



ORSZÁGOS TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI KONFERENCIA

Arbuszkuláris mikorrhizaképző gomba és hőstressz hatásának funkcionális vizsgálata a növény stressz elleni védekezőrendszerében szerepet játszó gének kifejeződésében

**Functional analysis of gene expressions involved in the plant defense system
due to the affect of arbuscular mycorrhizal fungi and heat stress**

Készítette: **László Livia**
BHZQCQ
Mezőgazdasági biotechnológus, mesterképzés
nappali tagozat
Szent István Campus
Genetika és Biotechnológia Intézet

Témavezető: Dr. Posta Katalin Andrea, egyetemi tanár, MATE,
Szent István Campus, Genetika és Biotechnológia Intézet,
Mikrobiológia és Alkalmazott Biotechnológia Tanszék

**Gödöllő
2022.**

Tartalomjegyzék

Bevezetés.....	3
Célkitűzések	3
Irodalmi áttekintés.....	4
Stresszfogalom és -típusok, általános jelenségek	4
A hő mint stressztényező	7
Növényi stresszválasz az akut hőhatásra	8
Hőmérsékleti trendek	9
Mikorrhiza kapcsolat kialakulása	13
Primer metabolitok szerepe a szimbiózisban	15
Szekunder metabolitok szerepe a szimbiózisban	17
AZ AMF és talajmikroorganizmusok kapcsolata	19
Anyagok és módszerek.....	21
Növénynevelés.....	21
Fenológiai leírás, növénytömeg meghatározása	22
Gyökérkolonizáció meghatározása	22
Molekuláris vizsgálatok.....	22
Fv/Fm, sztóma konduktancia, H ₂ O ₂ és MDA koncentráció, vízpotenciál mérések	24
Enzimatis mérések	24
Eredmények és értékelésük	26
Fenológiai jellemzők	26
Stresszmarkerek és ROS elimináló enzimek	28
Génexpressziós jellemzők	30
Összefoglalás.....	32
Függelékek	34
ANOVA és Tukey-féle utótesztek eredményei	39
Irodalomjegyzék.....	41
Köszönetnyilvánítás	46

Bevezetés

Az agráriumnak különböző kihívásokkal kell szembenéznie, így a globális klímaváltozás okozta extrém időjárási jelenségekkel is. Dolgozatom célja, hogy pontosabb képet kapjunk arról, milyen lehetőségeink vannak a növények stresszhelyzetben történő stratégiáinak a támogatására.

Ismert, hogy az arbuszkuláris mikorrhizaképző gombák pozitívan befolyásolják a növények életfolyamatait, amely elsősorban a növekedésben és a tápelem felvétel fokozásában nyilvánul meg. Egyre több adat van arra vonatkozóan is, hogy például szárazságstressz esetén a mikorrhizált növények ellenálló képessége növekedett. A szárazság mellett a hőmérsékleti stressz igen gyakori és jelentős termés kiesést okoz a mezőgazdaságban. A hőmérsékleti stressz kutatások azonban főleg a hidegstresszre fókuszálnak, amíg a magas hőmérséklet relatíve kevés figyelmet kap. A klímaváltozás hatásának növekedése miatt, azonban egyre inkább központi szerepet kapnak a hőstressz kivédésében szerepet játszó folyamatok, vizsgálatok.

Célkitűzések

Munkám során a mikorrhizaképző gombák növényi stressztűrőképességre gyakorolt hatásának a tanulmányozására szerettem volna fókuszálni, a téma gazdasági jelentőségének okán. Eredményeimmel hozzá szeretnék járulni, hogy az eddigi mikorrhiza-stressz kapcsolat alapján már ismert folyamatokat hogyan befolyásolja a hőstressz. Mindezek az eredmények segíthetnek majd a mikorrhizaképző gombák gyakorlatban történő alkalmazásában, az alkalmazás feltételeinek a pontosabb megismerésében.

Irodalmi áttekintés

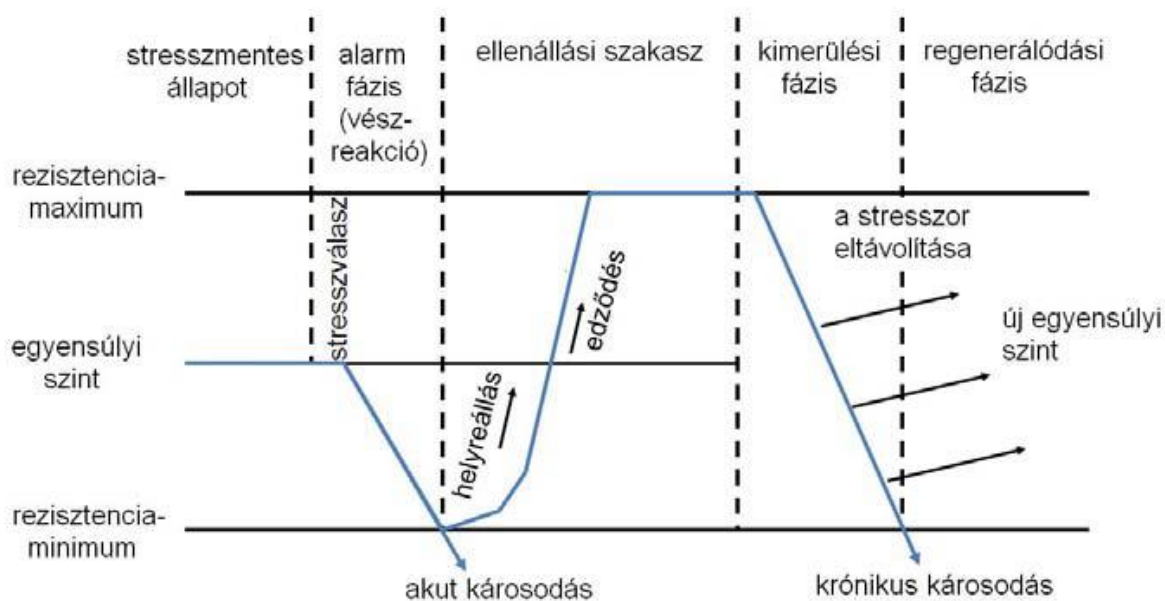
Stresszfogalom és -típusok, általános jelenségek

A változékony környezethez való alkalmazkodás a túlélés egyik alappillére. A növények bizonyos mértékig képesek az anyagcsere-folyamataikkal és habitusukkal lekövetni ezeket a kihívásokat. Ezen folyamatok feltérképezése kiemelten fontos a növénytermesztésben és a természetes ökoszisztémákban. A folyamat alapvetően három nagyobb komponensre bontható fel: a stresszt kiváltó tényezőre, a stresszre és a válaszreakcióra.

A stresszt kiváltó tényező a környezet egy olyan eleme, ami a növény fiziológiájában olyan változást idéz elő, ami csökkent növekedésben, kisebb terméshozamban, élettani alkalmazkodásban, a faj adaptációjában nyilvánul meg. Ezeket a környezeti tényezőket az eredetük szerint csoportosítjuk: megkülönböztetünk természetes – abiotikus (mechanikai-szél, jég, szárazság, árasztás, só, hideg, magas hőmérséklet, tápelemhiány, nehézfémzennyezés, UV sugárzás, erős fény, fényhiány, oxidatív hatás, stb.) és biotikus (állatok, gombák, baktériumok, vírusok, allelopátia, kompetíció) – faktorokat, valamint xenobiotikusakat (környezetszennyező anyagok, peszticidek).

A stressz az a fiziológiai állapot, amelyben a növények növekedése, fejlődése és szaporodása a fokozott környezeti terhelés miatt a genomban meghatározott lehetőségek alatt marad (Larcher, 1994; Osmond, 1994). A stressz-szituáció kialakulásakor a növényben egy olyan válaszreakció indul meg, amely az alábbi fő szakaszokra osztható fel (1. ábra):

- vészreakció: a stresszor idézi elő, az élettani folyamatok a normálistól eltérő működést mutatnak, valamint a metabolikus anyagcsereutak válnak prioritázzá – a rezisztencia minimum elérése akut károsodáshoz vezet.
- ellenállás: amennyiben a növénynek megvan a lehetősége rá, akkor a válaszreakciói révén alkalmazkodik a stresszt kiváltó körülményhez, és az életfolyamatai újra normális működést mutatnak – a növény ellenálló képessége akár fokozódhat is.
- kimerülés: a növény csak a benne rejlő potenciálig képes a stresszt kiváltó tényező hatását ellensúlyozni. Ha ez a faktor a kimerülési szakasz végéig eliminálódik, akkor a növény regenerálódhat, ellenkező esetben krónikus károsodás lép fel.



1. ábra: A stressz-szindróma és szakaszai (Fodor et al., 2013)

A stresszhez való rövidtávú alkalmazkodást akklimációnak vagy akklimatizációnak nevezzük a bekövetkezett változást kiváltó tényező(k) komplexitása alapján. Ezek fenotípusos válaszok, azaz az adott egyed fiziológiája és/vagy morfológiája változik meg a stressz hatására a fenotípusos plaszticitásban kódolt potenciál mértékéig. Az adaptáció pedig az, amikor egy hosszútávú stresszválasz alakul ki – ilyenkor a stressz egy szelekciós tényező, amely következtében a kedvező génkombináció előnyben részesül a populációban és megváltozik a génfrekvencia.

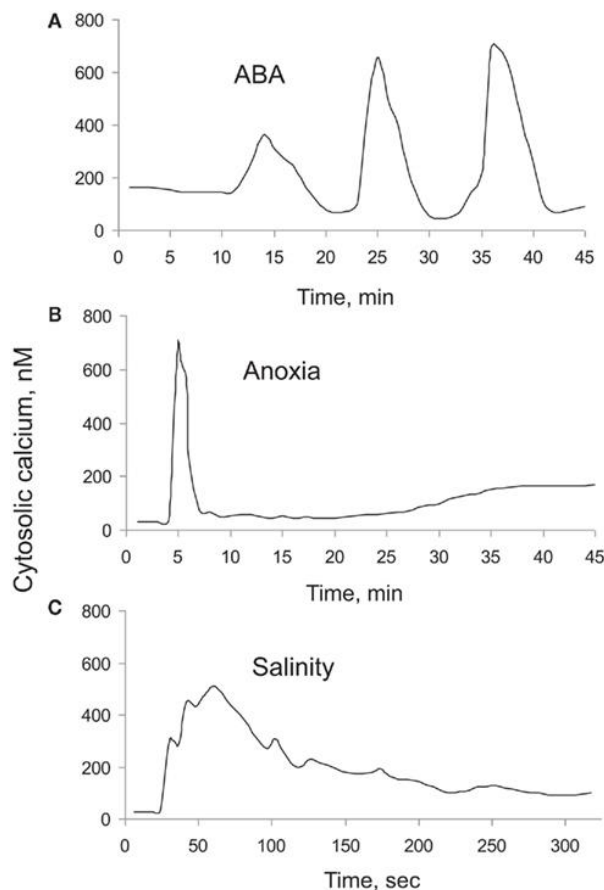
A növény a stressz jelenlétére egy összehangolt, bonyolult folyamattal reagál, amelyet szignáltranszdukciós folyamatoknak nevezünk. Az egyik első, ami celluláris szinten jelzi a stresszt kiváltó tényező jelenlétét a növény környezetében az a reaktív oxigénformák megjelenése (Mohanta et al., 2018). A növényi sejtek által generált jelet proteinkináz receptorfehérjék érzékelik, amelyek ioncsatornák, enzimaktivitással bíró receptorok vagy G-protein mediált enzimaktivitással rendelkező receptorok lehetnek a működésük alapján. A jel észlelését követően megindul a másodlagos jelátvivők által generált szignál is, ezek változása pedig a kaszkád további lépéseire bír hatással (Ofuo, 2021; Xiong & Zhu, 2001).

