

Nyugat-Magyarországi Egyetem
Erdőmérnöki Kar
Erdőművelési és Erdővédelmi Intézet

Ektomikorrhiza oltóanyag előállítási
kísérletek
TDK dolgozat

Készítette:

Kollár Tamás erdőmérnök hallgató

Konzulens:

Dr. Frank Norbert egyetemi docens

Sopron, 2007

Tartalomjegyzék:

1. Bevezetés.....	2
2. Mi a mikorrhiza?	3
2.1. A mikorrhizák típusai.....	3
2.2. Az ektomikorrhizák szerepe.....	4
2.3. A mikorrhizák gyakorlati alkalmazása.....	5
3. Anyag és módszer	6
3.1. A mesterséges mikorrhizálás módszerei	6
3.2. Ektomikorrhiza oltóanyag előállítási kísérlet.....	7
3.2.1. Tavaszi ültetéshez előállított oltóanyag előállításának folyamata	7
3.2.2. Őszi ültetéshez előállított oltóanyag előállításának folyamata	13
4. Eredmények, következtetések	20
4.1. A tavaszi kísérlet eredményei	20
4.2. Az őszi kísérlet eredményei	20
4.3. Összegzés	22

1. Bevezetés

Az erdőben járva a fák szépsége mellett az erdőt járó embernek általában még valami megfogja a tekintetét. Apró gombák mindenfelé a fák alatt. Vagy színesek, és öröm nézni őket bár mérgezőek, vagy barnák, mint a földet borító levélakaró, ilyenkor főleg az ízük miatt keressük őket. Jusson eszünkbe ilyenkor, vajon miféle kapcsolat állhat fenn a hatalmas faóriások, és eme aprócska gombácskák között. Ezt a kapcsolatot nevezzük mikorrhizának, mely minden erdőben láthatatlanul, de megtalálható.

Két dolog van hát, mely miatt ezt a témát kutatom. Egyik, hogy számomra az erdőmérnöki munka egyet jelent új erdő létrehozásával, telepítésével, melyben a gombapartnerek rengeteg segítséget nyújthatnak. Ha belegondolunk hogy az erdőterület növelése még mindig jelentős feladata Magyarországnak, és ezt a mezőgazdaságból kivont termőhelyeken kell végrehajtani, ahol a több évtizedes, esetleg évszázados talajművelés, vegyszerezés minden bizonnyal kipusztított mindenféle gombaflórát, így joggal kell gondoskodnunk a kiültetett csemeték gombapartnereiről. Másik indokom a gombák csodálata és szeretete, no persze nem csak szépségüket nézve, hanem egy jó vacsora mellett is élvezve ízüket. Eme második ok inkább akkor valósulhat meg, ha a mesterséges mikorrhizálást nem a fatermesztés, hanem a gombatermesztés miatt használjuk. Megfelelő gombapartnerrel, mire erdők felnő, kiváló gombászó terület válik belőle.

2. Mi a mikorrhiza?

FRANK már 1885-ban leírta a gombák együttélését gyökerekkel, és a jelenségnek a mikorrhiza („gomba-gyökér”) elnevezést adta. A mikorrhiza valódi ökológiai jelentőségét viszont csak az 1980-as években kezdték felismerni, amióta bebizonyosodott, hogy a Földön élő hajtásos növények legalább 90%-a mikorrhizás kapcsolatban él valamely gombával. Már az 1950-es években radioaktív izotópos vizsgálatokkal igazolták, hogy a mikorrhizaképző gomba a talajból felszívott oldatokat a növény gyökerébe juttatja, mintegy pótolva ezzel a gyökérszőrök munkáját. A nagyobb felületű gombamicéliumok elsősorban a növény vízellátását javítják és a nehezen felvehető szervetlen nitrogén- és foszforvegyületek, illetve egyéb ásványi anyagok felszívását könnyítik meg. A szimbiózis a gomba részére is kedvező, mert a növénytől szerves anyagokat (cukrokat), vitaminokat, növekedésserkentőket kap. Ennek köszönhető, hogy noha a mikorrhizás gombák micéliuma táptalajon tenyészthető, termőtestet csak növényi partnerükkel együtt képesek létrehozni. Azelőtt a mikorrhizát mint érdekes, de ritka jelenséget ismerték, és az ökológusok nagy része még ma sem kezeli valódi szerepének és jelentőségének megfelelően. (Jakucs– Vajna 2003)

2.1. A mikorrhizák típusai

A gomba-gyökér szimbiózisnak morfológiai és funkcionális szempontból, valamint a részt vevő partnerek rendszertani hovatartozását tekintve több típusa alakult ki. Ezeket alapvetően két csoportra, endomikorrhizára és ektomikorrhizára osztjuk, aszerint hogy a gomba behatol-e a növényi sejtek belsejébe, vagy csak kívülről érintkezik velük. A további felosztás alapját a gombapartner által képzett morfológiai képletek (osztatlan, vagy osztott hifák, vezikulák, arbuszkulumok, köpeny) valamint a szimbiózisban részt velő gomba- és növénypartner rendszertani hovatartozása képezi. A továbbiakban a dolgozat nem foglalkozik a vezikuláris-arbuszkuláris mikorrhiza (VAM) kapcsolatokkal, mely a legelterjedtebb mikorrhizatípus, de főleg lágyszárú növényekkel alkot kapcsolatot. Szintén nem foglalkozom az egyéb, kisebb csoportokat érintő mikorrhizák kérdésével sem.

Az erdei életközösségek, és ezen belül is a fák számára legjelentősebb mikorrhizatípus az ektomikorrhiza. Az ektomikorrhiza képzés elsősorban a mérsékelt égövi és boreális erdők fáira jellemző, a trópusi területeken kisebb jelentőségű. A dolgozatban előállított oltóanyag is ebbe a csoportba tartozik.

Az ektomikorrhiza-képzés morfológiai sajátossága, hogy a kolonizáló gomba fonalai csak a gyökér felszínén és kéregsejtjeinek intercelluláris járataiban találhatóak, de nem

hatolnak be magukba a sejtekbe. Az ektomikorrhizáknak három szerveződési és funkcionális összetevőjük van: a gyökércsúcs felszínét borító állszövetes köpeny, a gyökér kéregsejtjeit körülvevő intercelluláris HARTIG-háló, valamint a köpeny felszínéről a talajba ágazó ún. kiágazó hifák rendszere.

Az ektomikorrhizas gomba nem tekinthető minden vonatkozásban obligát biotrófnak, mert heterotróf módon táplálkozva önállóan is képes vegetatív micéliumot fejleszteni a talajban, és táptalajon is tenyészhető, bár jóval gyengébben nő, mint a gyökérhez kapcsoltan.

