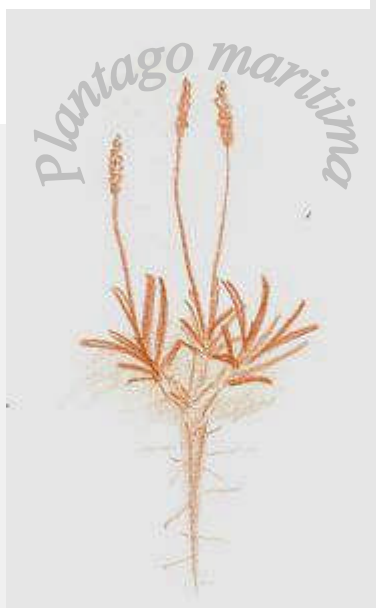


SZENT ISTVÁN EGYETEM

NÉHÁNY SZIKI NÖVÉNY ÉS A RIZOSZFÉRA MIKROORGANIZMUSOK
KÖZÖTTI INTERAKCIÓK

Doktori értekezés tézisei

Füzy Anna



Gödöllő

2007

A doktori iskola

megnevezése: Környezettudományi Doktori Iskola

m.b. vezetője: **Dr. habil. Barczy Attila**
Ph.D., egyetemi docens
Szent István Egyetem, Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet

A tudományági részterület

megnevezése: Mezőgazdasági-, környezeti mikrobiológia és talaj-biotechnológia

vezetője: **Prof. Dr. hc. Kecskés Mihály**
az MTA doktora, egyetemi tanár
MTA Környezetvédelmi Mikrobiológiai Tanszéki Kutatócsoport

Tudományága: környezettudomány, környezeti mikrobiológia

Témavezető: **Dr. habil. Biró Borbála**
az MTA doktora, tudományos tanácsadó és főiskolai tanár
MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet

Konzulens: **Dr. habil. Tóth Tibor**
az MTA doktora, tudományos tanácsadó
MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet

.....
az iskolavezető jóváhagyása

.....
a témavezető jóváhagyása

A TÉMA AKTUALITÁSA, CÉLKITŰZÉSEK

Az alföldi szikes élőhelyek jelentős része védett vagy fokozottan védett. Védetté nyilvánításuk elsősorban az eredeti vegetáció- és élőhelytípusok megőrzése érdekében történt. Ezen területek természetes állapotának a megőrzése, valamint a természetvédelmi szempontú kezelési tervek kialakítása érdekében folyó kutatások elsősorban a vegetáció tér- és időbeni mintázatának, illetve az azt meghatározó és befolyásoló tényezőknek a megismerésére irányulnak. A növényi gyökérrendszerben szoros szimbiotikus vagy lazább kapcsolatban élő mikrobióta is egyike lehet a vegetáció típusát, dinamikáját, egészségi állapotát, alkalmazkodóképességét befolyásoló tényezőknek, de akár indikátora is lehet a vegetáció illetve az ökoszisztéma stabilitásának, egészségének. Célkitűzésünk ennek megfelelően a következő volt:

I. Szikes élőhelyek mikrobiológiai monitorozása:

- A domináns, társulásalkotó növények rizoszférájának mikrobiológiai jellemzése szikes élőhelyeken: mikrobiológiai tulajdonságok vizsgálata, különös tekintettel a mikroszimbionta arbuskuláris mikorrhiza gombákra (AMF).
- A biotikus és abiotikus környezeti tényezők szerepének tanulmányozása a rizoszféra mikrobiológiai tulajdonságainak alakulására és a növény–mikroba közötti kapcsolatok működésére.
- Néhány kulcsfontosságú mikrobiális paraméter évszakos és évjáratí változásának nyomonkövetése, és ebben a környezeti tényezők és a növény-fiziológiai változások szerepének tisztázása, különös tekintettel a talaj sótartalmának dinamikájára, illetve a sóprofil változásaira.

II. A növényi só-tűrés mikrobiológiai vonatkozásainak a feltárása:

- A fokozódó sóstressz hatása a mikrobiális abundanciára, és a növény-mikroba kölcsönhatás alakulására
- A mikrobiótában megmutatkozó változások direkt-, és a növény által közvetített indirekt hatásainak feltárása
- A mikrobióta szerepének tanulmányozása a növényi túlélésben szikes talajokban

ANYAG ÉS MÓDSZER

- Munkák során négy szikes területet monitoroztunk, domináns sziki növények rhizoszférájából gyűjtöttünk talaj-, és gyökérmintákat.
- A rhizoszféra talajmintáit részletes talajfizikai és –kémiai analízisnek vetettük alá, különös tekintettel a szikes talaj sókoncentrációját és sóösszetételét leíró talajtulajdonságokra.
- A rizoszférában vizsgáltuk a talajbiológiai aktivitást, FDA hidrolízis mérésével, a rizoplánban meghatároztuk a kitenyészhető mikrobák főbb csoportjainak abundanciáját, a gyökérrendszer endomikorrhiza kolonizációját pedig festett preparátumban mikroszkóp alatt tanulmányoztuk.
- Osztott gyökeres tenyészedény-kísérletben a környezet növényközvetített hatásait tanulmányoztuk a szimbióta mikorrhiza-partnerre. A speciális tenyészedényekbe fehér herét vetettünk, és mikorrhiza oltóanyagot rétegeztünk. A kísérleteket kontrollált körülmények között, klímakamrában végeztük.
- Adatainkat egy- és két-tényezős variancia-analízissel vizsgáltuk, a korrelációs összefüggéseket pedig lineáris regresszió segítségével tártuk fel.