A reaktív oxigénformák (ROS-ok) – mint például a szinglet oxigén ($^1\text{O}_2$), hidroxil gyök ($\text{OH}^\cdot$), hidroxid ion (OH^-), szuperoxid anion ($\text{O}_2^\cdot$) és hidrogén-peroxid (H_2O_2) – nemcsak szignálmolekulák, hanem erőteljes oxidálószeres is, amelyek alapján erősen roncsoló hatással

bírnak. Ezért mind a közvetlen, mind a közvetett hatásuk vizsgálata és ismerete igen fontos a növényi szervezetben. A hidroxil gyökök a lipidmembránrétegben okoznak károkat, ahol a szénatomok közötti kettős kötéseket, illetve a glicerol és a zsírsavláncok közötti észter kötéseket támadják. Így lipidperoxidációt okoznak, amely a threshold szint fölött sejthalálhoz vezet (Das & Roychoudhury, 2014). A lipidperoxidáció fő termékei a malondialdehid (MDA), akrolein és a krotonaldehid. Ezek közül az MDA reakcióba léphet a DNS lánc részét képező guaninokkal, amikkel M1G komplexet képezve bázispárosodási hibát okoz (Roldán-Arjona & Ariza, 2009). Az MDA koncentrációjának mérése alkalmas a növények peroxidációs szintjének meghatározására (Savicka & Škute, 2010).

A ROS-ok továbbá oxidálják a fehérjék szulfhidrilcsoportjait, és ezáltal kénhidakat hoznak létre – ez a cisztein és metionin tartalmú fehérjéket érinti (Farooq et al., 2019). A reaktív oxigénformák fehérjekárosító hatása olyan proteinekre is kiterjed, mint például a hisztonfehérjék, amelyek többek közt a DNS lánc védelmét is szolgálják. Ha ezen fehérjék funkciójukat veszítik, akkor a DNS ki van téve a ROS-ok oxidatív hatásainak. A reaktív oxigénformák oxidálhatják a 2-dezoxi-β-D-ribózt, N-tartalmú heterociklusos bázist, valamint egyszálú lánc törést és keresztkötéseket is előidézhethetnek (Hemnani & Parihar, 1998). Ezen hatások pedig további láncreakciókat indíthatnak be.

A kalciumionok koncentrációjának megváltozása a citoplazmában szintén a szignáltranszdukciós folyamat részét képezi. A stresszt kiváltó tényező típusának függvényében más Ca-ion mintázatot figyelhetünk meg (2. ábra). Ennek egyik magyarázata, hogy a különböző stresszhatások esetén eltérő időben és mértékben, valamint eltérő helyen keletkező Ca^{2+} szabadul fel, valamint más-más receptorok érzékelik őket (Lindberg et al., 2012).



2. ábra: Kalciumionok koncentrációjának változása a citoplazmában abszcizinsavas (A), anoxikus (B), só (C) kezelés hatására (Bose et al., 2011)

A hő mint stressztényező

A hőmérsékleti stresszt az alábbiak alapján lehet csoportosítani: a növény élettani optimuma szempontjából (annál alacsonyabb vagy magasabb hőmérsékleti hatás) valamint, hogy a stressz hatás mennyi ideig áll fenn (akut avagy krónikus stressz). Dolgozatomban az akut, magas hőmérséklet okozta stresszel foglalkozom, mivel az agráriumban az egyik legégetőbb probléma, hogy a növényeket jelentős hőstressz éri, és így óriási gazdasági károkat szenvedünk el.

A hirtelen érkező nagy hőhatás számos szinten befolyásolja a növény életműködését. A hőmérséklet emelkedésével a gondosan szabályozott termodinamikai folyamatok és kémiai kötések bomlanak meg a rendszerbe bekerülő nagyobb energia folytán.

A magas hőmérséklet hatására a fehérjék denaturálódhatnak, ami a megfelelő szintű enzimműködést sodorja veszélybe, hiszen az élő szervezetekben a legtöbb biokémiai folyamatot fehérjék katalizálják. Ha a fehérjék letekerednek és elvesztik a térszerkezeti

sajátságait, akkor nem képesek a továbbiakban betölteni a funkcionális szerepüket (Bokszczanin & Fragkostefanakis, 2013).

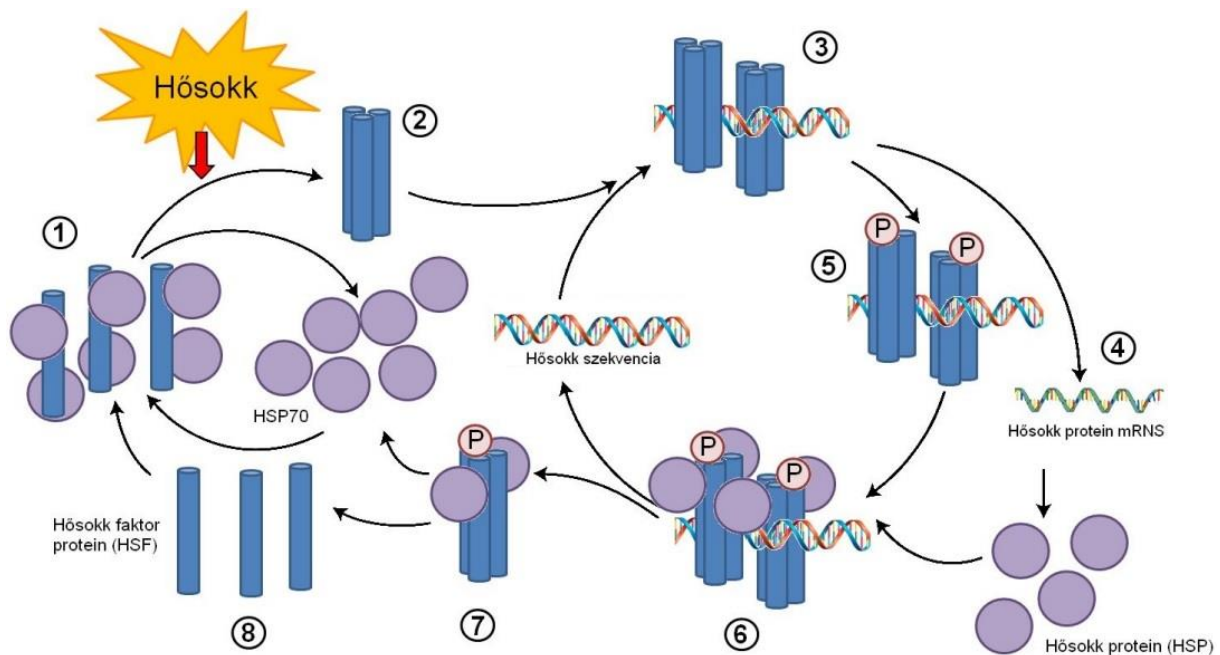
A másik kritikus csoport a membránalkotó lipidek, amelyek által alkotott kettősréteg funkciója az organellek egymástól való elhatárolása és a plazmamembrán létrehozása. A membránok rigiditása-fluiditása nagyban meghatározza a permeabilitását a különböző molekulák számára, illetve a sejtalkotók morfológiai stabilitását. A magasabb hőmérséklet hatására a lipidek közötti kötések fellazulnak, a membrán folyékonyabbá és áteresztőbbé válik (Higashi & Saito, 2019).

Növényi stresszválasz az akut hőhatásra

A magas hőmérsékleti stressz először a fotoszintézis rendszerében okoz zavart, mert a tilakoidmembránban található második fotokémiai rendszer (PSII) a legérzékenyebb a hőhatásra. A stressz hatására a PSII rendszer több szinglet állapotú oxigént termel, emellett az első fotokémiai rendszer (PSI) túlredukálása szuperoxid anionok termelését idézi elő, amely folyamatok végső soron hidrogén-peroxid (H_2O_2) képződéshez vezetnek. A H_2O_2 mint ROS, oxidatív stressznek teszi ki a növényi sejteket. A növények ez ellen különböző antioxidáns enzimekkel védekezhetnek, mint például a szuperoxid-dizmutáz (SOD), kataláz (CAT), glutation-reduktáz (GR) és peroxidáz (POD) (Zhao et al., 2021).

Az enzimek mellett a hősokkfehérjék (HSPs, heat shock proteins) is elősegítik a hőstressz negatív hatásainak a kivédését. A HSP-k olyan fehérjék, amelyek (hő)stressz hatására termelődnek. A hősokkfehérjéket molekulatömegük alapján csoportosíthatjuk, így megkülönböztetünk HSP110, HSP90, HSP70, HSP60, HSP10 és kismolsúlyú hősokkfehérjéket (sHSPs), ahol a névben szereplő számok a fehérjék molekulatömegére vonatkoznak.

A hősokkfehérjék expressziójának a szabályozása igen konzervált folyamat. A hősokkfehérjéket kódoló gének promóter régiójában találhatóak a cisz regulátor szekvenciák, azaz a hősokk elemek (HSE). Magas hőmérsékleti stressz hatására a transz faktorok – hősokkfaktorok (HSF) – hozzákötődnek a cisz szabályozó szekvenciához, így indukálva az adott gén expresszációját. A hősokkfaktorok stresszmentes környezetben monomerként fordulnak elő a hősokkfehérjékhez kötődve, stresszhatás esetén lekapcsolódnak a HSP-kről és trimerekké állnak össze, ebben a formában kötődnek hozzá a HSE-khez (3. ábra). A folyamatot foszforilációs-defoszforilációs mechanizmusok stabilizálják (Schöffl et al., 1998).



