



SZENT ISTVÁN EGYETEM
BIOLÓGIATUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**MIKOLÓGIAI VIZSGÁLATOK HAZAI
ÚSZÓLÁPOKON**

Zöld-Balogh Ágnes

Gödöllő
2020



SZENT ISTVÁN EGYETEM
BIOLÓGIATUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**MIKOLÓGIAI VIZSGÁLATOK HAZAI
ÚSZÓLÁPOKON**

Zöld-Balogh Ágnes

Gödöllő
2020

A doktori iskola

Megnevezése:	SZIE Biológiai Tudományi Doktori Iskola
Tudományága:	Biológia tudományok
Vezetője:	Dr. Nagy Zoltán intézet igazgató, egyetemi tanár (DSc.habil) SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Növénytani és Ökofiziológiai Intézet MTA Tanszéki Növénytani és Növényökológiai
Kutatócsoport	
Témavezető:	Dr. Bratek Zoltán egyetemi adjunktus, PhD ELTE, Természettudományi Kar Biológiai Intézet Növényélettani és Molekuláris Növénybiológiai
Tanszék	

.....
Dr. Nagy Zoltán
jóváhagyása

.....
Dr. Bratek Zoltán
jóváhagyása

Bevezetés

A szárazföldi és vízi életközösségek növény - és gombafajai között szoros és sokoldalú kapcsolatrendszer alakult ki az életben maradás biztosítására. Az úszólápok víz szubsztráton lebegő, egyre vastagodó tőzegtakarójú élőhelyek, melyek a szárazföldi és vizes élőhelyek között képeznek átmenetet. Ezek kialakításában résztvevő növény- és gombaközösségek kapcsolatai alig feltártak annak ellenére, hogy az eddigi kutatások bizonyították szerepüket több elem biogeokémiai ciklusában éppúgy, mint az élővizek eutrofizációjának elkerülésében. Mindez a tőzegben, a rizoplánban végbemenő aerob és anaerob folyamatokhoz és a tőzeg geológiai távlatokba mutató, raktározó kapacitásához kötődik. A tőzeg az ember természetátalakító tevékenysége miatt mára a hajdani hatalmas lápterületek kiterjedéséhez képest a Föld felszínének csak elenyészően kis területére szorult vissza. Mesterségesen létrehozott úszólápokat alkalmaznak kommunális és ipari szennyvizek tisztítására; bizonyos arbuskuláris mikorrhiza (AM) gombák szerepét pedig igazolták épített lápok (constructed wetlands) talajvíz szennyeződést követő rekreációjában.

Az úszólápi növényeket és a tőzeget egyaránt átszövő gombatársulások megismerésére első lépésként egyes Kárpát-medencei úszólápok nagygomba társulásainak összetételét elemeztük. Ezt követte az AM-gombák kapcsolatainak feltárása két nemzeti parkunkhoz tartozó, három eltérő típusú úszólápon: a Velencei-tó, a Ráckeve-Soroksári-Dunaághoz tartozó szigetcsépi holtág, valamint az őrségi Fekete-tó úszólápján. Az úszólápi növények és gombák hálózati rendszereinek feltárása alapul szolgálhat az általában hűvös, nedves mikroklímájú élőhely anyagforgalmának feltérképezéséhez, beleértve a nagy molekulájú, összetett szénvegyületek lebontási folyamatait is.

Célkitűzések

- I. A Kárpát-medence egyes úszólápjain fellelt nagygombák vizsgálata
 - A. Morfológiai vizsgálatok: fajsztű meghatározás hagyományos módon
 1. *Sphagnum*-borítású (*Sph*) és *Sphagnum*-takaró nélküli (*nSph*) úszólápok bazídiomos gombáinak morfológiai vizsgálata
 2. A két élőhelytípuson a bazídiomikóták életmód és élőhely szerinti megoszlásának összehasonlítása.
 3. Úszólápi aszkuszos gombák morfológiai vizsgálata
 - B. Molekuláris vizsgálatok:
Egyes úszólápi *Hygrocybe* fajok azonosítása molekuláris módszerekkel.
- II. Három eltérő trofitású hazai úszóláp arbuszkuláris mikorrhiza (AM) gombáinak vizsgálata
 - A. Morfológiai vizsgálatok: mikroszkópos és matematikai elemzés
A legjellemzőbb úszólápi növényekben az AM-gomba kolonizáció feltárása
 - B. Molekuláris vizsgálatok: a három úszólápon fellelt AM-gombaközösségek diverzitásának összehasonlítása;
 1. úszólápi filotípusok filogenetikai elemzése
 2. úszólápi filotípusok ökológiai elemzése
 3. jelen kutatásainkban feltárt filotípusok összehasonlító vizsgálata más élőhelyekről származó, azonos filotípusokkal
- III. Javaslat az úszólápok, mint unikális élőhelyek oltalomba vételére