AZ ÉRTEKEZÉS EREDMÉNYEI

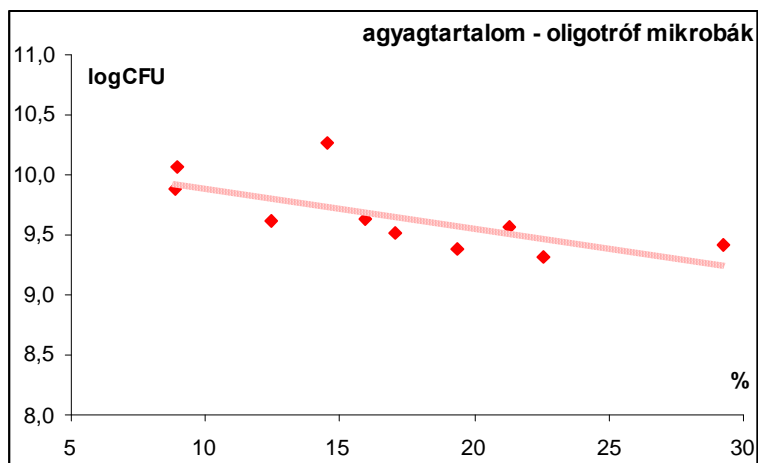
I. A mikrobiológiai- és a talaj-tulajdonságok közötti összefüggések

A szikes talaj legfontosabb, a szikesség mértékét és típusát leginkább jellemző talaj-fizikai és –kémiai tulajdonságai valamint a talajbiológiai adatsorok között kerestük az összefüggéseket: a talajtani és talajmikrobiológiai tényezőket páronként lineáris regresszió-analízisnek vetettük alá, az összefüggések kimutatására, mellyel célunk a talajéletet, a mikrobiológiai jellemzőket, a mikroszimbiontákat leginkább befolyásoló talajtényezők feltárása volt.

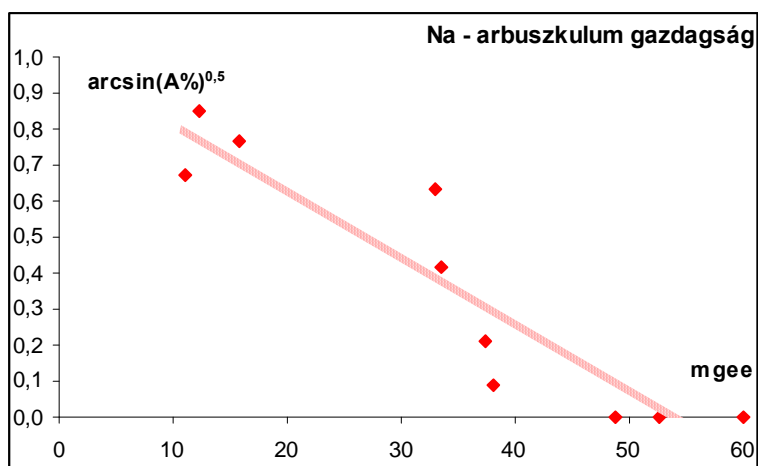
Viszonylag kevés talajfizikai tulajdonságról tudtuk kimutatni a mikrobiótát befolyásoló hatását. Az állandó vízborítottság az endomikorrhiza kolonizációt visszaszorítja. A talaj nagyobb vízmegkötő képessége (higroszkóposság) a mikorrhizációs kolonizációt csökkenti, a kisebb szemcse-összetételű talaj alacsonyabb kolonizációt eredményez: az 1%-nál magasabb higroszkóposságú rizoszféra-mintákban kolonizációt nem tudtunk kimutatni. A mikrobiális abundancia és az agyagtartalom negatív korrelációja egybevághat a szakirodalmi adatokkal, a három vizsgált mikrobacsoport közül azonban csak az oligotróf baktériumközösségeknél lehetett a növekvő agyagtartalom befolyásoló hatását kimutatni (1. ábra). A többi talajtulajdonsághoz viszonyítva a talaj sótartalmát leíró mennyiségek (EC, kation tartalom, Na^+ koncentráció, T-érték) lényegesen több korrelációs összefüggést eredményeztek. Ezek a kivétel nélkül negatív hatások minden esetben a mikorrhizációval (M%, A%) függtek össze, a gyökerek arbuszkulumban gazdagságával (A%) csak a talaj sótartalmát leíró tulajdonságok mutattak összefüggést (2. ábra). A talaj nagy sótartalma és az általunk vizsgált baktérium- és mikrogomba-populációk abundanciája között összefüggést nem tudtunk kimutatni. Korábbi vizsgálataink során *in vitro* körülmények között teszteltük ezeknek a mikrobacsoportoknak a sótűrőképességét. A vizsgált mintaterületeken ható viszonylag alacsony (0,1-0,4%) sókoncentrációk az onnan származó mikroba-törzsek növekedését nem gátolták, annál lényegesen magasabb sókoncentrációt is képesek voltak elviselni. A talaj kémhatása és a mikorrhizációs kolonizáció között szoros pozitív korrelációt találtunk (3. ábra). Ha összevetjük a talaj felvehető foszfortartalmának pH függését az endomikorrhiza szimbióta foszforfelvételben betöltött szerepével, kézenfekvő magyarázatot kaphatunk a jelenségre. Ez a megfigyelés egyben egyik magyarázata lehet az általunk vizsgált, alkalikus talajú szikes élőhelyeken megfigyelt nagymértékű mikorrhizációs kolonizációnak [12].