3. ábra: A hősokkfehérjék molekuláris hatásmechanizmusának vázlatos bemutatása a HSP70 példáján (Fodor et al., 2013 nyomán)

A hősokkfehérjék egyik altípusa a molekuláris chaperonok – azaz dajkafehérjék – mint például a HSP70 és HSP90. Ennek a molekulacsaládnak a fő feladata a hő hatására natív szerkezetüket veszített fehérjék helyreállítása, akár azok kitekerésével és újrarahajtogatásával (Al-Whaibi, 2011).

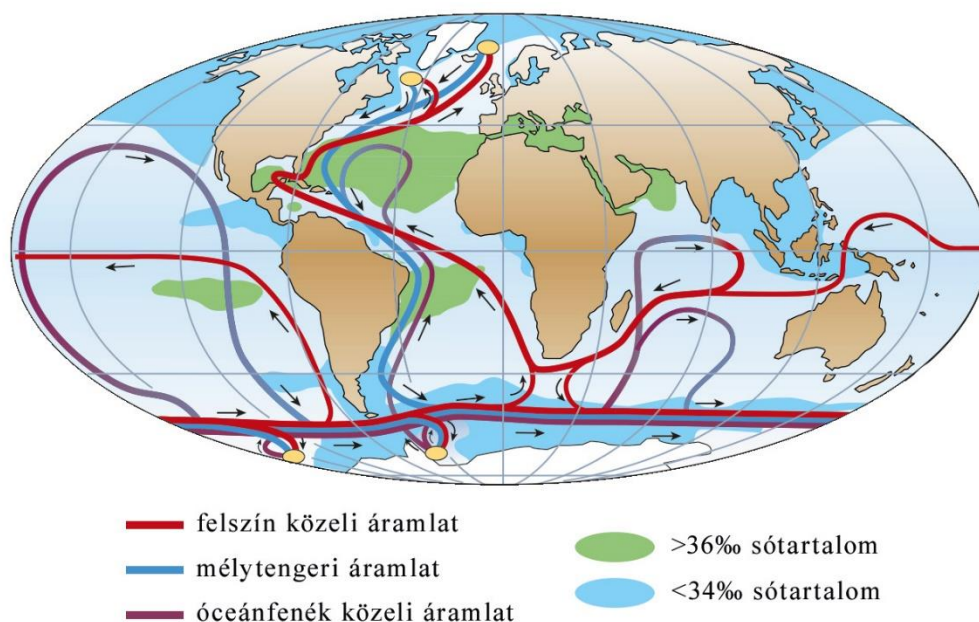
Hőmérsékleti trendek

A növénytermesztés sikerességét és profitabilitását nagyban meghatározza, hogy az adott területen milyen az idő, az időjárás, valamint az éghajlat. Az agráriumban dolgozók ez alapján választják ki a termeszteni kívánt növényt, illetve agrotechnológiai módszereket.

Az adott terület időjárását több paraméter is befolyásolja. Egyrészt fontos, hogy melyik szélességi körön fekszik, mert a sarkköröktől távolodva csökken a Nap általi besugárzás mértéke, így egyre hűvösebbre számíthatunk. Viszont ezt befolyásolja az általános földi légkörzés, amit a szélességi körök közti hőmérséklet-különbség miatt kialakuló nyomáskülönbség hajt. Az általános földi légkörzés irányát nemcsak a nyomáskülönbség szabja meg, hanem a Föld forgásából eredő Coriolis erő is. Ezenkívül befolyásolja a szelek erejét az is, hogy a felszínhez mennyire közeli, mert az alacsonyabban fújó szelek erejét csökkenti a tereptárgyak okozta súrlódási erő. Ezen összetevők alakítják ki a Föld szélességi köreinek főbb klímazónáit, amiket adott hőmérsékletprofilokkal és csapadékossgal lehet jellemezni.

A területekre jellemző időjárást és klímát még nagyban befolyásolja, hogy az óceánoktól milyen távol helyezkednek el. Az óceánok és a kontinensek hőkapacitásbeli differenciájának hatására az óceánok közelében kiegyenlítettebben, amíg a kontinensek belseje felé szélsőségesebben alakulnak a hőmérsékleti és csapadékossági tényezők.

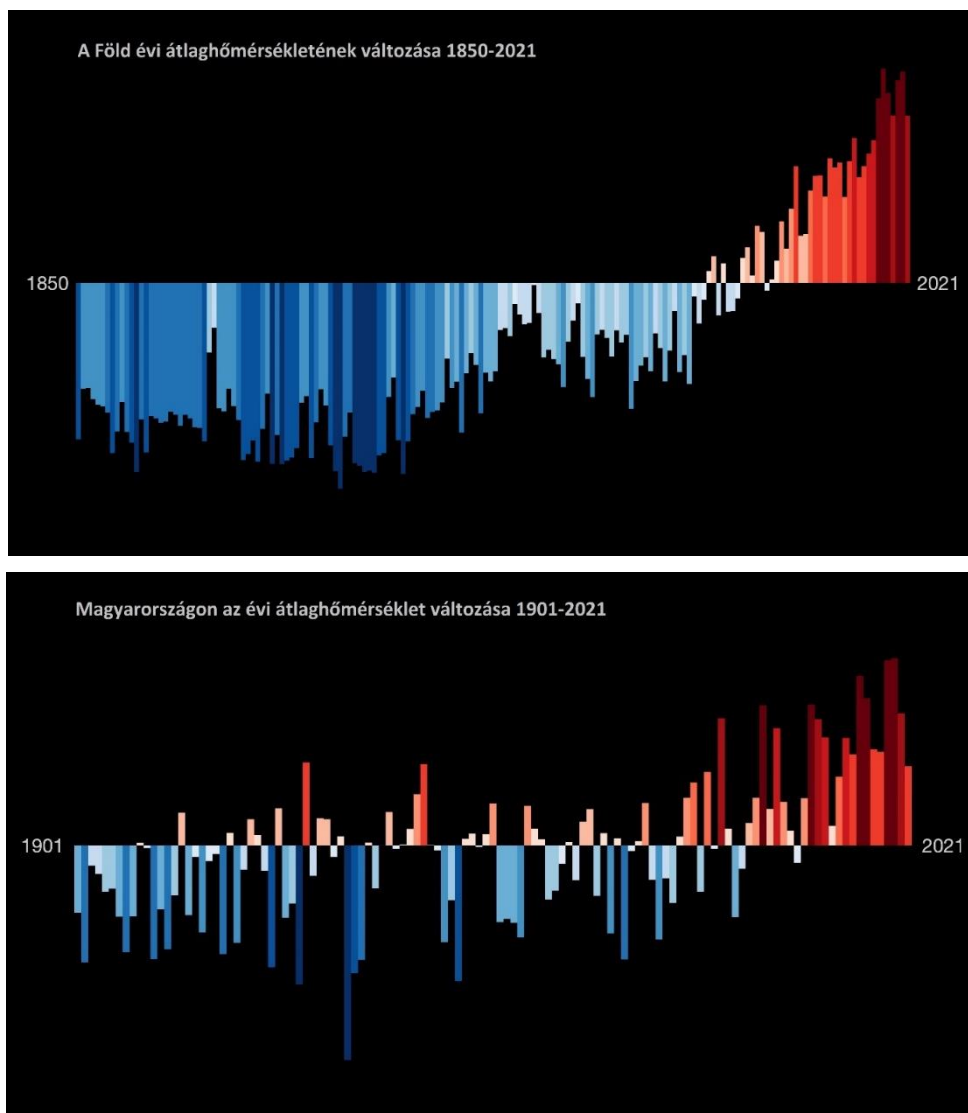
Az óceánokban is megfigyelhető a földi légkörzéshez hasonló hőkiegyenlítési rendszer – ezt termohalin áramlásnak hívják. Ezeknek a mélytengeri áramlatoknak a hajtóereje a sűrűségkülönbség, ami a sókoncentrációbeli vagy a hőmérsékletbeli eltérésekből adódhat (4. ábra). A hideg, illetve meleg víztömegek szintén befolyásolják a kontinenseken megfigyelhető klimatikus tényezők alakulását.



4. ábra: A termohalin áramlás (Rahmstorf, 2002 nyomán)

Mindezen paraméterek meghatározzák, hogy hosszútávon milyen időjárás várható az adott térségben. Viszont a globális klímaváltozás miatt ezen rendszerek egyensúlyában változás áll be, azaz csökkenhet a hőkiegyenlítő szerepe a termohalin cirkulációnak. Mindemellett a körforgás lassulásával lecsökkenhet a szerves anyagok vízrétegek közötti kicserélődése is, amely mind a zooplanktonokra, mind a fitoplanktonokra igencsak hátrányosan hatna – ezáltal nagyban befolyásolva a Föld szénkörforgásának alakulását (Brierley & Kingsford, 2009).

A globális klímaváltozásba nemcsak a Föld általános felmelegedése tartozik bele (5. ábra), hanem a szélsőséges időjárási jelenségek megjelenése is. Ezen extremitások közé tartoznak a hőhullámok is, amelyek egyre gyakrabban fordulnak elő (Rummukainen, 2012).



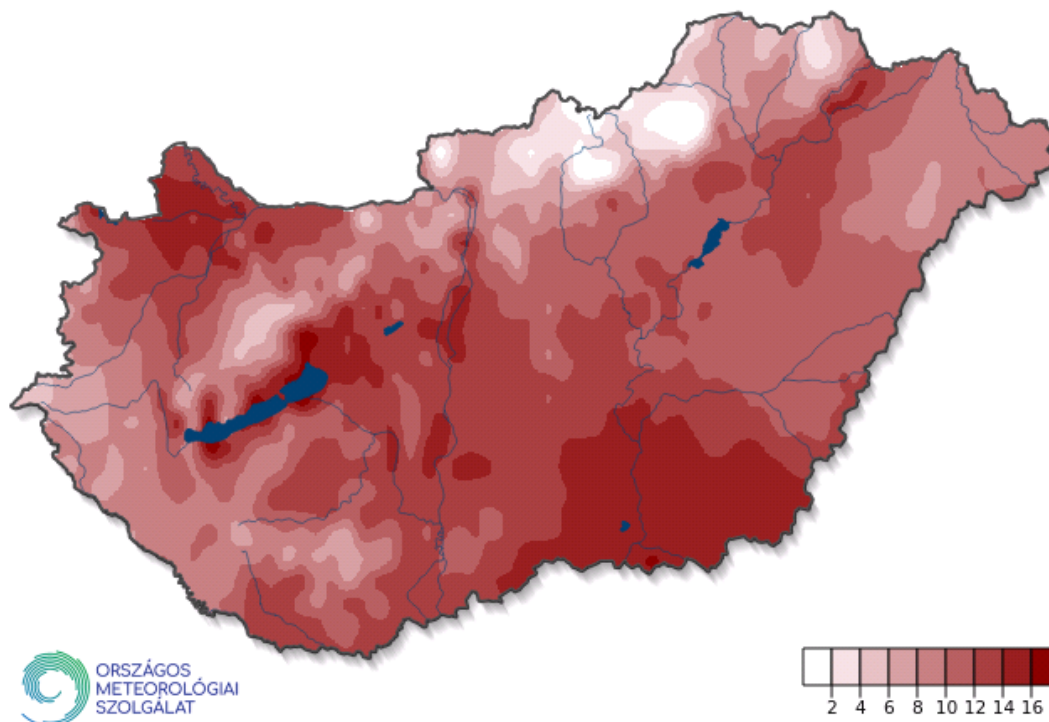
5. ábra: Az évi átlaghőmérséklet változása a Földön 1850-től (A),
 illetve Magyarországon 1901-től (B) 2021-ig

Forrás: <https://showyourstripes.info/> (leolvasás dátuma 2022.10.18.)

