – a new hypogeous fungus from Balkan Peninsula. *Acta Mycol.* 32: 233-238.
- Leduc, J. P., Dexheimer, J., Chevalier, G. 1986. Etude ultrastructurale comparée des associations de *Terfezia leptoderma* avec *Helianthemum salicifolium*, *Cistus albidus* et *Cistus salviaefolius*. In: Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S. (szerk) Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Proceedings of the 1st European Symposium on Mycorrhizae, INRA, Paris, pp. 291-295.
- MacDonald, R. M., Chandler, M. R. 1981. Bacterium-like organelles in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus caledonius*. *New Phytol.* 89: 241-246.
- MacDonald, R. M., Chandler, M. R., Mosse, B. 1982. The occurrence of bacterium-like organelles in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 90: 659-663.
- Magyar, L., Beenken, L., Jakucs, E. 1999. *Inocyce heimii* Bon. + *Fumana procumbens* (Dun.) Gr. *Godr. Descr. Ectomyc.* 4: 61-65.
- Magyar, P. 1933. A homokfásítás és növényzozociológiai alapjai. *Erdészeti Kísérletek* 35: 1-89.
- Majoros, É. 2000. A Dél-alföldi homoki fehérnyárasok gyakori ektomikorrhizáinak határozókulcsa. *Mikol. Közl.* 39: 15-20.
- Malloch, D., Thorn, R. G. 1985. The occurrence of ectomycorrhizae in some species of Cistaceae in North America. *Can. J. Bot.* 63: 872-875.
- Mattiolo, O. 1887. Illustrazione di tre nuove specie di Tuberaceae Italiane. *Mem. Reale Accad. Sci. Torino.* 38: 377-392.
- Mejstrik, V. K. 1972. Vesicular-arbuscular mycorrhizas of the species of a *Molinietum coeruleae* L. I. association: the ecology. *New Phytol.* 71: 883-890.
- Mesler, M. R. 1975. The gametophytes of *Ophioglossum palmatum* L. *Am. J. Bot.* 62: 982-992.
- Mesler, M. R. 1976. Gametophytes and young sporophytes of *Ophioglossum crotalophoroides* Walt. *Am. J. Bot.* 63: 443-448.

- Miller, R. M. 1987. The ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae in grass- and shrublands. In: Safir, G. R. (szerk), Ecophysiology of VA mycorrhizal plants. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, pp. 135-170.
- Miller, R. M., Hetrick, B. A. D, Wilson, G. W. T. 1997. Mycorrhizal fungi affect root stele tissue in grasses. *Can. J. Bot.* 75: 1778-1784.
- Moiroud, A., Capellano, A., Bärtschi, H. 1981. Fixation d'azote chez les espèces ligneuses symbiotiques. I. Ultrastructure des nodules, mycorrhizes à vésicules et à arbuscules et activité réductrice de C₂H₂ de jeunes plants de *Robinia pseudoacacia* cultivés au laboratoire. *Can. J. Bot.* 59: 481-490.
- Molina, R. J., Trappe, J. M., Strickler G. S. 1978. Mycorrhizal fungi associated with *Festuca* in the western United States and Canada. *Can. J. Bot.* 56: 1691-1695.
- Molnár, E. 2000. Egy őshonos növényfajunk Duna–Tisza közti elterjedése. In: Virágh, K., Kun, A. (szerk) Vegetáció és dinamizmus. MTA ÖBKI, Vácrátót, pp. 141-146.
- Montecchi, A., Lazzari, G. 1993. Atlante fotografico di funghi ipogei. Associazione Micologica Bresadola, Centro Studio Micologica, Vicenza.
- Morgenstern, E. 1969. Vergleichende lichtoptische Untersuchungen im Rahmen elektronenmikroskopischer Arbeiten an ultradünnen Schnitten. II. Färbemethoden. *Mikroskopie* 25: 250-260.
- Morte, A., Honrubia, M. 1994. Método para la micorrización *in vitro* de plantas micropropagadas de *Helianthemum* con *Terfezia claveryi*. Patent. No. de solicitud: 9402430. University of Murcia, Spain.
- Morte, A., Lovisolo, C., Schubert, A. 2000. Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense*-*Terfezia claveryi*. *Mycorrhiza* 10: 115-119.
- Morte, M. A., Cano, A., Honrubia, M., Torres, P. 1994. *In vitro* mycorrhization of micropropagated *Helianthemum almeriense* plantlets with *Terfezia claveryi* (desert truffle). *Agric. Sci. Finland* 3: 309-314.
- Morte, M. A., Honrubia, M. 1995. Improvement of mycorrhizal synthesis between micropropagated *Helianthemum almeriense* plantlets with *Terfezia claveryi* (desert