Anyag és módszer

(1) I./A Morfológiai vizsgálatok: Egyes Kárpát-medencei *Sphagnum*-borítású (*Sph*) és *Sphagnum*-takaró nélküli (*nSph*) úszólápok nagygomba közösségek összetételének és életmód szerinti megoszlásának feltárása

A *Sph* és *nSph* hazai úszólápokon a szerzők 1959-óta folyamatosan, a lehetőségekhez mérten végzik a bazídiumos, 1994-óta pedig az aszkuszos gombák közösségeinek feltárását. A termőtestek morfológiai alapú azonosításához felhasznált szakirodalmak: Dennis (1981), Moser (1983), Breitenbach és Kränzlich (1984), Bánhegyi et al. (1985), Brandrud et al. (1989–1998), Schumacher (1990), Lizoň (1992), Courtecuisse és Duhem (1995), Hawksworth et al. (1995), Hengstmengel (1996), Yao és Spooner (1996), Krieglsteiner (2000–2003), Bratek és Zöld-Balogh (2001), Bellú et al. (2004) valamint Vesterholt (2005). A *Leccinum* nemzetség (Den Bakker és Noordeloos, 2005), valamint a *Hebeloma* nemzetség (Vesterholt, 2005) néhány fajtát kivéve a The Index Fungorum (CABI 2008) szerint alkalmaztuk a gombák rendszertani és nevezéktani kategóriáit.

(2) I./B Vitatott úszólápi *Hygrocybe* fajok molekuláris azonosítása

Hygrocybe cantharellus (*H. lepida*), *H. turunda* és *H. coccineocrenata* (két utóbbi Magyarországra új faj) termőtesteit gyűjtöttük be (2002. 08.; 2003. 07.) az Őrségi Nemzeti Park két farkasfai, *Sph* úszólápjáról (Fekete-tó, Sástó). A morfológiai alapú határozást (Boertmann, 1995; Candusso, 1997; Krieglsteiner, 2001) a szárított termőtestekből ITS szekvencia alapú molekuláris azonosítás követte.

A sejtmagi rDNS kivonása és a PCR reakciók Gardes et al. (1991) útmutatása alapján, az amplifikációk az ITS1, ITS4 univerzális (White et al., 1990) és a gombaszpecifikus ITS1F primerekkel (Gardes és Bruns, 1993) történtek. A PCR termékek tisztítását Montage-PCR (Millipore) mikrofilter, a szekvenáló reakciókat pedig BigDyeTM Terminator Cycle 3.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems) felhasználásával végeztük. A törzsek ABI PRISM 3100 készüléken történő szekvenálása során a kiindulási primereket vettük igénybe. Az illesztések kivitelezéséhez a CLUSTALW2 (Larkin et al., 2007), a filogenetikai elemzésekhez pedig a MEGA4 (Tamura et al., 2007) programot használtuk.

(3) II./A Morfológiai vizsgálatok: AM-gombák kolonizációjának feltárása úszólápi növényekben

Az oligotróf Őrségi Fekete-tó (FEK) 16, a szigetcsépi mezotróf (RSD) 22 valamint az eutróf velencei-tavi (VEL) úszóláp 25 növényfajából

gyökérmintákat vettük (3-3 egyed/növényfaj/3 évszak). A lágyszárúaknál a teljes, fásszárúaknál az elérhető gyökérzet került begyűjtésre a növénytársulások mozaik mintázatát tükröző, 50m x 50m-es kijelölt területekről; 10-10 lápszem és kicsavart tőzegvíz helyszíni pH vizsgálatát is elvégezve. A gyökérminták az úszólápi növényeknek a tőzeg függőleges szerkezetét követő 4 gyökerezési szintjéből lettek begyűjtve.

Az úszólápi növények gyökereiben kolonizáló AM-gombák szerkezetének és kiterjedésének reális felmérhetősége érdekében Krueger (1968) festési módszerét módosítottuk. A gyökerek főzési idejét (15%-os KOH oldatban) a növény szerkezeti adottságaihoz igazítottuk, ami 1-2 perctől akár több óráig is tarthat. Ezt követően a magas pigmenttartalmú gyökereket 30%-os H₂O₂ oldatban hosszan rázattuk - esetenként többszöri oldatcserével.

A kolonizációs paraméterek becslése Nikon Optiphot 2 fénymikroszkóppal, Trouvelot et al. (1986) útmutatása szerint történt. A számított kolonizációs értékek megállapításához a MycoCalc programot (<https://www2.dijon.inra.fr/mychintec/MycoCalc-prg/download.html>) használtuk.