A mérsékelt övi éghajlaton – például Magyarországon – a hőhullámok jelentős kihívások elé állítják az agráriumot évszaktól függetlenül. Az 6. és 7. ábráról leolvasható, hogy az egyre gyakoribb hőhullámok által sújtott területeken növénytermesztéssel foglalkoznak. A hőhullámok okozta hőstressz letális kockázatot hordoz a növények számára, amennyiben akkora az akut károsodás, hogy nem kezdődhet meg a stresszválasz ellenállási szakasza, illetve ha annyi ideig áll a stresszt kiváltó faktor befolyása alatt a növény, hogy teljesen kimerül és a krónikus károsodás okozza a pusztulását. A téli, nyugalmi időszakban hirtelen bekövetkező hőmérséklet emelkedés felolvaszthatja a hőszigetelő tulajdonságokkal rendelkező hótakarót, így a növények kitetté válnak a fagystresszel szemben, valamint negatívan befolyásolja a vernalizációt és a nyugvó állapotot is (Bisbis et al., 2019; Niu et al., 2014). A globális

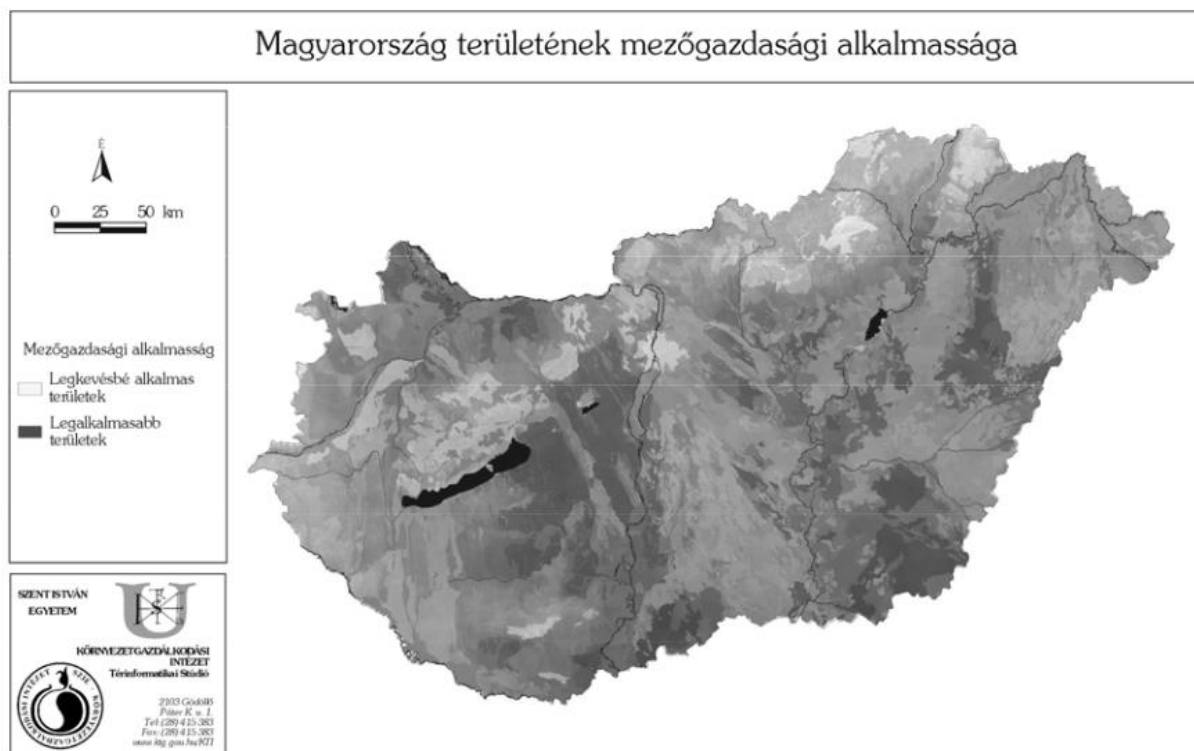
klímaváltozás okozta általános felmelegedés és egyenlőtlen csapadékeloszlás miatt a talajok veszítenek a nedvességtartalmukból, ami hozzájárul a hőhullámok kialakulásához, így a növénynek a szárazság- és hőstresszhez is egyaránt alkalmazkodnia kell (Miralles et al., 2014).

Hőhullámos napok változása 1981-2020 (nap)



6. ábra: Hőhullámos napok számának (napi középhőmérséklet $\geq 25^{\circ}\text{C}$)
változása az 1981–2020-as időszakban

(forrás: Országos Meteorológiai szolgálat honlapja, leolvasás dátuma: 2022.10.23.)



7. ábra: Magyarország területeinek mezőgazdasági alkalmassága (Ángyán, 2008)

Mikorrhiza kapcsolat kialakulása

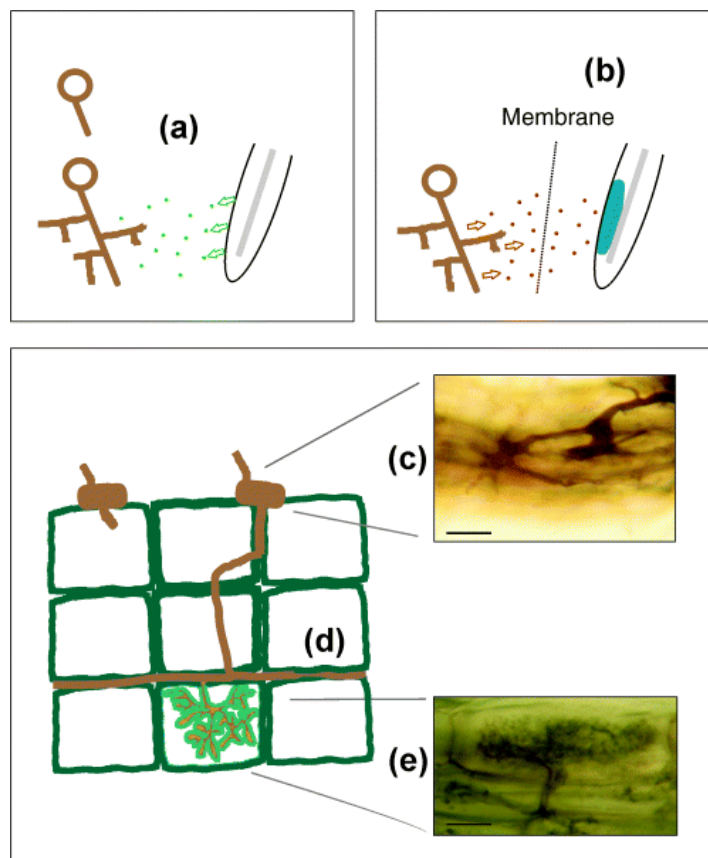
A mikorrhizaképző gombák a talajlakó gombák egy speciális csoportja, amely a növények gyökerével szimbiotikus, vagyis mindkét fél számára kedvező kapcsolat kialakítására képes – a szimbiózis ezen formáját mikorrhizának nevezzük. A szimbiózis eredményeként a gomba fotoszintetikus termékeket és lipideket kap a növénytől, cserébe pedig ásványi anyagokat és vitaminokat, valamint más szekunder metabolitokat (például karotinoidokat) biztosít a növénypartner számára.

A mikorrhizaképzés mint képesség szerepet játszott a növények szárazföldre lépésében és elterjedésében, amelyekkel párhuzamosan a mikorrhizaképző gombák is megjelentek minden égvöben. Például a trópusokon jellemzően az Acaulosporaceae család képviselőivel, amíg a Paraglomeraceae család tagjaival leginkább a mérsékelt övben találkozhatunk – a sarkkörökön pedig a Glomeraceae család fajai találhatók meg (Stürmer et al., 2018). Az AM gombák a legősibbek és a szárazföldi növények több, mint 80%-ával alakítanak ki kapcsolatot (Wang & Qiu, 2006).

Az AM szimbióta gombapartner jellemzően aerob és a kapcsolat szempontjából obligát, valamint fenntartásuk komplex megoldásokat kíván. Általános bélyegük, hogy a spóráik magas

lipidtartalmúak és jellegzetes, vastag sejtfallal rendelkeznek és sok sejtmagot tartalmaznak. Az AM gombafajok hifái cönocitikusak – azaz egy hifatagban sok sejtmag található.

Az arbuszkuláris mikorrhiza egy olyan szimbionta kapcsolattípus, amely során a növény és a Glomeromycota törzsbe tartozó (Spatafora et al., 2016) gomba közösen intercelluláris tápanyagátadó-képleteket – arbuszkulomokat – hoznak létre. A szimbiózis folyamata igencsak konzervált, több átfedést mutat a pillangósvirágú növények szimbionta kapcsolatával. A lépései genetikai szabályozás alatt állnak, amelyek során egy koordinált felismerési folyamat megy végbe (Paszkowski, 2006). Az első fázis a prekolonizáció, ami a spóra csírázástól a gazdanövénnel való érintkezésig tart. A találkozás elősegítése végett a növény gyökerei szignált, úgynevezett sztrigolaktonokat bocsátanak ki. Mindez egy erőteljes koncentrációgradienst hoz létre, amely a véletlenszerű hifanövekedést a gyökér felé irányítja. Eközben a gomba Myc faktorokat bocsát ki, amely Ca^{2+} -oszcillációt indukál a növény epidermiszsejtjeiben, így elősegítve annak a szimbiotikus génjeinek indukcióját (Harrison, 2005). Ha megtörtént a találkozás, akkor kezdődik a második – penetrációs – fázis. Miközben a gomba hifopódiumot képez, a növényben megindul a sejtfalvastagodás a hifopódiumnál, valamint kialakítja a prepenetrációs apparátust. Ez utóbbi egy citoplazmatikus, perifungiális membránnal határolt híd, amely biztosítja az infekciós hifa bejutását a sejtbe. A szimbiotikus fázisban a hifa bejut a cortex parenchimatikus terébe, ahol felgyorsul a növekedése és létrehozza a kolonizációs egységet, amely az apoplastban minden irányban terjed, illetve különböző intracelluláris képleteket hoz létre. A szénhidrátátadás helye valószínűleg a hifahurok, amíg a foszfortranszporté a szőlőfürt-szerűen megnövelt felületű arbuszkulum, vagy más néven végfácska (8. ábra). Az anyagtranszport itt a periarbuszkuláris membránon keresztül zajlik. Eközben a növényi sejt felépítése is megváltozik, a sejtmag mérete megnő a dekonzenzáladott kromatin miatt, a plasztiszok száma megnő, illetve a vakuólum feldarabolódik. Ez a szimbiotikus kapcsolat reverzibilis, az arbuszkulum előregedését követően a növényi sejt visszaáll az eredeti állapotába, és készen áll egy új hifa általi kolonizációra.