Az ektomikorrhizák kialakulása főként fák gyökereire jellemző, így növénypartnereik főként a fás növény családkba tartoznak. Nyitvatermő fenyőfélék néhány faja alkotja az északi félteke boreális erdeinek nagy részét. Zárvatermők között az északi félgömb mérsékelt éghajlatú területein a bükkfélék (Fagaceae) nemzetségei a legtömegesebbek, amelyek közül a bükk, tölgy, gesztenye fajok a legfontosabb erdőalkotók. Egyes fák csemetéi fiatalon VAM-ot, később pedig ektomikorrhizát alkotnak.

Az ektomikorrhiza-képző gombák legnagyobb része a bazídiumos gombák közé tartozik (pl. tinórufélék, galócák, galambgombák, tejlőgombák, stb.), kisebb arányban tömlősgombák (pl. szarvasgombák) és járomspórás gombák (pl. Endogonales) között is akadnak ektomikorrhizaképzők.

A gombákat általában a termőtest morfológiája alapján határozzák meg. A termőtestek gyakorisága egy területen azonban egyáltalán nincs korrelációban az ektomikorrhizák gyakoriságával a talajban. A mikorrhizas gyökereket közvetlenül a talajból izolálva kell vizsgálni, ilyenkor előfordul, hogy nem lehet azonosítani a gombát. Ektomikorrhizák meghatározására vannak morfológiai-anatómiai (köpeny színe, szerkezete, függelékei és hisztokémiai reakciói) és molekuláris taxonómiai módszerek is, de ezek nem minden esetben sikeresek. Egyes ektomikorrhiza képző gombák egyáltalán nem fejlesztenek termőtestet, ezeket anamorfáknak tekinthetjük. (Jakucs– Vajna 2003)

2.2. Az ektomikorrhizák szerepe

Laboratóriumi és szabadföldi kísérletekben széleskörűen igazolták, hogy az ektomikorrhizas növények növekedési paraméterei jobbak, tömegük nagyobb, mint a nem mikorrhizált növényeké. Bár ebben a növekedésserkentő hatásban főként a víz és tápanyag (elsősorban foszfor) felvételének javítása játszik döntő szerepet, nem szabad elhanyagolni a gombának a növényre gyakorolt közvetlen hormonális hatását (pl. auxinok termelése), valamint azt a védő hatást, amit a gombaköpeny a kórokozókkal szemben jelent. Mindezek

együttesen a növény fitnessét olyan mértékben javítják, ami egyértelmű előnyt biztosít számukra.

A mikorrhizák elsődleges hatása, hogy javítják növénypartnerük anyagfelvételét és ezzel elősegítik elterjedésüket a gyengébb tápanyagellátottságú, száraz vagy más szempontból előnytelen (pl. szennyezett) környezetben. A mikorrhizák ezenfelül több egyed összekapcsolásával, magasabb szinten közvetlenül magát az életközösséget is szabályozzák.

2.3. A mikorrhizák gyakorlati alkalmazása

A mikorrhizák kutatásának fellendülése az elmúlt két évtizedben nem kis részben annak köszönhető, hogy az eredményeknek igen jelentős gazdasági hasznot hozó gyakorlati alkalmazási területeik is vannak (pl. mezőgazdaság, erdőtelepítés). Ma már megvannak a módszerei a növény és gombapartneré közötti mikorrhizakapcsolat mesterséges kialakításának és alkalmazásának, amivel az erdőtelepítésekben világszerte jelentős eredményeket értek el. A mikorrhizáknak jelentős környezetvédelmi előnyei vannak a különböző anyagokkal (pl. nehézfémekkel) szennyezett talajok rekultivációjában és az ilyen területeken történő erdőtelepítésekben is. Számos kísérlet igazolja, hogy a mikorrhizált csemeték eredése rossz talajokon is megközelíti a 100%-ot. További előnye, hogy szükségtelenné teszi a kémiai talajjavítást, kórokozókkal szembeni védelem pedig a fungicidek alkalmazását.

Gazdasági számítások szerint a mikorrhizált szaporítóanyag használata a mai erdőtelepítési tervek alapján a kezelési költségek levonása után is évente országosan 2-6 milliárd forint megtakarítást tenne lehetővé. Mindezek ellenére hazánkban még alig ismerik, és nem alkalmazzák ezt a technológiát. Ez irányú kísérletek folytak az Erdészeti Tudományos Intézetben (ERTI) Dr. Szántó Mária vezetésével, jelenleg nem foglalkoznak mikorrhiza kutatással. Mikorrhizák tudományos kutatása az Eötvös Lóránd Tudományegyetemen (ELTE), illetve a Kiskunsági Erdészeti és Faipari ZRt.-nél (KEFAG ZRT.) folyik.

3. Anyag és módszer

3.1. A mesterséges mikorrhizálás módszerei

Az 1900-as évek elején az Alföldfásítási programban felmerültek olyan problémák, hogy a fenyőcsemeték nem eredtek meg, nem növekedtek megfelelően. Ezt egy kezdetleges, akár mesterséges mikorrhizálási módszernek is tekinthető módon oldották meg, fenyőállományokból erdei avart vetettek az ültetőárkokba, ezáltal meghonosították a homoktalajú csemetekertben az erdei talajflórát.

A mesterséges mikorrhizálás legegyszerűbb módja termőtestek gyűjtése, és ezek feldarabolása, és a csemeték alá szórása is lehet. Hatékonysága alacsony.

Biztosabb módszer a talaj mikorrhizával való oltása. Ennek hátránya, hogy nagy mennyiségű oltóanyagot igényel, ezért viszonylag drága. Szükséges hozzá a termesztőközeg előzetes fertőtlenítése is. Előnye, hogy sokáig megőrizheti biztonságosan a gombapartner.

A legelterjedtebb, és legcélravezetőbb módszer az oltandó csemeték gyökerének közvetlen oltása. Ez egyszerűen a gyökerek valamilyen mikorrhiza micéliumokat tartalmazó oldatba való belemártásával történhet. Hátránya, hogy a gombapartner nem tárolható hosszú ideig szabad levegőn, azonnal el kell ültetni a csemetéket. Ennek gépesítése eddig nem megoldott. Előnye, hogy a csemete a legnagyobb valószínűséggel kapja meg az általunk kiválasztott gombapartner.

3.2. Ektomikorrhiza oltóanyag előállítási kísérlet

Az oltóanyag előállításának folyamatát 2007. januárjában kezdtem el a Nyugat-Magyarországi Egyetem Erdőmérnöki Karán (NYME-EMK), az Erdőművelési és Erdővédelmi Intézetében (EMEVI). Dr. Szántó Mária, a Nyugat-Magyarországi Egyetem (NYME) címzetes egyetemi docense által ismertetett metodikát hajtottam végre, célom tölgy fajokhoz mikorrhiza oltóanyag előállítása.