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK:

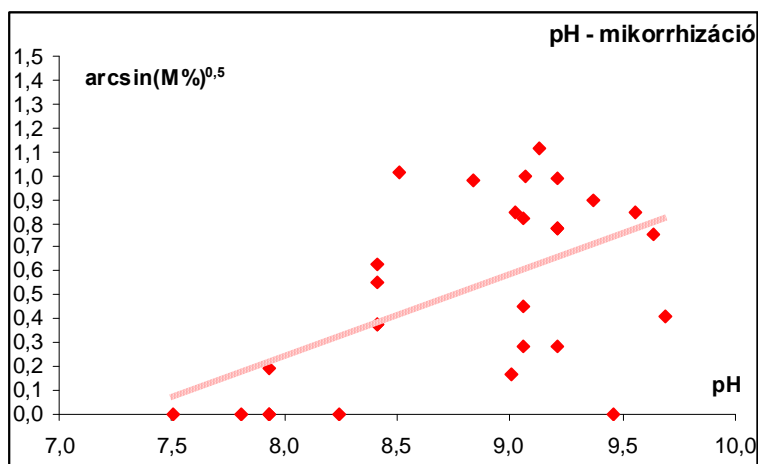
 A hazai szikes élőhelyek talajtulajdonságai közül leginkább a szélsőséges vízháztartás az, ami a talaj mikrobiológiai aktivitását befolyásolja, akár a rizoszféra mikrobiótáját, akár az endomikorrhiza kolonizációt nézzük.



1. ábra: Az agyagtartalom (%) és az oligotróf mikrobák mennyisége (logCFU) közötti korrelációs összefüggés. A korreláció $p=0,05$ szinten szignifikáns.



2. ábra: A talaj Na^+ tartalma (mgee) és a gyökerek arbuszkulumgazdagsága (A%) közötti korrelációs összefüggés. A korreláció $p=0,01$ szinten szignifikáns.



3. ábra: A pH és a mikorrhizációs kolonizáció (M%) közötti korrelációs összefüggés. A korreláció $p=0,01$ szinten szignifikáns.

II. A mikrobiológiai tulajdonságok szezonális változásai

A rizoszféra mikrobiológiai jellemzőit a 2001-2002-es időszakban havi mintavételezéssel követtük nyomon a kiskunsági mintavételi területeinken: Apajpuszta és Zabszék térségében. A növényi gyökérrendszer kolonizációját havi rendszerességgel mintáztuk, a talajbiológiai aktivitást a rizoszférában enzimaktivitás alapján becsültük szintén havonkénti mintavételezés mellett, míg a rizoplán főbb mikrobacsoportjainak mennyiségét klasszikus kitenyésztéssel állapítottuk meg három mintavételi időpontban. Célunk a talajélet évszakos változásainak, dinamikájának nyomon követése, illetve az ezt befolyásoló főbb környezeti tényezők feltárása volt.