8. ábra: Mikorrhiza kolonizáció fázisai. (a) A növény által kibocsátott sztrigolaktonok hatására a hifák elégaznak; (b) A gomba által kibocsátott Myc faktorok hatására szimbiotikus gének indukciója növényekben; (c) hifopódium kialakulása, (d) hifa terjedése az apoplastban; (e) arbuszkulum képzés. (Paszkowski, 2006)

Az arbuszkuláris mikorrhizának két fő megjelenési formája van: az *Arum*- és a *Paris*-típus. Az utóbbi abban tér el a fentebb leírtaktól, hogy a hifa nem az intercelluláris térben halad, hanem intracelluláris hifahurkokat alakít ki, amin arbuszkulumok képez.

Primer metabolitok szerepe a szimbiózisban

A mutualista kapcsolatot fenntartó fő hajtóerő az, hogy a partnerek egymás számára olyan tápanyagokat és tápelemeket biztosítanak, amelyek önálló előállítása vagy felvétele sokkal nehezebb, költségesebb lenne. Az arbuszkuláris mikorrhizaképző gombák obligát biotrófok, így számukra elengedhetetlen, hogy kapcsolatban álljanak egy élő szervezettel, ahonnan az életműködésükhöz szükséges tápanyagokhoz jutnak hozzá.

Cukrok

Azáltal, hogy a növényi közvetítés segítségével fotoszintetikusán fixált szént cukrok formájában asszimilálja a gomba, a cukrok kiáramlása a növényből magasabb fotoszintetikus aktivitást indukál annak a pótlására. A cukrok főleg hexózok formájában kerülnek felvételre a

gomba által, ahol egy részük átalakulhat α,α -trehalózzá, amelyet ha a növény felhalmoz, akkor az az abiotikus stresszel szembeni védelmet is nyújthat (Kaur & Suseela, 2020). A kolonizáció elején magasabb cukortartalom figyelhető meg a gyökerekben, amely végül a nem kolonizált növények gyökérzetének átlagos cukorkoncentrációja alatt volt a betakarításkor. Továbbá, a cukrok mennyisége nagyban függött a hozzáférhető foszfor mennyiségétől is – foszforhiány esetén magasabb cukorkoncentráció figyelhető meg a kolonizált növényeknél. Így valószínűsíthető, hogy a cukormetabolizmust befolyásolja az arbuszkuláris mikorrhiza szimbiózis. Például a *Claroideoglomus etunicatum* gombával kezelt kukorica (*Zea mays*) szolubilis szénhidráttartalma másfélszeresére nőtt a kezelés következtében (Silva et al., 2019).

Szerves savak

A kapcsolat valamilyen szinten befolyásolja a Krebs-ciklust is, amely egy amfibolikus körfolyamat: azaz alapvetően katabolikus, de az intermedierek – a három szénatomos szerves savak – más biomolekulák kiindulási anyagai. A ciklus célja az energiakonzerváció, amely oxidációs lépései során nagy energiatranszfer potenciálú redukált koenzimek keletkeznek. A koenzimek biztosítják a terminális oxidáció során a szükséges redukálóerőt a visszaoxidációjuk által, aminek eredménye az ATP szintézis. Az AM kapcsolattal rendelkező növények Krebs-ciklusának fluxusa, és az akumulálódott három szénatomos szerves savak mennyisége jobban tudta követni az adott fejlődési fázis vagy külső stresszfaktor által indukált igényt a gombapartner által szintetizált három szénatomos szerves savak révén (Adeleke et al., 2017). Továbbá, ha ezeket a savakat az extraradikális hifa a talajba juttatja, akkor az ott előforduló ásványi anyagok könnyebben felvehető formává alakulnak át (Adeleke et al., 2017; Tedersoo & Bahram, 2019).

Aminosavak

Az aminosavak mind a fehérjék építőelemeiként, mind szignálmolekulákként fontos szerepet töltenek be. A növények vagy közvetlenül a talajból veszik fel az aminosavakat, vagy a gombapartner szintetizálja számukra a talajban található nitrogénből. Az AM kapcsolattal rendelkező növények talajból történő aminosavfelvétele módosult a nem mikorrhizált társaikéhoz képest – a ritkábban előforduló aminosavak akumulációja megnőtt (Whiteside et al., 2012). Viszont a felhalmozott aminosavak mennyisége függ attól, hogy a szimbiózisban részt vevő növény milyen fajba tartozik (Persson & Näsholm, 2001).

Stresszválasz indukálta

Amennyiben a növény biotikus vagy abiotikus stressznek van kitéve, az AM kapcsolattal rendelkező növények stresszválasza és anyagcsere mechanizmusai gyakran felülszabályozottak a gombapartner által (Hashem et al., 2018). Bár nem minden elemét ismerjük ennek a bonyolult

folyamatnak, mivel igen komplex, az szinte biztosan tudható, hogy energetikai állapot alapján kerül meghatározásra az adott helyzetnek megfelelő a stresszválasz.

Ha magas hőmérséklet okozta stressz éri a növényt, akkor az arbuszkuláris mikorrhizaképző gombával való szimbiotikus kapcsolata nagyobb toleranciát indukál a stresszt kiváltó tényezővel szemben. Például a magas hőmérsékleti stressznek kitett kukorica (*Zea mays* L.) a gombapartner hatására hatékonyabban tudta eliminálni a stressz hatására keletkező reaktív oxigén formákat, valamint a membránok átjárhatósága is kevésbé változott meg (Zhu et al., 2010).

Szekunder metabolitok szerepe a szimbiózisban

A másodlagos anyagcseretermékek fő jelentősége a környezetre adott válaszban, így az ahhoz való alkalmazkodásban van. Egyrészt a prekolonizációs fázis során a koordinált felismerési folyamatban, másrészt pedig a biotikus és az abiotikus stresszre adott reakcióban játszanak jelentős szerepet. A kolonizált növények szisztémikus szerzett rezisztencia (SAR – systemic acquired resistance) rendszere fokozott állapotban van. Ez az a jelenség, amikor egy növény az első fertőzést követően a patogének szélesebb spektrumával szemben, magasabb szinten mutat rezisztenciát. Ezenfelül az AM kapcsolattal bíró növények a kórokozókkal szembeni gyorsabb reakcióra is képesek azáltal, hogy az indukált szisztémikus rezisztenciájuk (ISR – induced systemic resistance) is „készenlétben van”, valamint a gombapartner révén kialakuló antibiózisos hatás által a patogén fertőzések száma is csökken (Poveda et al., 2020).

Továbbá, a szekunder metabolitok ipari felhasználása is hangsúlyos mind a mezőgazdaság, mind a gyógyászat területén. Így az arbuszkuláris mikorrhiza kapcsolatok kutatása nemcsak tudományos szempontból, hanem gazdasági és társadalmi szempontból is nagy jelentőségű.

Karotinoid útvonal

A karotinoidok izoprénvázas tetraterpenoidok, amelyek prekursora a ζ -karotin. A karotinoidok fotoszintetikus pigmentként, hormonok kiindulási vegyületeként, valamint jelmolekulaként is funkcionálhatnak. A bevezetésben említett, szimbiózis kialakításában résztvevő sztrigolaktonok szintézise β -karotinból indul ki (Lopez-Obando et al., 2015). Tehát hatással van az AM kapcsolat preszignalizációs fázisára, amely kapcsolat kialakulása után az hatással van a karotinoid útvonalra (Fester et al., 2005). A karotinoidokból szintetizálódnak a xantofillok, amelyek oxigén heteroatomot tartalmazó terpenoidok. Ezek pedig szubsztrátjai az apokarotinoidoknak és a prenil tetraterpenoidoknak. Az apokarotinoidok fontos szerepet

játszanak a patogének és a reaktív oxigéngyökök elleni védekezésben, valamint az AM kapcsolat kialakulásának szabályozásában (Hou et al., 2016).

Fenilpropanoid útvonal

A fenilpropanoidok a növényi védekezésben töltenek be jelentős szerepet a szignalizációs szerepük révén, bioszintézisük a fenilalaninból, egy aromás aminosavból indul ki, amely a sikimisav útvonal eredményeképpen a kloroplasztiszban szintetizálódik. Öt további csoportra oszthatóak biogenikus eredetük alapján: flavonoidok, lignoidok, fenolsavak stilbének és kumarinok. A stresszhatásokkal szembeni védelmet a reaktív oxigéngyökök eliminálásával biztosítják – ezen antioxidáns hatás felismerését követően a gyógyászati célú felhasználása is elterjedt (Sharma et al., 2019).

A flavonoidok szabályozzák a növény-gomba szimbiózis kialakulását, hatásuk igencsak változatos lehet, függ a vegyülettől és a gombapartner fajától. Például *Medicago truncatula* gyökérzetében azt figyelték meg, hogy a kolonizáció későbbi fázisában megnőtt az ononin és a formononetin szint, amelyek a kolonizáció mértékét szabályozzák és nem engedik azt egy bizonyos küszöbérték fölé menni (Kaur & Suseela, 2020).

A fentebb említett stressztűrést igazolták azzal a kísérlettel, amelyben *Funneliformis mosseae* gombával asszociált orvosi macskagyökér (*Valeriana officinalis*) esetében azt mutatták ki, hogy az összfenoloid szint magasabb volt, mint a kontrollcsoporté, valamint az idő folyamán nem mutatott ingadozást, csökkenést sem (Amanifar & Toghranegar, 2020). A növény ipari jelentősége a gyógyászati felhasználásából adódik, amely során elsősorban a gyökerét hasznosítják. Továbbá gazdasági stratégia alkotási jelentőséggel bír, hogy az AM asszociált növények sóstresszkezelési megoldásai hogyan alkalmazhatóak a termelésben az egyre elterjedtebb problémával szemben, miszerint folyamatosan csökken az ideális/termelésre alkalmas talajú terület (Daliakopoulos et al., 2016).