Az úszólápon a gyökerezési szintenként becsült AM-gombák kolonizációs paramétereinek az egyes lápokon belüli és a lápok közötti értékelése diszkriminancia-elemzés (Canonical Variates Analysis = CVA) módszerének felhasználásával történt (SYN-TAX 2000 programcsomag).

(4) II./B Molekuláris vizsgálatok: AM-gombák diverzitásának feltárása a három úszólápon

A morfológiailag feltárt, kolonizált gyökerekből DNeasy Plant Mini Kit segítségével kivontuk a DNS-t, - a módszeren kissé változtatva. Majd nested PCR alkalmazásával a sejtmagi részleges 18S-ITS1–5.8S-ITS2 rDNS régió szekvenálásával elvégeztük az azonosítást. A PCR első lépését NS5/ITS4i univerzális primerekkel végeztük, a másodikban pedig hét Glomeromycota specifikus primer került kipróbálásra. A klónozását, majd a termékek restrikciós enzimes emésztését az RFLP mintázat elemzése követte. A restrikciós profilokat képviselő klónok tisztítást követő szekvenálási reakció után automata szekvenátorba kerültek. A kinyert szekvenciákat BLAST software (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) segítségével összevetettük a GenBank adatbázisában található leghasonlóbb szekvenciákkal (NCBI) filogenetikai fánk elkészítéséhez.

Shannon diverzitási indexet számoltunk a három úszólápról előkerült filotípusok diverzitásának kimutatására; PCoA (principal coordinates analysis)

bemutatta a filotípusok három vizsgált úszóláp közötti megoszlását (SYNTAX 2000 programcsomag).

A szekvenciák illesztése a MAFFT 7 verzió server (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server>) és PRANK (Löytynoja, 2014) Krüger et al. (2012) referencia szekvenciáinak felhasználásával történt. Maximum likelihood algoritmus MEGA 7.0.26., Tamura-3 paraméter model és RAxML-HPC Blackbox, GTR substitution mátrix alkalmazásával végeztük a filogenetikai elemzést. A filogenetikai fák szerkesztése a GAMMA modelles végső optimalizációval zárult (CIPRES Science Gateway portal (<http://www.phylo.org>)). A filogenetikai fák elágazásai megbízhatóságának kimutatására bootstrap analízis alkalmaztuk (1000 replikáció). Az AM-gombáknál Baltruschat et al. (2019) és Corazon-Guivin et al. (2019) érvényes rendszere és nevezéktana felhasználásával dolgoztunk.

Eredmények és értékelésük

(1) I./A Sph és nSph úszólápok nagyomba közösségei és azok életmód szerinti megoszlása

Bazídiumos gombák

Sph úszólápon: az Agaricales, Boletales és Russulales rendek 15 családjába és 25 nemzetségébe sorolható, 282 gyűjtésből származó 76 faj: 22 élőhelyről.

Legtöbb kollektció: Kis-Mohos (53), Lucs (46), Mohos (44).

Gyakoriság: nyáron leggyakoribb-*Galerina paludosa*, *Lactarius helvus* és *Russula emetica*; ősszel leggyakoribb-*Leccinum variicolor*; alacsony tavaszi mintaszám; nyári adatok > ősziéknél 7 hónap (h) során fellelt termőtestek 60%-a a 8.-9. h került elő.

Leggyakoribb mikorrhizás: *Lactarius helvus*, *Leccinum variicolor* és *Russula laccata*.

Leggyakoribb szaprobionta: *Hypholoma elongatum*, *G. paludosa* és *G. tibiicystis*.

Leggyakoribb szubsztrát: *Sphagnum*-fajok; domináns gazdanövény: *B. pubescens*.

Életmód: 66% mikorrhizás, 34% szaprobionta.

nSph úszólápon: a fenti három rend + Cantharellales, 18 nemzetséget képviselő, 77 gyűjtésből származó 33 faj: 17 élőhelyről.

Legtöbb kollektció: öcsi Nagy-tó (15), VEL (14).

Gyakoriság: tavaszi gyűjtések-alacsony fajszerű, nagy egyedszámú kollektciók.

Őszi adatok > nyári adatok; 8 h alatt lelt termőtestek fele a 9.-10. h került elő.

Leggyakoribb mikorrhizás: *Cortinarius uliginosus*, *Leccinum scabrum*.

Leggyakoribb szaprobionta: *Mycena belliae*.

Leggyakoribb szubsztrát; *Phragmites*; domináns gazdanövény: *S. cinerea*.

Életmód: 55% mikorrhizás, 45% szaprobionta.

Közös mindkét úszóláp típuson: dominánsak a mikorrhizás fajok; az Agaricales, Boletales és Russulales rendek jelenléte; leggyakoribbak az Agaricales és a Russulales rend fajai.

12.-03. h nem került elő termőtest.

Azonos gazdanövények: *Betula* spp., *Salix* spp., *Picea abies*, *Pinus sylvestris*.