3.2.1. Tavaszi ültetéshez előállított oltóanyag előállításának folyamata

2007. január 29.

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Zoológiai Intézet, Növénytan Tanszék (1077 Budapest, Rottenbiller u. 50.), Mikológiai laboratórium

Külső konzulens: Dr. Szántó Mária

1. Steril petricsészék készen voltak.
2. Táptalaj készítése:

MMN – Modified Melin Medium

Összetevők:

Maláta kivonat:	3 g
D glükóz:	10 g
Amónium – dihidrogén – foszfát:	0,25 g
Kálium – dihidrogén – foszfát:	0,5 g
Magnézium – szulfát:	0,15 g
Kalcium – klorid:	0,05 g
FeCl ₃ 1%-os oldata:	1,2 ml
Nátrium – klorid:	0,025 g
Agar – agar:	15 g
Desztillált víz:	1000 ml

Felfőzés: 2-szeres térfogatú lombikban (2000 ml) autoklávba helyezve 120 °C-on, 1,2 atmoszféra nyomás mellett, 20 percig. (Ezalatt a táptalaj felfő és a sterilizálás is megtörténik)

3. Gombapartner keresése:

Dr. Szántó Mária gyűjteményéből 3 kiválasztott törzs: ezek kriogéncsövekben voltak tárolva (1. kép) desztillált vizes közegben, hűtőszekrényben hosszabb ideje (több év).

A kiválasztott törzsek:

Pa1AG – *Paxillus involutus*

Ru5A – *Russula cyanoxantha*

Xe1AB – *Xerocomus chrysantheron*

Jelölés értelmezése:

Pl. Pa1AG: Pa: nemzettség, 1: faj, AG: törzs

A választás azért ezekre a fajokra esett, mivel általánosan elterjedt fajok, több fajtával is alkotnak mikorrhizát. Bevitelük bármilyen kísérleti területre nem okozhat problémát, illetve könnyen felszaporíthatóak laboratóriumi körülmények között.



1. kép: Kriogén csövekben tárolt gomba mycéliumok.

4. Munka a steril fülkében

A táptalaj az autoklávból a már beüzemelt sterilfülkébe kerül a steril petricsészékkel és a kriogén csövekben tárolt gombatörzsekkel együtt.

Metodika:

- a) táptalaj kiöntése a steril petricsészékbe (27 db)
- b) a steril gombatörzsek kiöntése törzsenként egy-egy steril petricsésze egyik felébe
- c) a kihűlt táptalajra helyezünk alkoholláng felett sterilizált eszközzel 1-1 gombakorongot, majd a petricsészét lezárjuk parafilm-mel

5. Az így elkészített petricsészéket 25 °C-os termosztátba helyezük, melyek így kb. 1 hónap alatt kifejlődnek, és elfogyasztják a táptalaj szerves anyagait.

2007. március 2.

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Zoológiai Intézet, Növényteni Tanszék
(1077 Budapest, Rottenbiller u. 50.), Mikológiai laboratórium

1. A termosztátból kivesszük és elbíráljuk a mycéliumtenyészetek növekedését.

Eredmények:

Ru5A – *Russula cyanoxantha*

Kifejlődött (2/a. kép)

Xe1AB – *Xerocomus chrysantheron*

Kifejlődött (2/b. kép)

Pa1AG – *Paxillus involutus*

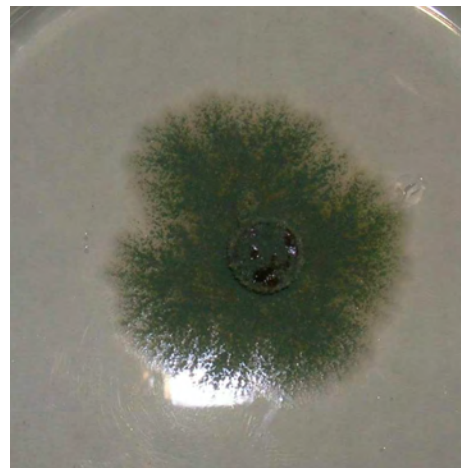
egy zöldszínű penészfertőzés érte az összes tenyészetet, valószínűsíthető, hogy nem sikerült a steril tárolást megvalósítani az előző időszakban (2/c. kép)



2/a. kép: *Russula cyanoxantha*.



2/b. kép: *Xerocomus chrysantheron*.



2/c. kép: *Paxillus involutus*.

2. Alumínium hengerekben a kifejlődött, nem fertőzött tenyészeteket eljuttattam Sopronba, ahol az oltóanyag előállítására és felhasználására történik majd.

2007. március 7.

Nyugat-Magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Erdőművelési és Erdővédelmi Intézet
Erdővédelmi laboratóriuma (9400 Sopron, Bajcsy-Zsilinszky u. 4.)

1. 4 db 2000 ml-es Erlenmeyer lombikban tápoldat előállítás. A metodika azonos az előzőekben készített táptalajhoz, kivétel, hogy agar-agar nem kerül az összetevőkbe.

Tápoldat készítése:

MMN – Modified Melin Medium

Összetevők:

Maláta kivonat:	3 g
D glükóz:	10 g
Amónium – dihidrogén – foszfát:	0,25 g
Kálium – dihidrogén – foszfát:	0,5 g
Magnézium – szulfát:	0,15 g
Kalcium – klorid:	0,05 g
FeCl ₃ 1%-os oldata:	1,2 ml
Nátrium – klorid:	0,025 g
Desztillált víz:	1000 ml

Felfőzés: 2-szeres térfogatú lombikban (2000 ml) autoklávba helyezve 120 °C-on, 1,2 atmosféra nyomás mellett, 20 percig. (Ezalatt a táptalaj felfő és a sterilizálás is megtörténik)