Alkaloidok

Az alkaloidok az azotoidok anyagtörzsébe tartoznak, azaz olyan nitrogén heteroatomot tartalmazó vegyületek, amelyeknél a nitrogénatom funkcióval bír. Aminosavakból szintetizálódnak, jellemzően bázikus tulajdonságú vegyületek és jelentős élettani hatással bírnak (főleg állatok szervezetébe jutva). A legnagyobb csoportot azon alkaloidok képviselik, amelyek tirozinból szintetizálódnak, de a fenoloidok bioszintézisével ellentétben itt az nem dezaminálódik, hanem dekarboxileződik (Ziegler & Facchini, 2008).

A növény-gomba kapcsolat nagyban befolyásolhatja a génexpressziót, és ezáltal az alkaloidtartalmat a növényekben. Azt figyelték meg, hogy *Glomus etunicatum* gombfajjal mikorrhizált rózsás meténgelnél (*Catharanthus roseus*) az idősebb levelekben vizsgált hat monoterpén-indol-alkaloidokat kódoló génből öt szignifikánsan nagyobb mértékben expresszáldott (Andrade et al., 2013).

AZ AMF és talajmikroorganizmusok kapcsolata

A talajlakó mikrobaközösség a rhizoszférára gyakorolt hatása révén nagyban befolyásolja a talaj összetételét, amelynek mind ökológiai, mind agronómiai szempontból jelentősége van. A mikroorganizmusok egyaránt befolyásolják a talaj flórájának és faunájának az anyagcsere útjait, életműködését (Abedon, 2010). Lényeges feltérképezni, és ezen ismeretekkel tisztában lenni, ha az arbuszkuláris mikorrhizaképző gombát a termesztésben fel szeretnénk használni, akkor a már fennálló interspecifikus kapcsolatokat miként befolyásoljuk az új elem hozzáadásával.

AMF és a mikrofauna

Az állati egysejtűek (Protozoa) és fonalférgek (Nematoda) fő tápanyagforrása a talajban található mikroflóra, ezenfelül előszeretettel fogyasztják a mikorrhizaképző gombák hifáit is. Az AMF gombák pozitívan befolyásolják a növények növekedését, valamint a patogén rezisztenciájukat is (Miransari, 2011). Így ezen fajok közösségökológiai szempontból bottom-up trofikus kaszkádot alkotnak – azaz a producensek által biztosított táplálék mennyisége szabályozza a herbivorok populációméretét. Tehát a nagyobb mennyiségben rendelkezésre álló táplálék esetén megnő a mikrofauna ezen fajainak aránya, viszont ha a rezisztencia miatt kevesebb lesz az elérhető táplálék, akkor ezen fajok aránya csökken.

AMF és a N_2 -kötő baktériumok

A szimbiota nitrogénkötő baktériumok (például *Rhizobium* spp.) a pillangósok (Fabaceae) gyökérgümőiben élnek, ahol segítenek megkötni a nitrogént, így azt a növény ammónia formájában már be tudja építeni nitrogén tartalmú szerves vegyületekbe. Alacsony nitrogénszint esetén a növény flavonoidokat bocsát ki, amelyre a szimbiota baktérium Nod faktorokkal válaszol, amik olyan szignál molekulák, amelyek előidézik gyökérszőr végének a meghajlását, ami elősegíti a szimbiózis kialakulását. A baktérium megtelepszik a növény gyökérszőreire, preinfekciós fonalat bocsát a gyökér epidermisz sejtjébe, amin keresztül bejut a sejtbe, majd a fonál segítségével a kortikális réteget is eléri. A növényi sejt a baktériumokat szimbiomembránnal veszi körül, az így kialakult képleteket szimbioszómáknak hívjuk. A megfertőzött sejtekből alakul ki a gyökérszövetnek megfelelő morfológiájú, de infektált

gyökérgümő – azaz a nodulusz (Udvardi & Poole, 2013). Ha arbuszkuláris mikorrhizaképző gomba is jelen van, akkor a több nodulusz képződik és ezáltal a nitrogénfixáció hatásfoka is megnő (Barea et al., 1989).

AMF és a foszfát-mobilizáló baktériumok

Az arbuszkuláris mikorrhizaképző gombák a kiterjedt micélium hálózatukkal – afféle hídként szolgálva – elősegítik a növény számára a szolubilis formában található foszfátok felvételét a talajból (Barea et al., 2005). A foszfor, csakúgy mint a nitrogén, makrotápelem, azaz nagy mennyiségben szükséges a növény számára az életműködésének zavartalan fenntartásához, például foszfolipid vagy ATP bioszintéziséhez. A foszfát-mobilizáló baktériumok (PSB-k) képesek szerves savakkal a talajban található organikus foszfátokat szolubilis formába juttatni. A PSB-k egyaránt megtalálhatók a növény gyökeréhez közel, és attól távolabb is. A növény gyökerének közelében csakhamar kialakul egy kimerülési zóna az intenzív foszfátfelvétel miatt. Így a továbbra is fennálló foszfátigényét az arbuszkuláris mikorrhizaképző gombák micéliuma által szállított foszfátokból fedezi. A gyökérszövet közelében található PSB-k megváltoztatják a gyökérepidermisz plaszticitását, valamint váladéktermelését, ezáltal befolyásolhatják az AMF kolonizációk kialakulását (Zaidi et al., 2009).

AMF és gombák kapcsolata

A talajban található gombák rendkívül fontosak, mivel a szaprofita életmódjukkal hozzájárulnak a különböző organikus elemek körforgásában tartásához, valamint a micéliumhálózatuk és anyagcseréjük révén jelentős szerepet vállalnak a tápelemek mobilizálásában is. Az AM gombák a talajlakó gombákra is hatást gyakorolnak, mivel egyazon forrásokért versenyeznek, így kompetíció alakul ki közöttük – ebben a versenyben, pedig az arbuszkuláris mikorrhizaképző gombák kiszoríthatják a többi gombát a rhizoszférából (Mar Vázquez et al., 2000; Welc et al., 2010).

Munkám célja, hogy hozzájáruljak a különböző stresszválasz-stratégiák felderítéséhez –, amely alapja a mikorrhizaképző gombák előnyös tulajdonságainak érvényesülése.

Anyagok és módszerek

Növénynevelés

A *Septoglomus constrictum* (Janusz Blaszkowski professzor [Department of Plant protection, West Pomeranian University of Technology, Szczecin, Lengyelország] által biztosított) izolátumokat hat hónapon át neveltük kontrollált üvegházi körülmények között steril homokban, *Zea mays* L. és *Medicago truncatula* L. gazdanövények segítségével szaporítva. Az így nyert oltóanyag *S. constrictum*-ból származó micéliumokat, spórákat és kolonizált gyökérdarabokat tartalmazott, valamint a szubsztrátot, a homokot.

„Moneymaker” paradicsom (*Solanum lycopersicum* L.) fajta magjainak a felszínét 0,02% (v/v%) Tween-20 tartalmú 2,5%-os nátrium-hipoklorittal sterilizáltuk harminc percen át, majd desztillált vízzel leöblítettük, és három napon át csíráztattuk Petri csészékben sötétben, 24 °C-on.

A palántákat 500 ml ürtartalmú, fél kilogramm homok és tőzeg tartalmú (4:1, v/v, Klasmann TS3, P2O₅ 0.1 g L⁻¹) műanyagcserepekbe ültettük (1 palánta/cserép). A mikorrhizaoltást a már korábban bemutatott inokulummal végeztük, cserepenként 50 grammot (30 spóra g⁻¹) használtunk. A nem-mikorrhizált növényekhez 50 gramm háromszor sterilizált (60 percen át 121 °C) inokulomot adtunk. A kísérletben 24 nem-mikorrhizált és 24 *S. constrictum* AM-képző gombával oltott növényt használtunk. A növényeket véletlenszerűen rendeztük el a klímakamrában, ahol az alábbi körülmények között növekedtek a következő hat hétben: 26/20 °C-os hőmérséklet (16/8 óra), 600 μmol m⁻² s⁻¹-os fotoszintetikusan aktív foton fluxus denzitás (PPFD), illetve 60%-os relatív páratartalom. Majd stresszhatásnak tettük ki őket: a mikorrhizált és a nem-mikorrhizált növények fele közvetlenül a mintagyűjtés előtt hat órán át 45 °C-os hő sokk kezelést kapott. Összességében négy kezelést alkalmaztunk tizenkét ismétlésben:

- CAM: mikorrhizált növény,
- C: nem mikorrhizált, stressz nélküli kontroll növény,
- HAM: magas hőmérséklettel stresszelt, mikorrhizált növény,
- H: magas hőmérséklettel stresszelt, nem-mikorrhizált növény.

A növényminták (stressz marker és molekuláris mérésekhez felhasználandó levélminták) rögtön a stressz kezelés után begyűjtésre kerültek, folyékony nitrogénben le lettek fagyasztva, majd felhasználásig -80 °C-on voltak tárolva.

Fenológiai leírás, növénytömeg meghatározása

A kísérlet végén (6 hét) az edényeket szétszedtük, a növények hajtás és gyökér részét elkülönítettük a gyökerek csapvizes mosása után. A nedves tömegüket rögzítettük, majd kezelésenként 3 növényt szárítószekrénybe helyeztünk és 60 °C-on szárítottunk. A teljes száradást követően analitikai mérlegen megmértük a növényi hajtás, illetve gyökérzet száraz tömegét.

A növények leveleinek relatív víztartalma (RWC) az alábbi képlettel került meghatározásra:

$$RWC = \frac{FT - SZT}{TT - SZT}$$

ahol FT a friss tömeg, SZT a száraz tömeg, TT pedig a turgeszcens tömeg (ami a levelek 24 órás vízben áztatását követően mért vízzel telített tömege).

Gyökérkolonizáció meghatározása

A növény gyökerét csapvízzel alaposan lemostuk, 5 ml KOH-t öntöttünk rá, majd ezt követően 5 percen át forraltuk. Csapvizes mosással távolítottuk el a gyökerekről a KOH-t, majd 5 ml 5%-os ecetsavas mosást hajtottunk végre. Ezután a gyökérmintákat 5 ml 5%-os tintaecetsav keverékkel egy percre forraltuk, majd ismét csapvizes mosással eltávolítottuk a felesleges festéket. A megfestett gyökereket glicerinben tároltuk a gyökérkolonizáció meghatározásáig. A festést követően a gyökérmintákat sztereomikroszkóppal vizsgáltuk. A kolonizáció százalékos meghatározása érdekében a Grid Line Intersection módszert alkalmaztuk. A festett gyökér minták 1 cm-es hosszúságúra lettek darabolva, majd egy rácsozott petri csészére lett helyezve mintánként 100 db gyökér fragment. A rács és a gyökér darabok metszési pontjainál vizsgáltuk az AM képleteinek jelenlétét vagy hiányát (Giovannetti & Mosse, 1980).