Három közös faj: *Cortinarius uliginosus*, *Psathyrella typhae*, *Russula laccata*.

Úszólápi régiók szerinti mikorrhizás közösségek

1. úszólápok szegélyzónája: kiegyenlített a mikorrhizás és szaprotróf fajok száma;

dominánsak a *Salix* fajok; mikorrhizás gombafajok: *C. cinnamomeoluteus*, *C. helobius*, *C. uliginosus*, *Hebeloma pusillum*, *Inocybe salicis*, *R. laccata*.

2. úszólápok központi része: mikorrhizás fajok túlsúlya; *Pinus sylvestris* alatt pl.: *C. huronensis*, *Suillus bovinus*, *S. variegatus*.

3. úszólápok szegélyzónája+ központi rész: *Betula* fajok alatti mikorrhizás karakterfajok: *C. pholideus*, *C. tubarius*, *L. cyaneobasileucum*, *L. holopus*, *L. variicolor*, *R. betularum*. *Picea abies* alatt leggyakoribb: *C. subtortus*, *R. emetica*.

Ubiquista bazídiumosok: *Laccaria proxima* (*Betula*, *Salix* és *Pinus* alatt egyaránt); *Amanita fulva*, *C. semisanguineus* és *Paxillus involutus*.

Hazai úszólápokon a mikorrhizás és szaprotróf fajok arányai finn lápokéhoz (Salo, 1993) hasonlóan kiegyenlítettek.

Aszkuszos gombák

Úszólápok nSph feltjairól (*Mitrula paludosa* kivételével): a Dothideales, Helotiales, Orbiliales és Pezizales rendek 11 családjának 19 nemzetségébe sorolható, 69 gyűjtésből származó 27 faj: 13 élőhelyről.

Gyakoriság: 12.-02. h nem, de 03.-11. h mindig fellelhető. Leggyakoribb: a 10. és 06. h.; ősszel leggyakoribb: *Mollisia ligni*; tavasszal leggyakoribb: *Scutellinia crinita*; Nyáron leggyakoribb: *Geopora tenuis* és *Lachnum virgineum*.

Leggyakoribb úszólápi aszkuszos gombák: *Geopora tenuis*, *Lachnum virgineum*, *Mollisia ligni*, *Orbilia luteorubella* és *Scutellinia crinita* (az adatok felét adják).

Leggyakoribb mikorrhizás: *Geopora tenuis*. Leggyakoribb szaprobionta: *Scutellinia crinita*.

Leggyakoribb szubsztrát; 70% fakorhadék/főleg fűz; 19% lágyszárúak korhadó szára, levele; 3% talaj. Domináns gazdanövény: *S. cinerea*.

Életmód: 92% szaprobionta; 8% feltételezett mikorrhizaképző (*Geopora tenuis* és *Morchella elata*).

Tanulmányunk során csak az úszólápokra jellemző, specialista aszkuszos gombát nem találtunk.

(2) I./B Vitatott úszólápi *Hygrocybe* taxonok molekuláris azonosítása

A három úszólápi *Hygrocybe* faj teljes ITS1 + 5,8S rDNS + ITS2 régióinak molekuláris elemzését követően filogramokat készítettünk. Két, eredményesen szekvenált mintánk a *Pseudohygrocybe* alnemzetséghez tartozónak bizonyult. Ez a klád a makroszkópiusan élénk sárga, narancs és vörös termőtest színnel jellemezhető taxonokat foglalja magába; beleértve a Coccineae szekció Squamulosae alszekciójának *Lepida* alakkörébe tartozó szekvenciáinkat is. Két mintánk kládja távolságtartóan elkülönül a felkanyarodó lemezű *H. miniata* alakkör kládjától. A két, apró pikkelyekkel borított kalapú, lefutó lemezű, *H. cantharellus* (*H. lepida*) és *H. turunda*, - melyek között jelentős mikroszkópius eltérést nem volt bizonyítható – egyetlen, jól értelmezhetően különálló kládot alkot a filogenetikai fán, igazolva e két taxon azonosságát.

(3) II./A AM-gombák kolonizációja úszólápi növényekben

Úszóláp vizének trofitása/pH értékei, kolonizált növényfajok: a pH értékek jellegzetes különbségeket mutatnak az élőhelyek között a nagyon savanyú FEK-tól a közel semleges RSD-on át a lúgosabb VEL-ig. Ezzel együtt a felszíni lápszemekben mért pH értékek mindenkor alacsonyabbak voltak ugyanazon lápok tőzegből facsart vizének értékeihez képest.