2. Munka a steril fülkében

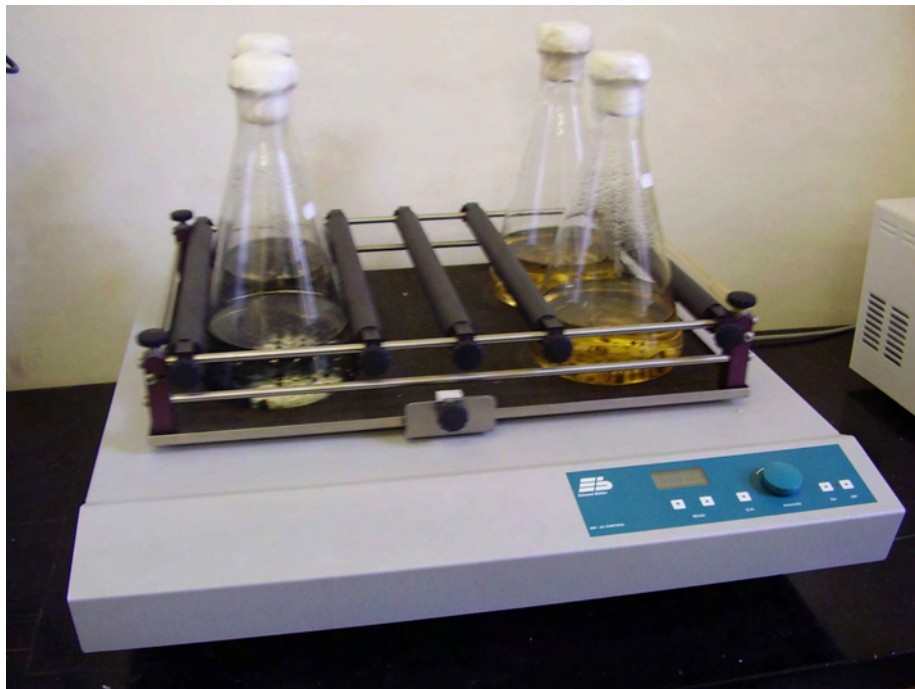
A tápoldatot tartalmazó lombikok az autoklávból a már beüzemelt sterilfülkébe kerülnek a tenyészetekkel együtt.

- Metodika:
- a) a petricsészékről eltávolítjuk a parafilmot.
 - b) gázláng felett sterilizált szikével 2-3 mm-es kockákra hasogatjuk a táptalajon növekedett mycéliumtenyészeteket (3. kép).
 - c) az így összedarabolt tenyészeteket arányosan elosztva fajonként 2-2 tápoldatos lombikba átemeljük a sterilitás megőrzése mellett
 - d) a lombikokat gézdugóval lezárjuk, és parafilmmel lefedjük.



3. kép: *Munka közben a steril fülkében.*

3. Az így elkészített lombikokat rázógépre helyezük az EMEVI földszinti laborjában. A rázógép szerepe, hogy folyamatosan levegőztesse a gombafonalakat, elősegítve a növekedésüket, és megelőzve befulladásukat. 1 hónapig folyamatosan működni kell. A rázógép egy síkrázógép, melyet az Erdészeti Tudományos Intézettől (ERTI) kaptunk kölcsön a kísérlet idejére.



4. kép: *A rázógépen lévő tenyészetek.*

2007. április 3.

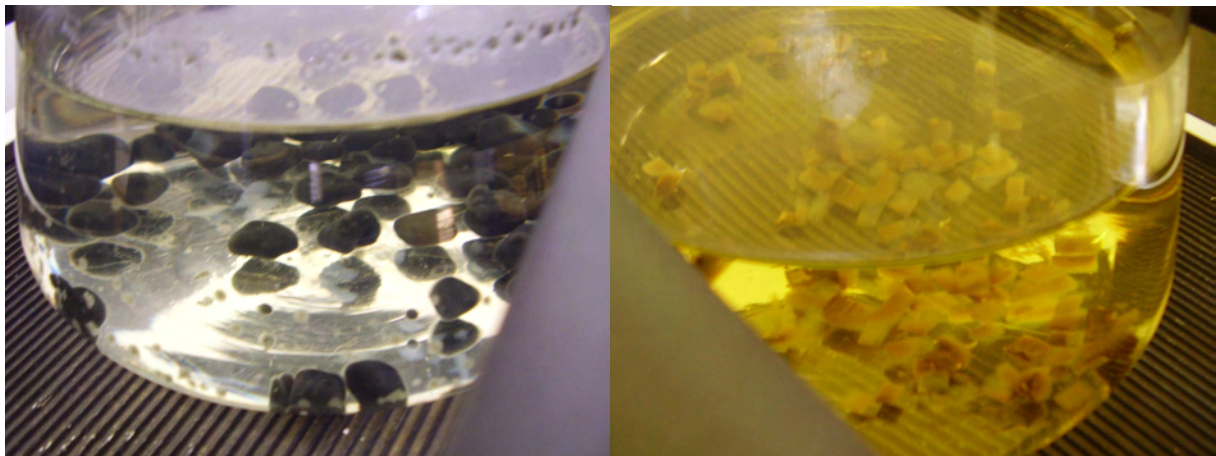
Nyugat-Magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Erdőművelési és Erdővédelmi Intézet,
Erdőművelés labor

1. Folyamatos felügyelet mellett a folyékony mycéliumtenyészetek elvileg kifejlődtek.

Eredmények:

Ru5A – *Russula cyanoxantha* a 2db 1000 ml-es lombikban a tápoldat áttetszővé vált, a gombakockák kb. 10 mm átmérőjű gombócokká növekedtek. Az áttetszőség oka, hogy minden szerves tápanyagot felhasznált a gomba a növekedéshez. (5. kép: balra)

Xe1AB – *Xerocomus chrysantheron* a 2db 1000 ml-es lombikban a tápoldat színe nem változott, a gombakockák közül csak 1-1 kezdett el gombóccá fejlődni. A másik fajhoz viszonyítva nem tudtuk megállapítani a fejlődés lassú ütemének okát. Lehetséges, hogy a rázógép sebessége nem volt kielégítő. (5. kép: jobbra)



5. kép: a lombikokban kifejlődött mycéliumtenyészetek.

2. Az így kifejlődöttnek ítélt folyékony mycéliumtenyészetekből állítjuk elő a kísérleti területen felhasználandó oltóanyagot, más néven inokulumot (inokulum: beoltással a szervezetbe juttatott anyag).

Methodika: a) a lombikok tartalmát egyszerű turmixgéppel feldaraboljuk
b) ezt a szuszpenziót 2-3 liter vízzel hígítjuk, és ebbe az inokulumba mártjuk be az ültetés előtt a csemetéket

Itt történt meg az előbbieken leírt inokulum készítés, majd az oltóanyagot, és az oltani kívánt KST 2/0 AV (Kocsányos tölgy, 2 éves, magági, alávágott) csemetéket az ültetés helyszínére szállítottuk.

Fertőrákos 26 D erdőrészlet

A kijelölt erdőrészlet erdőtelepítésre kijelölt, 2 éve sikertelenül próbálják telepíteni, a TAEG-től lehetőséget kaptam 6 db 10x10 m-es kísérleti parcella kijelölésére, melyekben a pótlásokat beoltott és kontroll csemetékkal oldhatom meg.