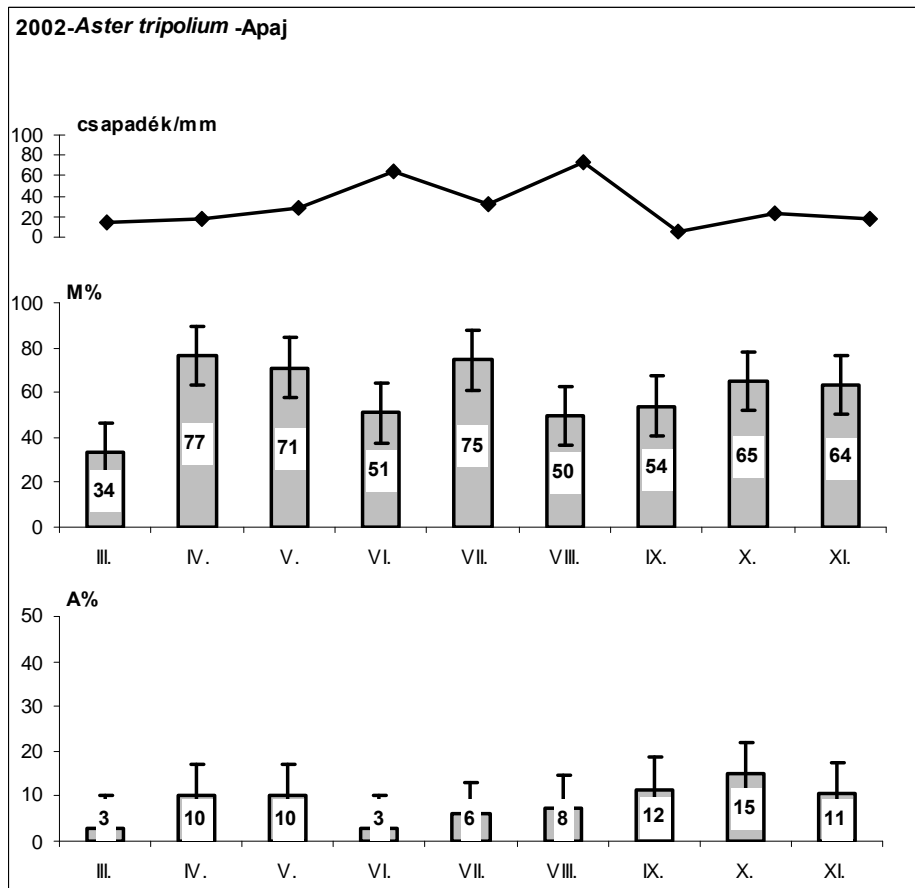
A legtöbb sziki növényen az év jelentős részében nagy kolonizációs értékeket figyeltünk meg, amihez esetenként igen magas arbuszkulum gazdagság is társult. Kolonizált gyökérrészeket *Lepidium crassifolium* gyökérmintáiban is kimutattunk. A keresztesvirágúak családjába tartozó növények általában mikorrhizas kapcsolatot nem, vagy csak ritkán képeznek. Korrelációs vizsgálatokkal kimutattuk, hogy a mikorrhizáció és a hullott csapadék mennyisége között szoros összefüggés van a tavaszi, nyári időszakban, az aszályos periódusok alatt a kolonizáció mértéke növekszik (4. ábra). A talajéletet, az általános talajbiológiai aktivitást is leginkább a talaj vízháztartása befolyásolja, de amíg Apajpusztán a szárazság a limitáló faktor, addig Zabszéken a talaj vízzel való telítettsége csökkenti a talaj enzimaktivitás értékét (5. ábra).

Elmondhatjuk, hogy a gombapartner preferenciája a gazdanövény irányába, illetve a halofita növény fogékonysága a mikorrhiza partner felé együttesen alakítják ki az optimális szimbiotikus egyensúlyt, és mindezt jelentősen befolyásolja a növény életciklusa, a vegetatív és reprodukzív szakaszok évszakos változása. Az aktív anyagcserével jellemezhető tavaszi növekedés, vagy a virágzás oka lehet a szimbiózis erősödésének, ennek pontos időpontját a növény genetikailag kódolt „belső programja” mellett az időjárási körülmények befolyásolják. [1; 2; 3; 6]

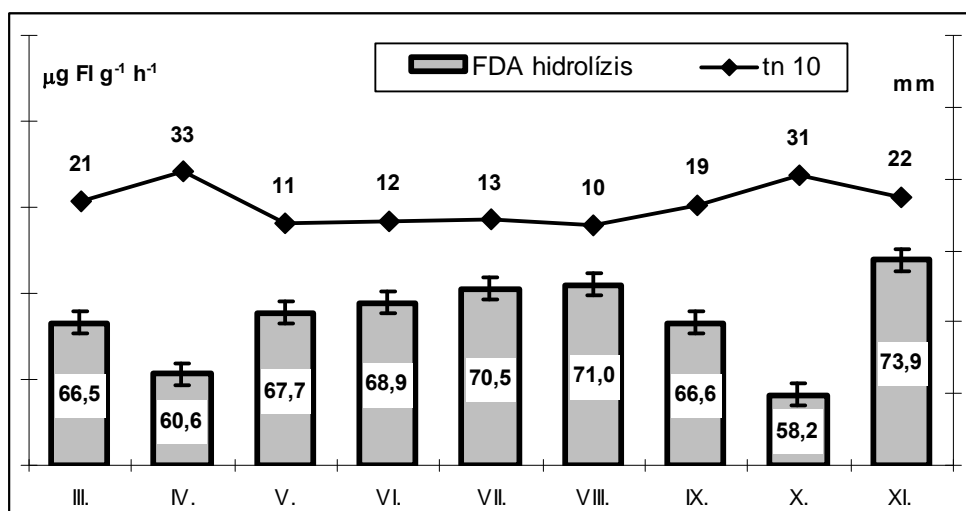
ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK:

✚ Szikes élőhelyeken az endomikorrhiza kolonizáció nagy, különösen igaz ez a viszonylag alacsony sókoncentrációval, de szélsőséges vízháztartással jellemezhető apajpusztai területre. Itt az egyébként mikorrhiza szimbiózist csak ritkán képező keresztesvirágú sziki zsásza (*Lepidium crassifolium*) gyökerében is találtunk mikorrhiza képleteket.