A kolonizált növényfajok száma úszóláponként egyenes arányban áll az élőhely trofitásának szintjével/ pH értékével; így az oligotróf (FEK) úszólápjának 16 növényfajából csak 9, a mezotróf (RSD) 22 növényfajából 17, míg az eutróf (VEL) 25 növényfajából a legtöbb, 24 bizonyult kolonizáltnak. 45 különböző növényfajból összesen 32 esetben mutattuk ki AM-gombák jelenlétét; közülük 25 úszólápi fajban először közöltünk kolonizációs adatokat.

Gyökerezési szinteket alkotó növényfajok: Míg a vizsgált úszólápok II., III. és IV. gyökerezési szintjeit kialakító fásszárúak, mélyebben gyökerezők és felszínen gyökerező növényfajok a FEK-i *Eriophorum angustifolium* (Cyperaceae), valamint a VEL-i *Calamagrostis canescens* (Poaceae) kivételével kétszikűek, addig az úszólápkotók (I. gyökerezési szint) mindhárom úszólápon kizárólag egyszikűnek bizonyultak.

Kolonizáció láthatóvá tétele: az úszólápi növények gyökerének állagához igazodó főzési idő betartásával elkerültük az AM-gombák kifőzését a gyökérből. A pigmentek nagy mennyisége miatt szinte minden úszólápi növényfaj egyedeiben alapos színtelenítést végeztünk (H₂O₂). Így a pigmentek teljes elszíntelenedését követően festésünk jól láthatóvá tette az AM szerkezetét és kiterjedését, biztosítva a pontos becslés lehetőségét.

Arum-és Páris-típusú AM-gomba kolonizáció: A *Lysimachia vulgaris* gyökereinek kéregsejtjeiről készített fényképfelvételen bemutatjuk az arbuskuláris mikorrhiza Arum-típusú szerkezetét. Ebben az egyes sejtek egyedülálló, elágazó arbuskulumot tartalmaznak, melyek a sejtek közötti térben futó hifákból hatolnak be a növényi sejtekbe. Ezzel ellentétben, a perifériális gyökérgéregben a behatoló hifák sejtről-sejtre haladva képezik a Páris-típusú kolonizációra jellemző nagyszámú hifahurkot (koil) és arbuskulumot. Ezt a *Frangula alnus* kolonizációjáról készült fényképfelvétel is igazolja. Míg a féltartós preparátumok lefényképezett, szerkezetgazdag gyökérdarabjai nyári mintákból származnak, a félvékony metszeteken és az elektronmikroszkópos felvételeken az őszi vegetációs periódusban begyűjtött arbuskuláris mikorrhiza részben degradált formakincse látható.

Élőhelyek/gyökerezési szintek kolonizáltsága: a mezotróf és az eutróf úszólápok tőzegében a növényeknek mind a négy gyökerezési szintjében

kimutattuk az AM-gombák jelenlétét, ugyanakkor az oligotróf úszólápon csak az alsó három gyökerezési szint növényei bizonyultak kolonizáltnak. Ezen lép megvizsgált, felszínen gyökerező növényfajaiban (IV. gyökerezési szint) tapasztalt AM hiányával egy időben - a CVA által is megerősítve - a lép úszólápalakító növényeinek I. gyökerezési szintjében sokkal magasabb kolonizációs paraméterek mutatkoztak, mint a két tápanyagban gazdagabb élőhely azonos gyökerezési szintjének növényeiben.

A három úszóláp II. és III. szintje hasonlít egymásra, de az oligotróf úszóláp I. gyökerezési szintjének kolonizációja lényegesen magasabb a másik két úszóláp ugyanazon gyökerezési szintjének kolonizációjához képest.

Növényfajok kolonizáltsága: erősen kolonizált a fászszerűak II. gyökerezési szintjében fellelhető *Frangula alnus* (F=72-100%; A=4-77%) és a lágyszárú, mélyebben gyökerező (III. szint) *Lysimachia vulgaris* (F=71-100% A=3-60%); míg a szintén közös ektendomikorhizás *Salix* (F=10-90%; A=0-10%) egyedekben az AM olykor ugyan kevésbé, de folyamatosan kimutatható láptípustól és évszaktól függetlenül. Az I. gyökerezési szint növényei közül az oligotróf élőhelyen a *Molinia arundinacea* tűnik ki a legmagasabb kolonizációs értékekkel. Ugyanezen élőhely vizsgált *Carex* fajában magasabb kolonizáltsági értékek mutatkoztak, mint a két tápanyagban szegényebb úszóláp *Carex*, *Typha* és *Phragmites* fajaiban.

Az általunk használt metodika segítségével a vizsgált úszólápokon élő *Cyperaceae*, *Poaceae* és *Typhaceae* családok képviselőiben mindhárom évszakban kimutattuk az AM-gombaszimbionták jelenlétét.

Az AM-gombák által kolonizált úszólápi növényfajok egyedei mind a három vizsgált évszakban valamilyen szinten, de folyamatosan kolonizáltnak mutatkoztak.