Az oltás egyszerűen a csemeték mikorrhiza képleteket tartalmazó oldatba való bemártásával történt. Az ültetés ékásóval történt. Minden elültetett csemete helye, az oltóanyag, és a csemete magassága beazonosítható.

3.2.2. Őszi ültetéshez előállított oltóanyag előállításának folyamata

2007. június-július

Ebben az időszakban gomba termőtestek gyűjtése volt a feladat, a kísérleti területhez közel, ezért a Dudlesz-erdőbe jártam több alkalommal. A célom az volt, hogy a friss termőtestekből laboratóriumban steril tenyészeteket neveljek szeptemberre. A gombagyűjtések másnapján a termőtesteket leoltottam az Erdővédelmi laboratóriumban.

Az oltás metodikája:

1. Táptalaj főzése (ez csak az első alkalommal volt szükséges, a továbbiakban hűtőben tárolva több kisebb lombikban, csak fel kellett melegíteni egy-egy adagot.

MMN – Modified Melin Medium

Összetevők:

Maláta kivonat:	3 g
D glükóz:	10 g
Amónium – dihidrogén – foszfát:	0,25 g
Kálium – dihidrogén – foszfát:	0,5 g
Magnézium – szulfát:	0,15 g
Kalcium – klorid:	0,05 g
FeCl ₃ 1%-os oldata:	1,2 ml
Nátrium – klorid:	0,025 g

Agar – agar: 15 g
 Desztillált víz: 1000 ml

Felfőzés: 2-szeres térfogatú lombikban (2000 ml) autoklávba helyezve 120 °C-on, 1,2 atmoszféra nyomás mellett, 20 percig. (Ezalatt a táptalaj felfő és a sterilizálás is megtörténik). A tárolás fél literes lombikokban történt.

2. Steril petricsészébe táptalaj öntése a steril fülkében.
3. A labor külső részében a termőtestek félbevágása (egyik fél herbárium). A másik felet gondosan meg kell tisztítani a külső rétegektől. Ezután petricsészébe helyezve kerül a steril fülkébe.
4. Oltás: a tiszta termőtesteket kettétörjük, így a steril gombahúshoz jutunk. Szike segítségével 1-2 mm-es kockákat metszünk ki és helyezünk a táptalajra, majd a petricsészéket parafilmmel lezárjuk.

Az 1. táblázatban közlöm a gyűjtések és labormunka eredményeit.

Sorszám	Gyűjtés dátuma	Gombafaj neve		Legközelebbi faj neve		Oltás dátuma	Oltott petricsészék száma
		magyar név	tudományos név	magyar név	tudományos név		
1	2007.06.14	Kékhátú galambgomba	<i>Russula cyanoxantha</i>	Kocsányos tölgy	<i>Quercus robur</i>	2007.06.15	2
2	2007.06.14	Változékony tinóru	<i>Boletus luridus</i>	Csertölgy	<i>Quercus cerris</i>	2007.06.15	2
3	2007.06.14	Változékony tinóru	<i>Boletus luridus</i>	Csertölgy	<i>Quercus cerris</i>	2007.06.15	2
4	2007.06.14	Piros galambgomba	<i>Russula rosacea</i>	Kocsányos tölgy	<i>Quercus robur</i>	2007.06.15	2
5	2007.06.17	Molyhos tinóru	<i>Xerocomus subtomentosus</i>	Kocsányos tölgy	<i>Quercus robur</i>	2007.06.18	4
6	2007.06.17	Molyhos tinóru	<i>Xerocomus subtomentosus</i>	Kocsányos tölgy	<i>Quercus robur</i>	2007.06.18	4
7	2007.06.25	Piros galambgomba	<i>Russula rosacea</i>	Kocsányos tölgy	<i>Quercus robur</i>	2007.06.26	3
8	2007.06.28	Varashátú galambgomba	<i>Russula virescens</i>	Kocsányos tölgy	<i>Quercus robur</i>	2007.06.29	3

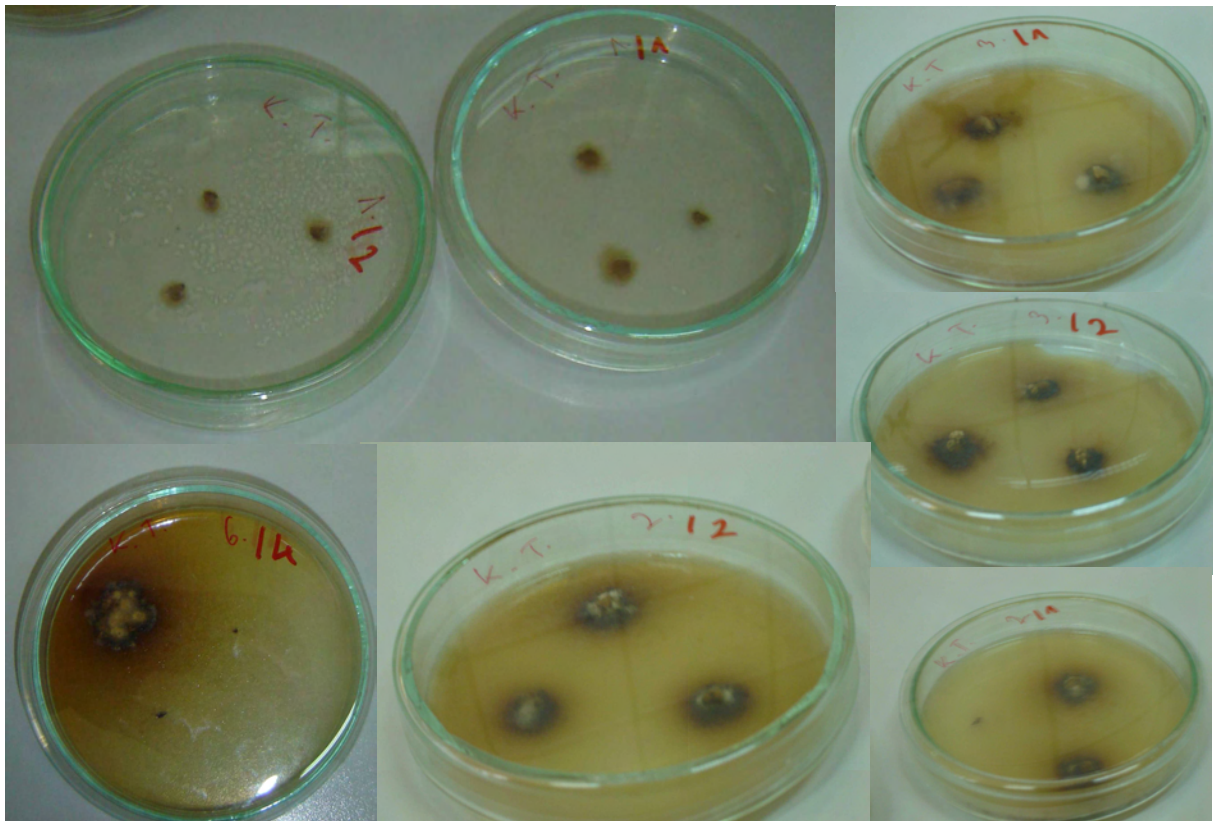
1. táblázat: A gyűjtések és labormunka eredményei

Annak oka, hogy ilyen kis mennyiségű gombát lehetett találni a nyár folyamán, a rendkívül aszályos időjárás volt az oka.