✚ A csapadékszegény, aszályos periódusok hatására a mikorrhizációs kolonizáció mértéke növekszik.



4. ábra: *Aster tripolium* mikorrhizációs kolonizációja (M%) és a gyökerek arbuszkulum tartalma (A%) márciustól novemberig, valamint a hullott csapadék a mintavételt megelőző periódusban. A hibasávok a legkisebb szignifikáns differenciát szemléltetik ($p=0,05$)



5. ábra: A talajbiológiai aktivitás FDA hidrolízis alapján márciustól novemberig, valamint a talaj nedvességtartalma a felső 10 cm-es talajrégióban. A hibasávok a legkisebb szignifikáns differenciát szemléltetik ($p=0,05$)


III. A só- és szárazságstressz direkt és indirekt hatásai a mikorrhizás szimbiózis működésére

Alaphipotézisünk, hogy szikes élőhelyeken a szélsőséges körülményekkel szembeni védekező növényi mechanizmusok között szerepel a mikorrhizációs kolonizáció fokozása. Célunk a mikroszimbionta partnert érő közvetlen környezeti hatások elválasztása volt a növénypartner által közvetített hatásoktól. Ennek érdekében egy osztott terű tenyészedényt terveztünk, melyben az azonos növényhez tartozó két gyökérrészt eltérő hatások érik (6. ábra). Az általunk vizsgált két stresszfaktor a nagy sókoncentráció, illetve a szárazság voltak, melyek a szikes élőhelyek legjelentősebb növény-növekedést gátló tényezői.

A modellkísérletben szignifikáns különbséget a sóstressz alkalmazásakor találtunk: míg a pozitív kontrollnál a kezeletlen negatív kontrollhoz képest szignifikánsan magasabb volt a mikorrhizáció foka, addig a IV-es kezelésnél (fél-stressz kezelés víz+NaCl fél) a mikorrhizációs kolonizáció mértéke (M%) számottevően csökkent (7. ábra). Tekintettel arra, hogy a rizoszférát érő hatások azonosak, a különbség forrása kizárólag a gazdanövény fiziológiai állapota lehet. Az arbuszkulumok mennyiségében hasonló különbséget nem tudtunk kimutatni. Említésre érdemes azonban az a tény, hogy az A% értéke (a gyökérrendszer arbuszkulumokban gazdag része) szinte azonos az M% értékével, ami arra utal, hogy a kolonizált gyökérrészeken a szimbiózis aktív. A gyökérrendszer kolonizált része tehát arbuszkulumokban igen gazdag, a kolonizáció csökkenése ezért leginkább az arbuszkulumokat nem tartalmazó, de hifával átszőtt gyökérrészeket érintette.