Az AM gomba kolonizáció hiánya: mindhárom úszólápon találtunk AM hiányával jellemezhető növényfajokat. **FEK:** *Betula pubescens*, *Drosera rotundifolia*, *Menyanthes trifoliata*, *Picea abies*, *Pinus sylvestris*, *Polytrichum commune*, *Populus* sp., *Quercus* sp., *Sphagnum palustre*, *Sph. recurvum* és *Sph. subsecundum*; **RSD:** *Pellia endiviaefolia*, *Sph. fimbriatum*, *Sph. squarrosum*, *Sph. teres* és *Thelypteris palustris*; **VEL:** *Th. palustris*.

(4) II./B AM-gombák diverzitása úszólápi növényekben

DNS kivonás: új módszerünk alapján mintánként 11x 1cm-es, véletlenszerűen kiválasztott gyökérdarabból végzett DNS kivonást az esetek döntő többségében sikeres szekvenálás követett. (Az eredeti recept szerinti, mintánként 2-3 x 1cm-es gyökérdarabból végzett DNS kivonások csak igen ritkán vezettek eredményre az úszólápi növények esetében.)

PCR, klónok: a hét kipróbált Glomeromycota specifikus primerből az úszólápi növényekben ITS4i-vel együtt alkalmazva csak az ACAU1661, a LETC1677 és a GLOM1310 vezetett szekvenciákhoz. E primerpárok összesített sikerességi aránya 64% volt (148 PCR termék), melyek 21%-a (31 PCR termék) eredményezett Glomeromycota klónokat. Ezek megoszlása: **9** FEK mintából 65, **10** RSD mintából 56, míg **12** VEL mintából 98 pozitív klón, melyek az RFLP mintázat elemzése során igazolódtak.

Filotípusok: mindhárom úszóláp egyaránt 8-8 növényfajából. összesen 77 DNS mintát izoláltunk, **15 különböző szekvencia filotípust** azonosítottunk, melyek közül **9 a Glomeraceae (GLO)**, **4 az Entrophosporaceae (ENT)**, **2** pedig az **Acaulosporaceae (ACA)** családba sorolható. Míg a GLO család filotípusai vannak jelen legnagyobb számban mindhárom úszólápon, addig a másik két családot képviselő filotípusok két élőhely között oly módon oszlanak meg, hogy a ENT csak az oligotróf FEK-ról hiányzik, az ACA pedig a mezotróf RSD-ról. A filotípusok legmagasabb fokú diverzitása 9 filotípussal a VEL-on mutatkozott, szemben a másik két úszóláp egyaránt 4-4 filotípusával.

A 15 filotípus közül csak kettő volt a két tápanyagban gazdagabb úszólápon egyaránt kimutatható. A FEK-on kimutatott filotípusok egyediek.

A FEK filotípusai: A-2, A-4, A-5 és C-1; az RSD filotípusai: **A-1**, A-6, **A-8** és B-2;

a VEL filotípusai: **A-1**, A-3, A-7, **A-8**, A-9, B-1, B-3, B-4 és C-2 (vastagon szedve a közös filotípusok).

A három úszóláp számolt Shannon diverzitás mutatója: 1,19 a FEK-on, 1,24 a RSD-on, 1,68 a VEL-on, míg a teljes tanulmány 2,22 diverzitás értéket mutatott. A PCoA jelzi az oligotróf úszóláp eltérő, valamint az mezotróf RSD és az eutróf VEL jelentősebben átfedő AM gombaközösségeit.

Egyes leghasonlóbb AM-gombafajokkal homológ úszólápi filotípusok:

A-I. *Rhizoglopus intraradices/fasciculatus* csoport;

A-III. *Rhizoglopus proliferum*

A-VI. *Dominikia aurea*; **A-VIII.** *Septoglopus constrictum*

B-III. és **B-IV.** *Claroideoglopus claroideum*

C-I. *Acaulospora koskei*; **C-II.** *Acaulospora mellea/delicata*

Az oligotróf FEK különbözőségét tükrözi: 1. az A-I. filotípus (generalista!) hiánya az oligotróf FEK - on; (ugyanakkor az összes 219 klónból 71 klón= A-1 a VEL-on és FEK-on a legszéleskörűbben elterjedt); 2. a három lág közül az úszólápkotók I. gyökerezési szintjéből szekvenciákat csak a FEK-on sikerült kimutatni; 3. a FEK-on, a vizsgált felszínen gyökerező növényfajokban (IV. szint) AM jelenléte nem volt kimutatható; 4. C-1 filotípus, mely homológ az *Acaulospora koskei*-vel csak a Fekete tavon jött elő.