A 2. táblázatban és 6. képen a kifejlődött micéliumtenyészeteket közlöm.

A felszaporításra alkalmas tenyészetek (2007.09.25.):		
Jelölés	Gombafaj neve	
	magyar név	tudományos név
1/1, 1/2	Kékhátú galambgomba	<i>Russula cyanoxantha</i>
2/1, 2/2	Változékony tinóru	<i>Boletus luridus</i>
3/1, 3/2	Változékony tinóru	<i>Boletus luridus</i>
6/4	Molyhos tinóru	<i>Xerocomus subtomentosus</i>

2. táblázat: Felszaporításra alkalmas tenyészetek.



6. kép: Felszaporításra alkalmas tenyészetek.

2007. október 4.

Gombatermőtestek gyűjtése oltás céljára a Klastrom-nyiladék mentén.

Talált fajok: Párducgalóca (*Amanita pantherina*), Begöngyöltszélű cölöpgomba (*Paxillus involutus*), Barna tinóru (*Xerocomus badius*)

2007. október 5.

Nyugat-Magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Erdőművelési és Erdővédelmi Intézet,
Erdővédelmi laboratórium

1. Táptalaj és tápoldatok készítése (7.kép)

MMN – Modified Melin Medium

Hozzávalók:

Tápoldatok: 7x1000 ml-es lombik		Táptalaj: 1x1000 ml-es lombik	
Maláta kivonat:	1,5 g	Maláta kivonat:	1,5 g
D glükóz:	5 g	D glükóz:	5 g
Amónium – dihidrogén – foszfát:	0,125 g	Amónium – dihidrogén – foszfát:	0,125 g
Kálium – dihidrogén – foszfát:	0,25 g	Kálium – dihidrogén – foszfát:	0,25 g
Magnézium – szulfát:	0,075 g	Magnézium – szulfát:	0,075 g
Kalcium – klorid:	0,025 g	Kalcium – klorid:	0,025 g
FeCl ₃ 1%-os oldata:	0,6 ml	FeCl ₃ 1%-os oldata:	0,6 ml
Nátrium – klorid:	0,0125 g	Nátrium – klorid:	0,0125 g
Desztillált víz:	500 ml	Desztillált víz:	500 ml
		Agar – agar:	15 g

Felfőzés: 2-szeres térfogatú lombikban (2000 ml) autoklávba helyezve 120 °C-on, 1,2 atmoszféra nyomás mellett, 20 percig. (Ezalatt a táptalaj felfő és a sterilizálás is megtörténik)



7.kép: A táptalaj és tápoldatok készítése lépésekben.

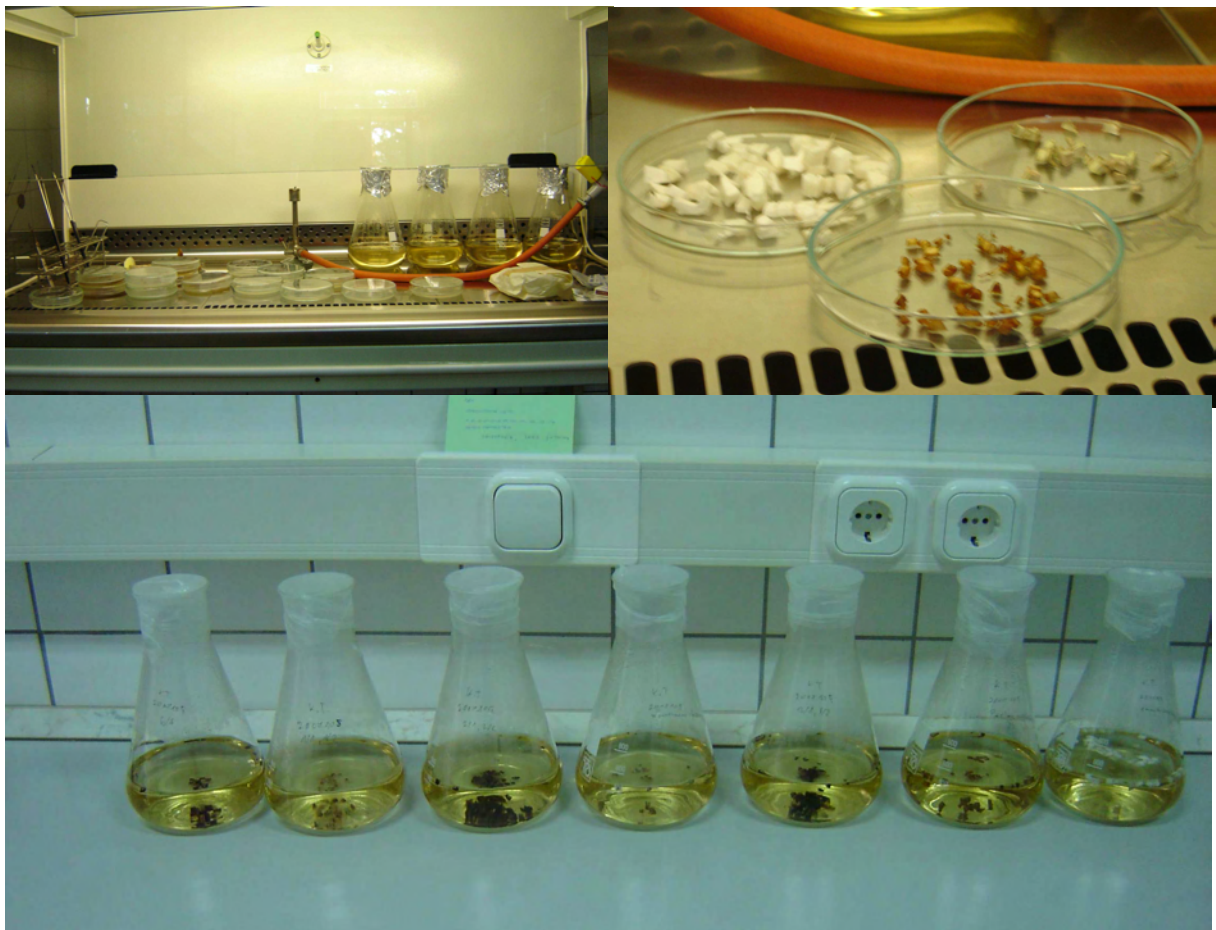
2. Termőtestek megtisztítása: A labor külső részében a termőtestek félbevágása (egyik fél herbárium). A másik felet gondosan meg kell tisztítani a külső rétegektől. Ezután petricsészébe helyezve kerül a steril fülkébe (8. kép).