Molekuláris vizsgálatok

A paradicsom növények génexpresszióját kívántam vizsgálni, így első lépésként totál RNS-t izoláltam a mintákból „Direct-zol RNA Miniprep Kit”-tel (Zymo Research, USA) a gyártói protokoll leírása alapján. Az RNS izoláláshoz 100 mg növényi szövetet homogenizáltam steril dörzsmozsárban folyékony nitrogénnel és 1 ml TRI regent lízis pufferrel. A feltárt szöveteket 13300 rpm fordulaton 30 másodpercig centrifugáltam, majd abszolút alkohollal kicsaptam. Ezt követően 30 másodpercen át centrifugáltam a mintákat 13300 rpm-en, és 400 µl mosó pufferrel tisztítottam őket. A genomi DNS kontaminációk eltávolítása érdekében a DNáz kezelést az RNS izolálás során az oszlopon hajtottam végre, ahol 80 µl DNáz elegyet (5 µl DNase I és 75 µl DNA digestion buffer keverékével) pipettáztam az oszlopra, majd 15 percen át inkubáltam

20 °C-on. A mintákat két ismételtsben 400 µl előmosó pufferrel tisztítottam és centrifugáltam 30 másodpercen át 13300 rpm-en. Majd 700 µl mosópuffer rámerését követően 2 percen át centrifugáltam 13300 rpm-en. Végül a mintákat 50 µl 65 °C-ra előmelegített DNáz-RNáz mentes vízzel eluáltam. A kezelést követően meghatároztam az RNS koncentrációkat nanofotométerrel (Nanophotometer 2210, Implen, Germany). Az RNS-t a felhasználásig -80 °C-on tároltam.

A DNáz enzimmel kezelt mRNS reverz transzkripciója „RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit”-tel (ThermoFisher Scientific, USA) történt, a gyártói protokoll szerint. A cDNS szintézist az alábbiak alapján végeztem: steril 0,2 ml PCR csövekbe 4 µl cDNS szintézis mixet (5x Reaction Buffer), 1 µl reverz transzkriptáz enzimet (200 U/µl), 1 µl „RiboLock Rnase Inhibitor”-t (20 U/µl), 2 µl dNTP mixet (10 mM), 1 µl „Random Hexamer” primer-t és 550 ng totálRNS-t (a különböző minták koncentrációitól függően ez eltérő térfogatú RNS templátot jelentett minden reakcióban) és a totálRNS térfogatától függő 11-x µl (x: az RNS koncentrációjától függő térfogat) steril desztillált vizet mértünk. A cDNS reakcióelegy össztérfogata 20 µl. Az elegy az alábbi hőprofilú kezelést kapta a szintézishez a Techne TC-412 (Burlington, USA) típusú PCR készülékben: 25 °C-on 5 perc, 42 °C-on 60 perc, 70 °C-on 5 perc. A szintetizált cDNS-t felhasználásig -20 °C-on tároltam.

A kvantitatív valós idejű, qRT-PCR termékek képződésének detektálását Stratagene Mx3000P QPCR rendszeren (Agilent Technologies) végeztük. Minden reakciót 25 µl végtérfogatban végeztünk, amely 12,5 µl SYBR Green Master Mix reagenst (Applied Biosystems), 1 µl cDNS mintát, 1-1 µl génspecifikus forward és reverse primert és 8 µl nukleáz-mentes vizet tartalmazott.

A génexpressziós vizsgálatokhoz Elongációs faktor 1 α (*Ef1a*), *Hsp70* és *Hsp90* specifikus primer szekvenciákat használtam. A qRT-PCR gépen az alábbi hőprofilot állítottam be: 95 °C-on 15 perc, 40 ciklus 95 °C-on 30 másodperc, 59 °C-on 30 másodperc és 72 °C-on 20 másodperc, végül 1 ciklus 95 °C-on 60 másodperc, 59 °C-on 30 másodperc és 95 °C-on 30 másodperc. A real-time PCR reakciót egy mintára azonos körülmények között, háromszori ismételtsben végeztem el.

Fv/Fm, sztóma konduktancia, H₂O₂ és MDA koncentráció, vízpotenciál mérések

A levelek fotokémiai rendszereinek maximális kvantumhatásfokát (Fv/Fm) Walz-PAM 2500 (Németország) műszerrel Oxborough & Baker (1997) módszere alapján határoztuk meg 30 perc sötétadaptációt követően.

A sztóma konduktanciát (Gs) egy hordozható fotoszintézis mérő rendszerrel (CIRAS-2, PP System Inc., Amesbury, USA) mértük. Mindkét paramétert a hajtáscsúcstól számított harmadik levélen határoztuk meg.

A H₂O₂ tartalmat Alexieva et al. (2001) módszere alapján határoztuk meg. 500 mg tömegű friss levélmintát dörögtünk el 5 ml hideg 0,1% (w/v) triklórecetsavban (TCA), majd a homogenátumot 12000 g-n, 4 °C-on 15 percig centrifugáltuk. A reakcióelegy 0,5 ml levélextraktum felülúszóját, 0,5 ml 100 mM kálium-foszfátpuffert (pH=7,0) és 1 ml 1 M KI-ot tartalmazott. A reakcióelegyet egy órán keresztül inkubáltuk sötétben, majd az abszorbanciát 390 nm hullámhosszon mértük.

A levelek lipidperoxidációs szintjét Heath és Packer (1968) módszere alapján határoztuk meg. 500 mg tömegű friss levélmintát dörögtünk el 5 ml hideg 0,1% (w/v) triklórecetsavban (TCA), majd a homogenátumot 10000 g-n 5 percig centrifugáltuk. A reakcióelegy 1 ml levélextraktum felülúszójából és 4 ml 0,5% 2-tiobarbiturátsav (TBA) tartalmú TCA-ból állt. Ezt követően 95 °C-on 15 percig inkubáltuk, majd rövid ideig hűtöttük. A malondialdehid (MDA) tartalmát úgy határoztuk meg, hogy az 532 nm-en mért abszorpcióból kivontuk a nem-specifikus 600 nm hullámhosszon mért elnyelést a 155 mM⁻¹cm⁻¹ abszorpciós koefficienssel.

A levelek vízpotenciálja (Ψ_{levél}) nyomáskamrával lett meghatározva Boyer (1995) leírása szerint.

Enzimatisz mérések

A folyékony N₂-ben fagyasztott, majd -80 °C-on tárolt levelek, illetve gyökerek 3 ml 7,5% (w/v) polivinil-pirrolidon K25 és 1 mM Na₂EDTA tartalmú 50 mM Tris-HCl pufferben (pH=7,8) lettek homogenizálva, majd 10000 g-n, 4 °C-on 20 percig centrifugáltuk őket. A felülúszót antioxidáns enzimaktivitás mérésére használtuk fel az U-2900 UV-VIS spektrofotométer (Hitachi) műszer segítségével.

A peroxidáz (POD, EC 1.11.1.7) aktivitást Rathmell és Sequeira (1974) módszerét követve határoztuk meg: 5 percen át követtük az abszorpció változását 436 nm hullámhosszon. A

reakcióelegy (2,2 ml) 10 µl növényi extraktumot, 100 µl 12 mM H₂O₂-t, 0,1 M nátrium-foszfát puffert (pH=6,0) és 100 µl 50 mM gvajakolt tartalmazott. Az enzimaktivitást 25,5 mM⁻¹ cm⁻¹ extinkciós koefficienssel számoltuk, és mmol ml⁻¹ min⁻¹ fehérje dimenzióban adtuk meg.

A kataláz (CAT, EC 1.11.1.6) aktivitást Aebi (1984) módszerét követve határoztuk meg. A reakcióelegy 2 ml 50 mM kálium-foszfát puffert (pH=7,0), 1 ml 10 mM H₂O₂-t tartalmazott, a reakcióiniciáció 20 µl növényi levélextraktum hozzáadásával történt. A 240 nm hullámhosszon mért abszorbanca-csökkenést vettük a H₂O₂ alapvonalának. Az enzimaktivitást 39,4 mM⁻¹cm⁻¹ extinkciós koefficienssel számoltuk, és U ml⁻¹ min⁻¹ fehérje dimenzióban adtuk meg.

A szuperoxid-dizmutáz (SOD, EC 1.15.1.1) aktivitás Kit (CS0410, 19160, Sigma-Aldrich) használatával végeztük. Az enzimaktivitást U mg⁻¹ fehérje dimenzióban adtuk meg.

Statisztika

Az adatokat RStudio használatával értékeltem ki, amiben egytényezős variancianalízist végeztem (One-way ANOVA-t). A varianciaanalízis alapján szignifikáns (P<0,005) eredményeket Tukey-féle utóteszttel (P<0,005) tovább elemeztem. A kapott eredményeket táblázatban ábrázoltam, amit a munkám Függelék fejezetében jeleníték meg (3. táblázat).

Eredmények és értékelésük

A mért értékeket 12-16. ábrán jelenítem meg a függelékekben; a stresszmarkerekre, enzimaktivitásokra és a génexpresszióra mért adatokat a függelékekben található 4. táblázatban közlöm.

Fenológiai jellemzők

Kezelés	Gyökér SZT	Hajtás SZT	Gs	$\Psi_{\text{levél}}$	RWC	Fv/Fm
C	$0,32 \pm 0,02a$	$1,86 \pm 0,16a$	$0,24 \pm 0,01b$	$0,49 \pm 0,03a$	$0,91 \pm 0,02b$	$0,77 \pm 0,01b$
CAM	$0,34 \pm 0,01a$	$1,88 \pm 0,15a$	$0,26 \pm 0,01b$	$0,48 \pm 0,04a$	$0,91 \pm 0,02b$	$0,79 \pm 0,01c$
H	$0,28 \pm 0,03a$	$1,54 \pm 0,18a$	$0,12 \pm 0,01a$	$0,98 \pm 0,12b$	$0,71 \pm 0,06a$	$0,71 \pm 0,01a$
HAM	$0,32 \pm 0,02a$	$1,81 \pm 0,07a$	$0,13 \pm 0,03a$	$1,02 \pm 0,09b$	$0,69 \pm 0,09a$	$0,72 \pm 0,00a$
	F= 5,635 df= 3 P= 0,0226 n.s.	F= 3,464 df= 3 P= 0,071 n.s.	F= 45,52 df= 3 P= 2,26e-05 ***	F= 41,85 df= 3 P= 3,09e-05 ***	F= 15,67 df= 3 P= 0,00103 **	F= 89,84 df= 3 P= 1,68e-06 ***

1. táblázat: A kontroll (C), nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM), hőstresszelt nem-mikorrhizált (H) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) növények fenológiai jellemzőinél mért értékek szórással korrigált átlagai. SZT - száraz tömeg (g); Gs - sztómakonduktancia ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); $\psi_{\text{levél}}$ - levél vízpoteenciálja (-MPa); RWC - relatív víztartalom (%); Fv/Fm - fotokémiai rendszerek maximum kvantumhatásfoka. Az egytényezős ANOVA és Tukey post hoc teszt ($P < 0,05$) alapján nem elkülöníthető csoportot alkotó értékekhez azonos betűket rendeltünk. Az adatok szignifikanciáját az alábbiak szerint osztályoztuk: n.s. nem szignifikáns; * szignifikáns $P < 0,05$ szinten; ** szignifikáns $P < 0,01$ szinten; *** szignifikáns $P < 0,001$ szinten.