Gazdanövény preferencia: a *Lysimachia vulgaris* egyedei mindhárom úszólápon egyaránt magas kolonizációs szintjükkel tűntek ki, ami együttjár az úszólápi filotípusok diverzitásának legmagasabb értékével (7 filotípus). Ez az érték további vizsgálatokkal még nőhet, hiszen a mezotróf lápi egyedekből molekuláris eredmény nem származott. Hasonlóan a *Solanum dulcamara* (5 filotípus) és a *Mentha aquatica* (5 filotípus), melyek szintén nagyszámú filotípus gazdanövényeként értékelhetők, úgy is, hogy az oligotróf élőhelyről egyedeik hiányoznak. A mindhárom úszólápon egyaránt előforduló növények közül csak az ektendomikorrhizás *Salix* nemzetség képviselői szolgálnak mindhárom élőhelyről származó filogenetikai információval. A *Salix* egyedek 4 AM-gomba filotípussal szintén kedvelt gazdanövénynek mutatkoznak a három különböző trofitású élőhelyen egyaránt. A többi úszólápi növényfajból kimutatott filotípusok száma 1 és 3 közötti.

Új tudományos eredmények

- Feltártam hazánk három fő úszóláp típusán 25 jellemző társulásalkotó növényfaj különböző gyökerezési szintjén az AM-gombák kolonizációját.
- Kivontam 14 úszólápi növényfaj gyökereiből 77 DNS izolátumot, ebből 15 úszólápi AMgomba filotípust azonosítottam.
- Megállapítottam a három fő hazai úszóláp típus AM-gomba közösségeinek diverzitását.
- Bizonyítottam, hogy a 15 úszólápi filotípus más, extrém környezeti hatásoknak kitett élőhelyek filotípus készletével mutat nagyfokú hasonlóságot.
- Kimutattam, hogy egyes *Carex*-fajok valamint az *Eriophorum angustifolium* az AM-gombák állandó kolonizációjával jellemezhetők az úszólápokon.
- Bizonyítottam, hogy növényegyedek AM-gomba kolonizáltsága alapján el lehet különíteni az egyes élőhelyeket és gyökerezési zónákat.
- Elvégeztem hazánkban ezidáig csak úszólápokon fellelt *Hygrocybe* taxon genomi szintű azonosítását.

Következtetések, javaslatok

Eredményeink megalapozzák a hazai úszólápi növényekkel együtt élő nagyomba /ektomikorrhiza és AM-gombaközösségeinek további megismerését. Elsősorban a nagyombák fajspektrumának molekuláris módszerekkel történő feltárása lehet fontos az úszólápok egyedi biológiai jelentőségének megismerésében, amit a szerző herbáriumának közel 100, morfológiai alapon nem azonosítható, így molekuláris taxonómiai elemzésre váró kalapos gomba mintája is alátámaszt.

A *Hygrocybe* nemzetség rendszertanának molekuláris módszereket alkalmazó újraértékelése egyes, úszólápon fellelt taxonok azonosításával tovább folytatódik. A *H. coccineocrenata* esetében a leírtak alapján feltételezhető azonosításhoz szükséges molekuláris, filogenetikai elemzést termőtestek ismételt fellelése esetén újra elvégezzük.

Az úszólápi növények a tőzeg réteges szerkezetét követően, egyidejűleg több gyökerezési szintben is kolonizálódnak AM-gombákkal. További, szélesebb körű vizsgálatot igényel az oligotróf úszóláp általunk vizsgált, felszínen gyökerező növényeiben az AM teljes hiánya éppúgy, mint az a mindhárom élőhely úszólápalkotó növényeiben egyaránt felsejlő dinamika, ami az arbuszkuláltság és a lápvízi pH-értékei közötti fordított arányú összefüggéssel nyomon követhető. A háromféle úszóláp típuson detektált különböző filotípusok megoldást jelenthetnek bizonyos környezeti károk elhárításában.

A szárazföldi és vízi élőhelyek közötti átmenetet képviselő úszólápok száma gyorsan fogyatkozik. Kiemelkedő természetvédelmi jelentőségüket kutatási eredményeink is alátámasztják. Ezek szerint hazánkban ezidáig kizárólag csak úszólápról előkerült bazídiumos fajok: *C. tubarius*, *C. uliginosus*, *H. coccineocrenata*, *I. lacera* var. *helobia*, *Omphalina gerardiana*, *R. betularum* és *R. laccata* is igazolják, hogy számos ritka és unikális faj számára nyújtanak ezek az élőhelyek utolsó menedéket.