8.kép: A termőtestek megtisztítása.

3. A steril fülkében a termőtestek külső rétegét még egyszer meg kell tisztítani, ezután a maradék anyagot steril petricsészében felaprítom.

4. A táptalajt petricsészékbe öntöm, erre oltom vissza a steril tenyészeteket és oltok a friss termőtestekből is megőrzésre.
5. Micéliumtenyészetek felkockázása, 1-1 kocka a petricsészékbe kerül, a többi a tápoldatokba.
6. A felaprított termőtest darabokból is oltást végzek petricsészébe, a többi anyagot a tápoldatokba teszem.
7. A lombikokat és petricsészéket parafilmmel lezárom. A petricsészék termosztátba kerülnek (22,5°C), a lombikok szobahőmérsékleten a művelés laborban lesznek elhelyezve. A metodikán változtatást kellett végrehajtani, egyrészt mivel a rázógépet ekkor nem tudtunk kölcsönkérni, másrészt Dr. Barna Tamás (KEFAG ZRT.) megállapítása szerint nem feltétlenül szükséges az Erlemeyer lombikok folyamatos rázatása. Napi kézi rázogató mellett várjuk az oltóanyag kifejlődését. A munka eredménye a 9. képen látható.



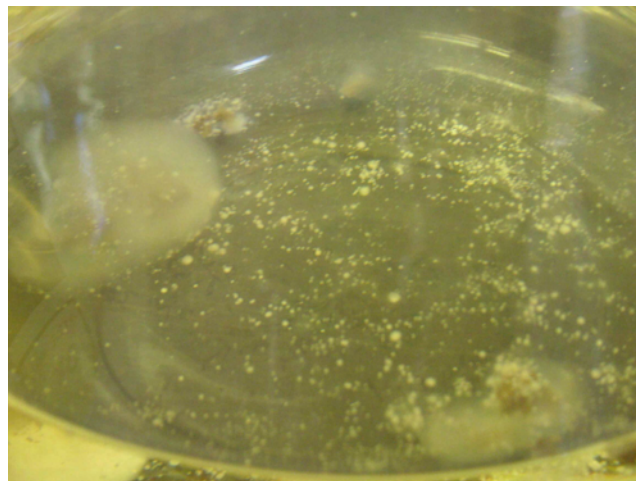
9. kép: Végeredmény.

8. Az oltóanyagok közül az *Amanita pantherinával* történt kísérlet már másnap (október 6.) sikertelennek volt nevezhető. Az oldat színe megsötétedett, valamilyen fertőzés érhetett (10. kép).



10. kép: *Megsötétedett tenyészet.*

9. 2007. október 15-én a 2 megmaradt termőtestből készített tenyészetnél apró fehér gombócok lettek megfigyelhetők. Ezek valamiféle penészek lehetnek. Valószínűleg a szakszerű tisztítás mellett is a gomba termőtestek belsejében már jelen voltak ezek a penészek.



11. kép: penészfoltok a tápoldatban

10. A táptalajokról átoltott lombikokban fejlődés nem tapasztalható 2007. október 29-éig.

4. Eredmények, következtetések

4.1. A tavaszi kísérlet eredményei

A 3.1. fejezetben látható, hogy 3 szaporítani kívánt gombatorzsból 2 törzset sikeresen kitenyésztettem, végül 1 törzs fejlődött alkalmassá a mikorrhiza oltóanyag előállítására, és abból sikeres oltás elvégzésére. Ez 33,3%-os sikernek minősíthető.

A sikertelenség okai az alábbiakban foglalhatók össze:

- A nem megfelelő tárolás miatt a *Paxilus involutus* törzs már fertőzött volt, kifejlődni nem tudott.

- A rázógépek sebessége lehet hogy alacsony volt, így a *Xerocomus chrysantheron* törzs 1 hónap alatt nem tudott megfelelően kifejlődni. Valószínűleg a levegőellátás nem volt megfelelő.

- Érdekes, hogy a *Russula cyanoxantha* törzs fejlődése ugyanezen rázogatás mellett tökéletesen kifejlődött.

Az erdészeti ültetési szezon miatt nem várhattunk tovább a csemeték beoltásával, illetve a *Russula cyanoxantha* oltóanyag tovább fejlődni már nem tudott, tápanyagait elfogyasztotta a tápoldatból. Lehetséges hogy a *Xerocomus chrysantheron* törzs 2-3 hét várakozás után kifejlődhetett volna.

2007. április 3-án kiültetésre került csemeték növekedésmenetének vizsgálatáról adatokat közölni nem tudok. Ennek oka a TAEG ZRT. által elkövetett ápolási hibára vezethető vissza. A nyár folyamán többszöri szemlézés alkalmával a terület gyomtalanítása nem történt meg. A szeptemberi szemle során ápolás megtörténte látható volt, ám az szakszerűtlenül történt. Sorközápolást kellett volna végrehajtani szárzúzó alkalmazásával, ehelyett az erdőrészlet teljes területe a kísérleti parcellákkal együtt 20 cm magasságban szárzúzóva lett. A csemetesorokban csemetét alig találtunk, magassági növekedésüket mérni nem lehetett.

4.2. Az őszi kísérlet eredményei

Mint a 3.2. fejezetben látható, 8 gomba termőtestet találtam a nyár folyamán a Dudlesz-erdőben, ezekből készítettem el a micélium tenyészeteket a táptalajokon. A 8 törzsből 4 fejlődött ki. Ez 50 %-os eredménynek nevezhető. A nem kifejlődött törzsek oka lehetett a termőtestek öregsége, hiszen nem tudni, a begyűjtés előtt mikor fejlődött ki az erdőben a

gombatermőtest. Másik ok lehetett a termosztát hőmérséklete. Mivel az erdővédelmi laboratóriumban több kísérlet is folyik, a termosztátok hőmérsékletét nem emelhettem feljebb. A kísérletek alatt 22,5°C volt a termosztátok hőmérséklete. Lehetséges, hogy 25°C hőmérséklet mellett jobb növekedést értünk volna el.