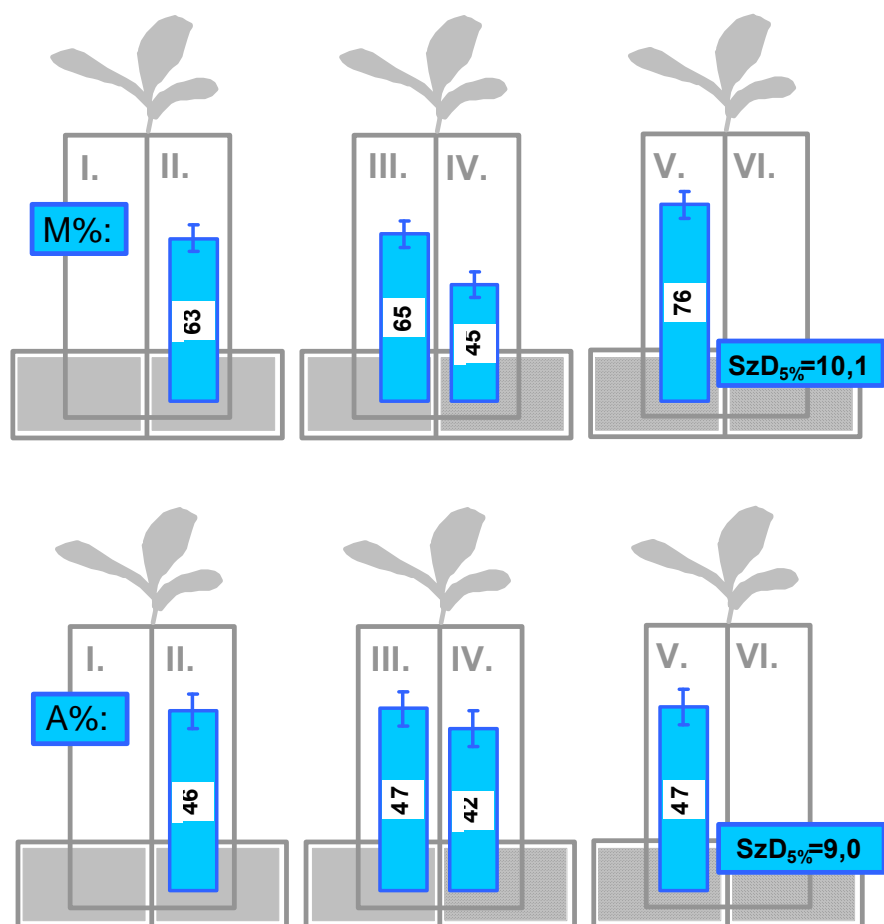
Összefoglalva elmondhatjuk, hogy az osztott tenyészedényben a közvetlen (direkt) és a növény-közvetített (indirekt) hatás elválasztható volt, de várakozásainkkal ellentétben nem a növényközvetített hatás (III-as kezelés), hanem a közvetlen stressz-hatás (IV-es kezelés) jelent meg az osztott gyökerű növénynél. Valószínűsítjük, hogy a rizoszféra felét érintő környezeti stressz-hatás a növényre nem jelent komoly próbatételt, így a mikroszimbionta felé sem közvetít serkentő („segítségkérő”) hatást. [3, 9]

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK:

 Osztott-gyökeres tenyészedény-kísérletben kimutattuk a sóstressz növény-közvetített, indirekt indukáló hatását a mikorrhizációs kolonizációra.



6. ábra: A sóstressz hatása fehérhere növényekre osztott gyökeres kísérletben 3 hét után. Kezelések: I-II: negatív kontroll (csapvizes öntözés), III: fél-stressz kezelés csapvizes fél, IV: fél-stressz kezelés, sós vizes fél (víz+NaCl), V-VI: pozitív kontroll (víz+NaCl).



7. ábra: Mikorrhizációs kolonizáció (M%) és arbuszkulum gazdagság (A%) fehérhere gazdanövény gyökerében sóstressz hatására az osztott gyökerrendszerben és kontroll kezelésekben – átlagértékek (n=4), és a legkisebb szignifikáns differencia.


IV. A mikorrhiza-szimbiózis szerepe a sziki társulások kialakulásában, dinamikájában

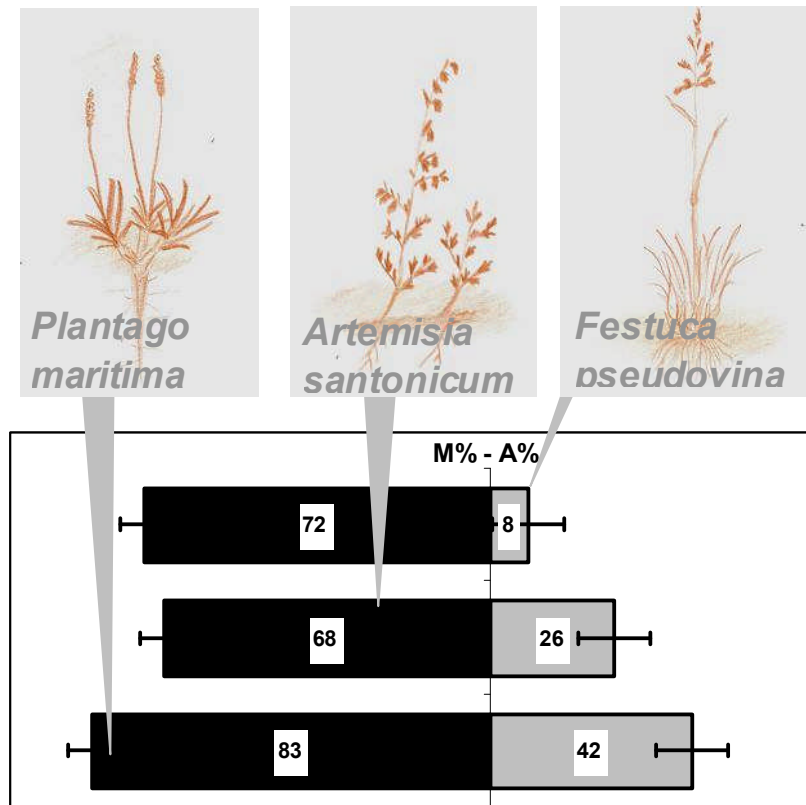
Szélsőséges körülmények között a mikorrhizáció növény-társulás szintű hatásai is fokozottak lehetnek, így szikes élőhelyeken a növény-mikorrhiza szimbiózis kölcsönös előnyei közül kiemelném az externális micéliumok által megnövelt felszívófelület jelentőségét. Száraz éghajlat alatt az externális micéliumok fontos szerepet játszanak a növények vízfelvételében, valószínűleg nem a magas transzpirációs ráta fenntartása, de a fiziológiai aktivitások megtartásához szükséges minimális vízfelvételt tudják biztosítani elősegítve a túlélést az aszályos időszakokban. A két kiskunsági mintaterületről 1998 és 2002 között Tóth Tibor végzett részletes talajtani és növényteni monitorozást, így háttéradattal rendelkezünk a talaj nedvesség- és sótartalmáról a talajvíz mélységéig 10 cm-enként mérve havi rendszerességgel, valamint növény-borítási értékekkel két tipikus szikes társulásban 4-4, egyenként 1x1 m-es mintaterületen meghatározva. A meteorológiai adatok a legközelebbi (Kecskemét) mérőállomásról származnak. Célunk az adatok elemzésével az endomikorrhiza szimbiózis sziki növénytársulásokra gyakorolt esetleges hatásának feltárása volt. A monitorozott öt éves periódus kiválóan alkalmas arra, hogy a hullott csapadék és hőmérséklet szempontjából átlagos és szélsőséges periódusokat elkülöníthessünk és összehasonlítsunk.