A tézisek alapjául szolgáló közlemények listája

Referált tudományos folyóiratokban megjelent dolgozatok

- Zöld-Balogh, Á., Balogh, M., Engloner, A., Bóka, K., Berecz, B., Bóna, L., Merényi, Zs., Bratek, Z., Parádi, I. (2020) Colonization pattern and molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi from floating islands in Hungary. DOI 10.12905/0380. *Sydowia* 72-2020-0131 *IF* (2018/19): 0,957.
- Babos, M., Halász, K., Zagyva, T., Zöld-Balogh, Á., Szegő, D. és Bratek, Z. (2011) Preliminary notes on dual relevance of ITS sequences and pigments in *Hygrocybe* taxonomy. *Persoonia* 26: 99-107. doi:10.3767/003158511X578349 *IF* (2011): 4,136.
- Zöld-Balogh, Á., Dima, B., Albert, L., Babos, M., Balogh, M. és Bratek, Z. (2008) Floating island macromycetes from the Carpatho-Pannonian Region in Europe. *Sydowia* 61: 149-176. *IF* (2008): 0,459.
- Albert L., Zöld-Balogh Á., Babos M., Bratek Z. (2004) Characteristic cap fungi on floating mats of Carpathian Basin. *Mikológiai Közlemények, Clusiana* 43: 61-74.
- Zöld-Balogh, Á., Parádi, I. és Bratek, Z. (2002a) Mycorrhizal relations of the floating mat plants on the Lake Fekete Örség (Hungary). *Kanitzia* 10: 217-224.
- Bratek, Z. és Zöld-Balogh, Á. (2002b) Reporting Discomycetes from Hungarian floating mats. *Mikológiai Közlemények, Clusiana* 41: 53-62.
- Bratek, Z. és Zöld-Balogh, Á. (2001) The key of European *Peziza* species. *Mikológiai Közlemények, Clusiana* 40: 11-46.

Témához kapcsolódó konferencia prezentációk

- Zöld-Balogh Á., Parádi I., Balogh M., Bratek Zoltán (2012): Hazai úszólápok gombavilágának összehasonlító vizsgálata. Aktuális Flóra- és Vegetációkutató a Kárpát-medencében IX. Nemzetközi Konferencia, Szent István Egyetem, Gödöllő, 2012. 02. 24-26. *Kitaibelia* 17: 67. (előadás)
- Halász, K., Zagyva, T., Bratek, Z., Zöld-Balogh, Á., Albert, L. (2003) A *Hygrocybe* nemzetség rendszertani problémái. In. Háromoldalú Botanikai és Mikológiai Konferencia, Szentgotthárd. 06.26. - 06.29. 136-145.
- Zöld-Balogh, Á., Parádi, I. és Bratek, Z. (2010) Az örségi úszólápok gombavilága. Természeti értékeink a lápok. Lápok, láprétek és egyéb láposodó élőhelyek tudományos és természetvédelmi jelentősége. Konferencia. Szombathely, Óriszentpéter, ápr. 29- máj. 1. (előadás)

- Parádi, I., Zöld-Balogh, Á. és Bratek, Z. (2010) Hazai úszólápok mikorrhizagomba-diverzitásának vizsgálata. MBT. XXVIII. Vándorgyűlésére. szept. 29-okt. 1.
- Bratek, Z., Zöld-Balogh, Á. és Balázs, T. (2003) New data of ascomycetaceous fungi from Órség National Park. Trilaterale Botanische und Mykologische Tagung, Clusius Forschungstation im Dreilaendereck, vom 26. 06. bis 29. 06. Szentgotthárd. 147-161.
- Bratek, Z., Halász, K. és Zöld-Balogh, Á. (2003) A piros csészegombák fajainak magyarországi elterjedése és szubsztrát-preferenciája. In: Dombos Mihály, Lakner Gábor (szerk.) / Magyar Ökológus Kongresszus: Előadások és poszterek összefoglalói. Gödöllő. 08.27-08.29. Nyíregyháza: Bessenyei Könyvkiadó: 55. (poszter)
- Zöld-Balogh, Á., Parádi, I., Balogh, M. és Bratek, Z. (2003) Arbuskuláris mikorrhiza-kolonizáció szezonális változásainak vizsgálata magyarországi úszólápok növényeiben. In: Dombos Mihály, Lakner Gábor (szerk.) Magyar Ökológus Kongresszus: Előadások és poszterek összefoglalói. Gödöllő. 08.27-08.29. Nyíregyháza: Bessenyei Könyvkiadó: 277. (előadás)
- Zöld-Balogh, Á., Balogh, M., Parádi, I. és Bratek, Z. (2002) Seasonal variation in the arbuscular mycorrhizal colonization of plants in lake Velencei's floating mats. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 49: 391. (poszter)
- Zöld-Balogh, Á., Bratek, Z., Répás, L., Albert, L., Babos, M., Parádi, I. és Balogh, M. (2000) Magyarország úszólápi növényeinek mikorrhizakapcsolatai. In: *Acta Biologica Debrecina Oecologica Hungarica* suppl. Konferencia. Debrecen, 10.25-10.27. Debrecen: 178. (előadás)