- truffle). In: Elliot, T. J. (szerk) Science and cultivation of edible fungi. Balkema, Rotterdam, pp. 863-868.
- Morte, M. A., Honrubia, M. 1997. Micropropagation of *Helianthemum almeriense*. In: Bajaj, Y. P. S. (szerk) Biotechnology in agriculture and forestry, Vol 40, High-tech and micropropagation VI. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg pp. 163-177.
- Muthukumar, T., Udaiyan, K. 2000. Arbuscular mycorrhizas of plants growing in the Western Ghats region, Southern India. *Mycorrhiza* 9: 297-313.
- Müller, W. R., Rauscher, T., Agerer, R., Chevalier, G. 1996a. *Tuber aestivum* Vitt. + *Corylus avellana* L. *Descr. Ectomyc.* 1: 167-172.
- Müller, W. R., Rauscher, T., Agerer, R., Chevalier, G. 1996b. *Tuber uncinatum* Chat. + *Corylus avellana* L. *Descr. Ectomyc.* 1: 179-183.
- Nicolson, T. H. 1959. Mycorrhiza in the Gramineae I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 42: 421-438.
- Nicolson, T. H. 1960. Mycorrhiza in the Gramineae II. Development in different habitats, particularly sand dunes. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 43: 132-145.
- Nishida, M. 1956. Studies on the systematic position and constitution of Pteridophyta. VI. The gametophyte of *Botrychium virginianum* Sw. and its endogenous fungus. *Phytomorphology* 6: 67-73.
- Norris, J. R., Read, D. J., Varma, A. K. (szerk.) 1991. Techniques for the study of mycorrhiza. *Methods Microbiol.* 23.
- Norris, J. R., Read, D. J., Varma, A. K. (szerk.) 1992. Techniques for the study of mycorrhiza. *Methods Microbiol.* 24.
- Olesniewicz, K. S., Thomas, R. B. 1999. Effects of mycorrhizal colonization on biomass production and nitrogen fixation of black locust (*Robinia pseudo-acacia*) seedlings grown under elevated atmospheric carbon dioxide. *New Phytol.* 142: 133-140.
- Pacioni, G., Frizzi, G., Miranda, M., El-Kholy, H. K. 1997. Allozyme characterization of some Terfeziaceous fungi (Pezizales, Ascomycotina). *Mycotaxon* 61: 427-432.
- Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comp. Appl. Biosci.* 12: 357-358.

- Palfner, G., Agerer, R. 1995. Sind die Ektomykorrhizen von *Xerocomus subtomentosus* und *X. armeniacus* anatomisch unterscheidbar? *Z. Mykol.* 61: 45-58.
- Paolocci, F., Rubini, A., Granetti, B., Arcioni, S. 1997. Typing *Tuber melanosporum* and Chinese black truffle species by molecular markers. *FEMS Microbiol. Lett.* 153: 255-260.
- Parádi, I., Bratek, Z., Takács, T. Magyar, L., Jakucs, E. 1998. Mycorrhizae of semiarid sandy grasslands in Hungary. Sixth International Mycological Congress (IMC6), Jerusalem, Israel.
- Pawlowska, T. E., Błaszczowski, J., Rühling, Å. 1996. The mycorrhizal status of plants colonizing a calamine spoil mound in Southern Poland. *Mycorrhiza* 6: 499-505.
- Percudani, R., Trevisi, A., Zambonelli, A., Ottonello, S. 1999. Molecular phylogeny of truffles (Pezizales: Terfeziaceae, Tuberales) derived from nuclear rDNA sequence analysis. *Mol. Phyl. Evol.* 13: 169-180.
- Rauscher, T., Agerer, R., Chevalier, G. 1995. Ektomykorrhizen von *Tuber melanosporum*, *Tuber mesentericum* und *Tuber rufum* (Tuberales) an *Corylus avellana*. *Nova Hedwigia* 61: 281-322.
- Rauscher, T., Müller, W. R., Agerer, R., Chevalier, G. 1996a. *Tuber borchii* Vitt. + *Corylus avellana* L. *Descr. Ectomyc.* 1: 173-178.
- Read, D. J., Koucheiki, H. K., Hodgson, J. 1976. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. *New Phytol.* 77: 641-653.
- Read, D. J., Kianmehr, H., Malibari, A. 1977. The biology of mycorrhiza in *Helianthemum* Mill. *New Phytol.* 78: 305-312.
- Read, D. J., Haselwandter, K. 1981. Observations on the mycorrhizal status of some alpine plant communities. *New Phytol.* 88: 341-352.
- Read, D. J., Lewis, D. H., Fitter, A. H., Alexander, I. J. (szerk.) 1992. *Mycorrhizas in ecosystem.* CAB International, Wallingford.
- Richardson, D. M., Allsopp, N., D'Antonio, C. M., Milton S. J., Rejmánek M. 2000. Plant invasions – the role of mutualisms. *Biol. Rev.* 75: 65-93.