A diagrammon (8. ábra) jól látszik, hogy az egyes gazdanövények fogékonysága a mikorrhizás szimbiózisra jelentősen különbözik. A talajmikrobióta társulásszintű hatása a növényzetre leggyakrabban az erőforrások kihasználásán keresztül érvényesül. Hazai szikes élőhelyeken az egyik legkritikusabb erőforrás a víz, nyári időszakokban gyakran limitáló faktorrá válik. Eredményeink azt bizonyítják, hogy a mikorrhizás szimbiózis vízfelvételt elősegítő hatása az aszályos periódusokban komoly előnyt jelenthet, és a növénytársulás összetételének, arányainak módosulását eredményezheti a növények eltérő fogékonysága a mikorrhizációs szimbiózis kialakítására (9. ábra).

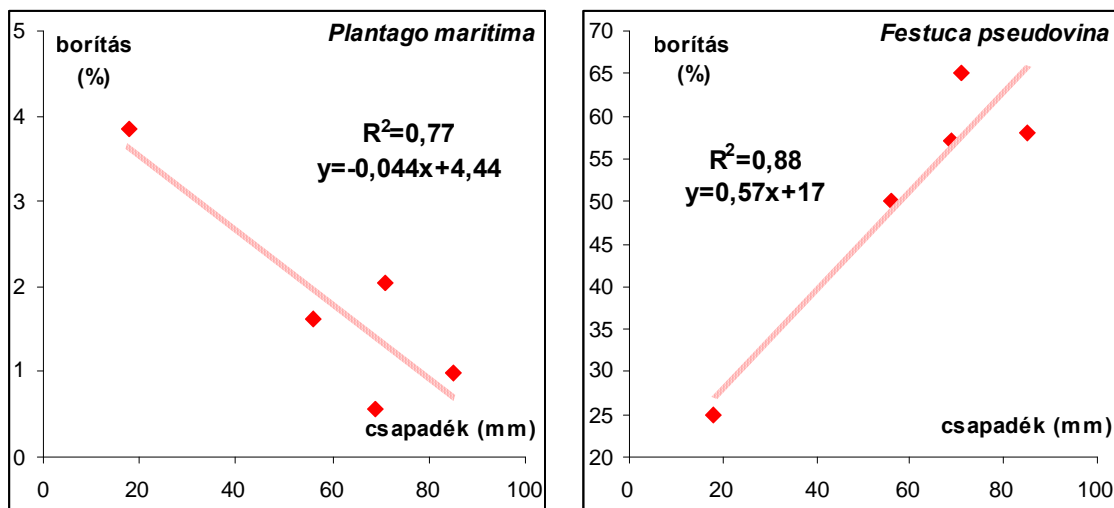
[Eredményeinket a VAHAVA konferencián (2006. márc. 9., Budapest), poszter formájában mutattuk be: Füzy A, Tóth T, Biró B: A hőmérséklet és a csapadék hatása erősen és gyengén mikorrhizált sziki növények borítási értékeire.]

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK:

 Szikes élőhelyeken az aszályos periódusokban az erősen kolonizált növényfajok abundanciájának növekedése jellemző. Az erős mikorrhizációs kolonizáció a sziki növény kompetíciós képességeit nem növeli, de a szélsőséges körülmények elviselését elősegíti.



8. ábra: Az apajpusztai mintaterületen előforduló három sziki növény mikorrhizációs kolonizációja a mintavételek átlagában.