A 4 törzstől jelenleg naponkénti kézi rázatás mellett vártam, hogy az őszi csemeteültetésre kifejlődjenek. Október 5-én állítottam be a kísérletet, október 29-ig növekedést nem tapasztaltam. Ennek legvalószínűbb oka a rázógépj hiánya. Ennyi idő alatt a tavaszi kísérletekben a fejlődés már szembetűnő volt. A kísérletet sikertelennek minősítettem.

Bebizonyosodott hogy oltóanyag előállításra rázógépj nélkül nem lehetséges, a tenyészetek nem fejlődnek ki.

A kísérletek másik része az volt, hogy friss termőtestekből a közbenső lépés, azaz a petricsészékben történő micéliumtenyészetek létrehozásának kihagyásával állítsuk elő a mikorrhiza oltóanyagot. 3 termőtestből készítettem el az oltóanyagokat, és folyamatos sikertelenséggel találkoztam. Első nap megsötétedett az *Amanita pantherinából* készült oldat. 10 nap múlva pedig megjelentek a másik két oldatban apró fehér penészfoltok, melyek az elkövetkező napokban egyre jobban megnőttek. Így a *Paxillus involutus* és *Xerocomus badius* termőtestekből beállított kísérletet is sikertelennek könyvelhettem el. Ez sajnos a termőtestekből történő mikorrhiza oltóanyag előállítás szempontjából 100%-os kudarc, sikert nem értem el.

A sikertelenség okai a következők lehetnek:

- A termőtestek öregsége, hiszen nem tudni, a begyűjtés előtt mikor fejlődött ki az erdőben a gombatermőtest.
- A termőtestek penészekkel fertőződhetnek az erdőben vagy akár az egynapos tárolás alatt.

Ha figyelembe vesszük, hogy a termőtestekből készített petricsészés micéliumtenyészetek is csak 50%-ban fejlődtek ki, ha ezt a lépést kihagyjuk, a hiba halmozódik. Az előző kísérlet során 50%-os eredményt értem el az oltóanyag tápoldatban történő előállításában. Egyszerű szorzással, $0,5 * 0,5 = 0,25$, tehát 25% esély van rá, hogy a friss termőtestekből oltóanyag fejlődhet ki. Mivel 3 tenyészetem lett beállítva, ennek negyede egynél kevesebb. Így kicsi volt az esély egy megfelelő tenyészet létrehozására. A kísérlet nem is sikerült, mint olvasható a 3.2. fejezetben.

Az előbbi eszmefuttatás miatt nem javaslom a közbenső lépés kihagyását oltóanyag előállításakor. Túl nagy a sikertelenség esélye, emellett jelentős az elpazarolt vegyszer mennyisége.

4.3. Összegzés

A mikorrhizálásnak a kivitelezése és alkalmazása komoly szakértelmet igénylő tevékenység, amihez megfelelő kutatási-ellenőrzési háttérrel kell biztosítani, mert a szakszerűtlen alkalmazásnak fennáll az a veszélye, hogy nem váltja be a hozzá fűzött reményeket és gazdaságtalanná válik. Jelenleg Magyarországon ipari mikorrhiza oltóanyag előállítás nem folyik, Európában viszont több jelentősebb cég foglalkozik ezzel.

A Mykoplant Biotechnology AG, Németország, olyan oltóanyagot állít elő, mely VAM endomikorrhizát tartalmaz. 100000 oltóképes micélium propagulumot biztosít 1 liter oltóanyagba. Termékei nagyobb földrajzi területekre, kontinensekre vonatkoztatva árusítja.

Symbio-m Ltd., Csehország, több típusú oltóanyagot forgalmaz kertészeti kultúrák és erdészeti szükségletekre is. Az oltóanyag előállításának menete hasonló ahhoz, a kísérletben bemutatott módszerhez.

Jelenleg nincs sem Európai Unió, sem Magyarországi törvényi szabályozása a mikorrhiza oltóanyagok felhasználásának és forgalmazásának. Ennek kidolgozása még várat magára. Ki kell dolgozni valamiféle minőségbiztosítást (micéliumok száma adott mennyiségű oldatban), illetve megfelelő összehasonlító kísérletekkel bizonyítani az adott oltóanyag hatékonyságát. Mindemellett állami támogatással lenne csak lehetséges a megfelelő laboratóriumi háttér megteremtése, mely lehetővé tenné Magyarországon a technológia kivitelezését.

Véleményem szerint a mikorrhizák alkalmazása jelentősen segítené hazánk erdősítettségének növelését, emellett sokban segítené a felújítások sikerességét is. Ez mind szakmai, mind gazdasági szempontból nem elhanyagolható.

A kísérletek végső eredményei, hogy egy törzsből, a *Russula cyanoxantha* törzsből sikeresen állítottam elő oltóanyagot. Ezzel kocsányos tölgy csemeték oltása is megtörtént, ám a kísérlet kívülálló okból nem kiértékelhető. Technológiai változtatás, miszerint rázógép használata nélkül vártuk a tenyészetek kifejlődését sikertelen lett. Szintén sikertelen volt az oltóanyag előállításának kipróbálása friss termőtestekből, a táptalajra történő oltás kihagyásával.

Felhasznált és ajánlott irodalom:

- Albert – Jakucs – Kékedi – Locsmáncsi – Siller – Vasas (2005): Mikológiai ismeretek tanfolyami jegyzet, Magyar Mikológiai Társaság, Budapest. 44-46. pp.
- Bohus Gábor – Kalmár Zoltán – Ubrizsy Gábor (1950): Magyarország kalaposgombái, Akadémiai kiadó, Budapest. 25-32. pp.
- Hollós László (1911): Magyarország földalatti gombái, K. M. Természettudományi Társulat, Budapest.
- Jakucs Erzsébet (2003. május): A mikorrhizák erdészeti alkalmazásának perspektívái és veszélyei, Erdészeti lapok CXXXVIII. Évf. 5. szám
- Jakucs Erzsébet – Vajna László (2003): Mikológia, Agroinform kiadó, Budapest. 291-304. pp.
- J.W.G. Cairney – S.M. Chambers (1999): Ectomycorrhizal Fungi, Springer
- Kalmár Zoltán (1982): A gombák világa, Gondolat kiadó, Budapest. 207-212. pp.
- Szántó Mária (1993): Az erdei és a fekete fenyő (*Pinus sylvestris* L., *Pinus nigra* Arn.) mikorriza kapcsolatai, a mikorrizált növények összehasonlító vizsgálata. Kand. Ért., Budapest.

Internetes irodalom:

<http://www.mykoplant.eu>

<http://www.symbiom.cz>

<http://www.geographic.hu/index.php?act=napi&rov=1&id=1008&PHPSESSID=874b3a40cc950434444894faa822b412>

Sopron, 2007. október 29.

Kollár Tamás, erdőmérnök hallgató