- Rimóczi, I., Siller, I., Vasas, G., Albert, L., Vetter, J., Bratek, Z. 1999. Magyarország nagygombáinak javasolt vöröslistája. *Mikol. Közl.* 38: 107-132.
- Roth-Bejerano, N., Livne, D., Kagan-Zur, V. 1990. *Helianthemum-Terfezia* relations in different growth media. *New Phytol.* 114: 235-238.
- Rubini, A., Paolocci, F., Granetti, B., Arcioni, S. 1998. Single step molecular characterization of morphologically similar black truffle species. *FEMS Microbiol. Lett.* 164: 7-12.
- Russow, E. 1872. Vergleichende Untersuchungen betreffend die Histologie der vegetativen und sporenbildenden Organe und die Entwicklung der Sporen der Leitbündelkryprogamen. *Mém Acad Imp Sci StPétersburg VII. Série* 19.
- Scanerri, S., Bonfante-Fasolo, P. 1983. Comparative ultrastructural analysis of mycorrhizal associations. *Can. J. Bot.* 61: 917-943.
- Schmid, E., Oberwinkler, F. 1994. Light and electron microscopy of the host-fungus interaction in the achlorophyllous gametophyte of *Botrychium lunaria*. *Can. J. Bot.* 72: 182-188.
- Schmid, E., Oberwinkler, F. 1996. Light and electron microscopy of a distinctive VA mycorrhiza in mature sporophytes of *Ophioglossum reticulatum*. *Mycol. Res.* 100: 843-849.
- Simon, T., Batanouny, K. H. 1971. Qualitative and quantitative studies on the root system of *Festucetum vaginatae*. *Ann. Univ. Sci. Bud. Sect. Biol.* 13: 155-171.
- Smith, F. A., Smith, S. E. 1997. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytol.* 137: 373-388.
- Smith, S. E., Read, D. J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis* (2nd ed.). Academic Press, London.
- Smith, S. E., Smith, F. A. 1990. Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport. *New Phytol.* 114: 1-38.
- Soó, R. 1957. Conspectus des groupements végétaux dans les Basins Carpathiques. *Acta. Bot. Hung.* 3: 43-64.
- Spurr, A. R. 1969. A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastr. Res.* 26: 31-43.

- Stoyke, G., Currah, R. S. 1991. Endophytic fungi from the mycorrhizae of alpine ericoid plants. *Can. J. Bot.* 69: 347-352.
- Stoyke, G., Egger, K. N., Currah, R. S. 1992. Characterization of sterile endophytic fungi from the mycorrhizae of subalpine plants. *Can. J. Bot.* 70: 2009-2016.
- Stubblefield, S. P., Taylor, T. N., Trappe, J. M. 1987a. Vesicular-arbuscular mycorrhizae from the Triassic of Antarctica. *Am. J. Bot.* 74: 1904-1911.
- Stubblefield, S. P., Taylor, T. N., Trappe, J. M. 1987b. Fossil mycorrhizae: a case for symbiosis. *Science* 237: 59-60.
- Szigetvári, Cs. 1999. Az adventív átoktüske (*Cenchrus incertus* M. A. Curtis) helyzete a fülöpházi természetközeli homokgyepekben. *Kitaibelia* 4: 341-342.
- Taylor, F. W., Thamage, D. M., Baker, N., Roth-Bejerano, N., Kagan-Zur, V. 1995. Notes on the Kalahari desert truffle, *Terfezia pfeilii*. *Mycol. Res.* 99, 874-878.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D. G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids Res.* 24: 4876-4882.
- Trappe, J. M. 1962. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. *Bot. Rev.* 28: 538-606.
- Trappe, J. M. 1971. A synopsis of the Carbomycetaceae and Terfeziaceae (Tuberales). *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57: 85-92.
- van der Heijden, M. G. A., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I. R. 1998a. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology* 79: 2082-2091.
- van der Heijden, M. G. A., Klironomos, J. N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I. R. 1998b. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69-72.
- Várallyai, Gy. 1993. Soils in the region between the rivers Danube and Tisza (Hungary). In: Szujkó-Lacza, J., Kováts, D. (szerk) *The Flora of the Kiskunság National Park Magyar Természettudományi Múzeum, Budapest*, pp. 21-42.

- Varma A., Hock, B. (szerk.) 1998. Mycorrhiza. Structure, function, molecular biology and biotechnology. 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin, New York.
- Väre, H., Vestberg, M., Euroola, S. 1992. Mycorrhiza and root-associated fungi in Spitsbergen. *Mycorrhiza* 1: 93-104.
- Wang, C. J. K., Wilcox, H. E. 1985. New species of ectendomycorrhizal and pseudomycorrhizal fungi: *Phialophora finlandia*, *Chloridium paucisporum*, and *Phialocephala fortinii*. *Mycologia* 77: 951-958.
- White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S., Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, In: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White, T. J. (szerk) PCR protocols. A Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego, pp. 315-322.
- Yang, C. S., Wilcox, H. E. 1984. An E-strain ectendomycorrhiza formed by a new species, *Tricharina mikolae*. *Mycologia* 76: 675-684.
- Zhang, B. C. 1992. Chinese hypogeous mycoflora: Terfeziaceae, new species and new records. *Micol. Veg. Med.* 7: 39-42.