9. ábra: A hullott csapadék mennyisége és a borítási értékek közötti korrelációs összefüggés ($p=0,05$). Az adatpontok egy-egy év májustól szeptemberig átlagolt értékeire vonatkoznak.

A TÉMÁBAN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

Lektorált referált folyóiratban megjelent közlemények:

1. Füzy A, Biró B, Tóth T, Hildebrandt U, Bothe H (2007): Drought, but not salinity determines the apparent effectiveness of halophytes colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *J Plant Physiology*. In press. (If.: 1,4)
2. Füzy A, Biró B, Tóth T (2003): Növény-mikroba kölcsönhatások és néhány talajtulajdonság közötti összefüggés hazai szikeseken. *Természetvédelmi közlemények* 10: 207-216.
3. Füzy A, Tóth T, Biró B (2006): Seasonal dynamics of mycorrhizal colonisation in the rhizosphere of some dominant halophytes. *Agrokémia és Talajtan*. 55: 231-240.
4. Füzy A, Tóth T, Biró B (2007): Mycorrhizal colonisation can be altered by the direct and indirect effect of drought and salt in a split root experiment. *Cereal Res Communication*. 35: 401-405. (If.: 0,2)
5. Khalif AA, Abdorhim H, Bayoumi HEAF, Füzy A, Kecskés M (2004): Enzimaktivitások és a fluoreszkáló pszeudomonasz csíraszámok változása a fehér lóhere (*Tripolium repens* L.) rizoszférájában sókezelés (NaCl) hatására. *Agrokémia és Talajtan*. 53: 367-376.

Rövid közlemények referált folyóiratban:

6. Füzy A, Biró B (2002): Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal colonization on some dominant halophytes in the Kiskunság region. *Acta Microbiol Immunol Hu*. 49: 377.
7. Füzy A, Köves-Péchy K, Biró B: (2003): Abundance and adaptation of some specific microbial groups at various salt-stress conditions. *Acta Microbiol Immunol Hu*. 50: 310-311.
8. Füzy A, Biró B, Tóth T (2004): Interrelations between the mycological and bacteriological status in the rhizosphere of two dominant halophytes. *Acta Microbiol Immunol Hu*. 51: 219-220.
9. Füzy A, Biró B, Tóth T (2007): Mycorrhizal colonisation rates affected by drought and salinity in a model experiment. *Acta Microbiol Immunol Hu*. 54: 37.

Tudományos rendezvényen megjelent teljes közlemények (konferenciakiadványok):

10. Füzy A, Vörös I, Takács T, Tóth T, Biró B (2001): Colonisation of arbuscular mycorrhizal fungi on *Festuca pseudovina* and *Matricaria chamomillae* in two Hungarian salt-affected soils. *Sci Bullet (North Univ. Baia Mare)*, C-XIV: 109-117.
11. Füzy A, Köves-Péchy K, Biró B (2001): Frequency of specific microbial groups in the rhizosphere of dominant halophytes in two saline soils. *Sci. Bullet.(Uzhg. Nat. Univ.)*, Ser. Biol., Vol: 9: 166-170.
12. Füzy A, Biró B, Tóth T (2003): Szikes talajok hatása néhány domináns halofita rizoszféra-közösségeinek összetételére. *Az MTA SzSzBTT Közgyűléssel egybekötött Tudományos Ülésének előadásai*: 39-44.

EGYÉB PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

Lektorált referált folyóiratban megjelent közlemények:

13. Naar Z, Román F, Füzy A (2002): Correlations between indigenous mycoparasitic and symbiotic beneficial fungi at heavy metal stress. *Agrokémia és Talajtan*. 51: 115-122.
14. Biró B, Villányi I, Füzy A, Naar Z (2005): Baktériumok és gombák kolonizációja génmódosított (Bt-) és izogénes és kontroll kukorica rizoszférájában. *Agrokémia és Talajtan*. 54: 189-203.
15. Biró B, Posta K, Füzy A, Kádár I, Németh T (2005): Mycorrhizal functioning as part of the survival mechanisms of barley (*Hordeum vulgare* L) at long-term heavy metal stress. *Acta Biol Szegediensis*. 49: 65-68.
16. Villányi I, Füzy A, Biró B. (2006): Non-target microorganisms affected in the rhizosphere of transgenic Bt corn. *Cereal Res. Communication*. 34: 105-109. (If.: 0,2)

Tudományos rendezvényen megjelent közlemények (konferenciakiadványok):

17. Biró B, Füzy A, Kádár I, Posta K (2006): Sensitivity of mycorrhizal fungi inside and outside the barley rhizosphere at long-term heavy metal stress. p. 276-280. In: *Proc. of Trace elements in the food chain*. (Eds. Szilágyi M, Szentmihályi K), SZTE ÁOK Nyomda, Budapest
18. Posta K., Füzy A, Biró B. (2006): Mycorrhizal colonisation of clover after 12 years of metal adaptation in a calcareous chernosem soil. *Bulletin of Szent Istvan University*, p. 81-88.