A gyökérkolonizáció mértéke a mikorrhizával nem oltott növények esetében nulla volt, így a C és H kezelés statisztikába vonása irreleváns lett volna az elemzés szempontjából. A kolonizáció átlagos mértéke a nem hőstresszelt növényeknél (CAM) 73,6%, amíg a hőstressznek kitett növényeknél (HAM) 67,9% volt. A statisztikai értékelés alapján a növények gyökerének kolonizációjában nem volt szignifikáns különbség – azaz egyforma mértékben voltak kolonizálva.

A sztómakonduktanciának statisztikai elemzése a kezelések között szignifikáns eltérést mutatott. A Tukey-féle post hoc teszt a hőstressztől megkímélt, illetve annak kitett növények között mutatott szignifikáns különbséget. Azok a növények, amelyek nem kaptak hőstresszkezelést magasabb sztómakonduktancia értékkel rendelkeztek, azaz nyitottabb állapotban voltak a sztómáik, mint a hőstressznek kitett paradicsomoké. A magas hőmérsékleti stresszel kezelt paradicsomok Gs értéke átlagosan fele annyi volt, mint az ilyen kezelést nem kapott növényeké.

A vízpotenciál statisztikai elemzése a kezelések között szignifikáns eltérést mutatott. A Tukey-féle post hoc teszt a hőstressztől megkímélt, illetve annak kitett növények között mutatott szignifikáns különbséget. A hőkezelésnek kitett növények átlagosan körülbelül kétszer (2,08-szor) akkora vízpotenciállal rendelkeztek, mint azok a növények, amiket nem ért hőstressz.

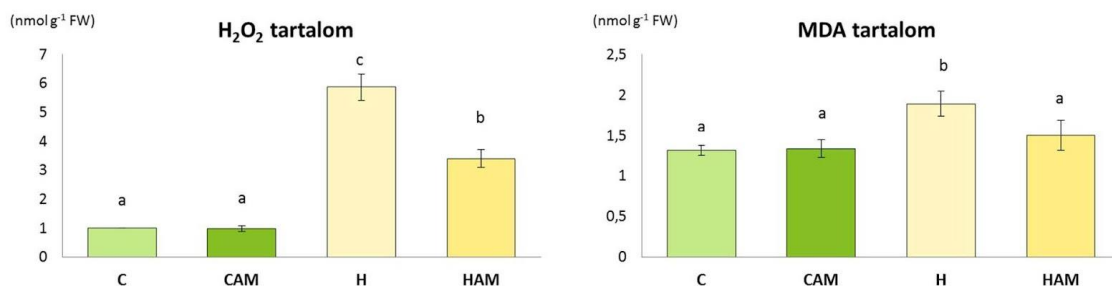
A növények gyökerének és hajtásának száraz tömegét összehasonlítva trendszerű eltéréseket tapasztalhattunk a kezelési csoportok között, habár a statisztikai értékelés alapján ezek nem mutattak szignifikáns eltérést. A nem mikorrhizált, hőstressznek kitett növények gyökerének, illetve hajtásának a száraz tömege látszólag jóval alulmarad a kontroll, valamint a hőstresszel kezelt mikorrhizált növények értékeihez képest.

A relatív víztartalom mérése azt mutatta, hogy a hőstressznek kitett növényeknél kapott értékek átlagosan 23,07%-kal maradtak alul a hőstressz kezelést nem kapó paradicsomokhoz képest. A csoportok közötti eltérést a statisztikai elemzés szignifikáns eredménye is alátámasztotta, valamint a Tukey-féle post hoc a hőstressztől megkímélt, illetve annak kitett növények között mutatott szignifikáns különbséget – szintén megerősítve az eredményt. Viszont a nem-mikorrhizált, hőstressznek kitett paradicsomok relatív víztartalma nem tért el szignifikánsan a kontroll és mikorrhizált kontroll növényekétől.

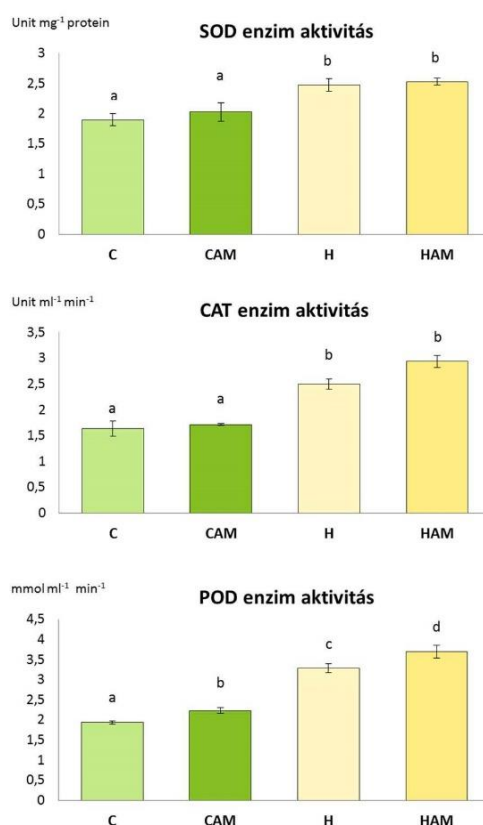
A fotokémiai rendszerek maximum kvantumhatásfokának statisztikai elemzése a kezelések között szignifikáns eltérést mutatott. A Tukey-féle post hoc a hőstressztől megkímélt, illetve annak kitett növények között mutatott szignifikáns különbséget – utóbbi kezelési csoportok Fv/Fm értékei átlagosan mindössze 7,74%-kal voltak alacsonyabbak. Továbbá, a hőstressznek nem kitett növények között is volt különbség a mikorrhizáltság függvényében: a mikorrhizált növények fotokémiai rendszereinek maximum kvantumhatásfoka átlagosan 3,4%-kal volt magasabb.

A fenológiai jellemzők esetén kijelenthető, hogy a hőstressznek nem, illetve kitett növények értékei két jól elkülöníthető csoportot alkotnak. A mért kvalitatív és kvantitatív adatok megegyeztek a korábbi kutatási eredmények alapján vártakkal (Hasanuzzaman et al., 2013; Hassan et al., 2021). Azaz a sztómakonduktancia csökkent, a vízpotenciál nőtt, a relatív víztartalom csökkent, valamint az Fv/Fm érték csökkent – kimutathatóan negatívan érintette a növényeket a magas hőmérséklet okozta stressz.

Stresszmarkerek és ROS elimináló enzimek



9. ábra: A H₂O₂ és MDA stresszmarkertartalom kontroll (C), nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM), hőstresszelt nem-mikorrhizált (H) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) növényekben. Az ábrán megjelenített értékek a szórással korrigált nmol g⁻¹ Fw átlagok. Az egytényezős ANOVA és Tukey post hoc teszt ($P < 0,05$) alapján nem elkülöníthető csoportot alkotó értékekhez azonos betűket rendeltünk.



10. ábra: A SOD, CAT és POD enzimek aktivitása kontroll (C), nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM), hőstresszelt nem-mikorrhizált (H) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) növényekben.

Az ábrán megjelenített értékek a szórással korrigált Unit ml⁻¹ min⁻¹ és mmol ml⁻¹ min⁻¹ átlagok. Az egytényezős ANOVA és Tukey post hoc teszt ($P < 0,05$) alapján nem elkülöníthető csoportot alkotó értékekhez azonos betűket rendeltünk.

A hidrogén-peroxid tartalom vizsgálatánál az valószínűsíthető volt a 14. ábra alapján az, hogy a hőstressznek nem kitett, a mikorrhizált hőstresszelt és a nem-mikorrhizált hőstresszelt növények között eltérés tapasztalható. Ezt a varianciaanalízis, illetve a Tukey-féle post hoc vizsgálat is alátámasztotta. A C és CAM kezelési csoportnál mind a HAM, mind a H átlagosan jóval magasabb (5,93-szor, valamint 3,43-szor) értékeket mutatott. Ezenkívül stresszkezelést kapó növények között is jelentős eltérés volt tapasztalható: a mikorrhizált növények hidrogén-peroxid tartalma a nem-mikorrhizált paradicsomokénak 58%-a volt.

A malondialdehid tartalom statisztikai elemzése a kezelések között szignifikáns eltérést mutatott. A Tukey-féle post hoc teszt alapján a hőstressznek kitett nem-mikorrhizált paradicsomok malondialdehid tartalma szignifikánsan magasabb a többi kezelési csoportnál mért értékeknél – a H kezelésű paradicsomoknál a malondialdehid tartalom átlagosan 36%-kal volt magasabb.

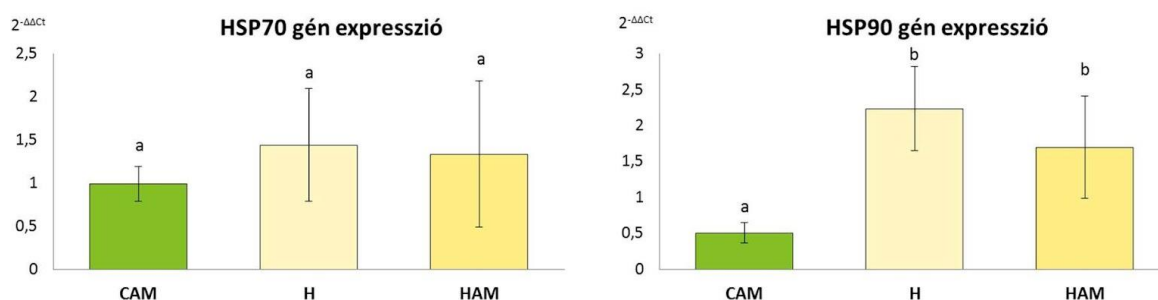
Mindkét stresszmarker molekulánál a csak hőstressz-kezelést kapó növények értékei különböztek jelentősen a többi kezelési csoport értékeitől, amely megfelelt a szakirodalomban leírt tapasztalatoknak (Asthir, 2015; Ding et al., 2010).

A növényi stresszválaszban először a megjelennek a reaktív oxigénformák, amelyeket aztán a szuperoxid-dizmutáz alakít át hidrogén-peroxiddá – amely továbbra is oxidatív hatással bír – ezt később a kataláz vagy a peroxidáz enzim bontja el vízzé és oxigénné. A másik vizsgált vegyület – a malondialdehid – megjelenése már a stresszválasz későbbi szakaszára tehető, mivel a lipidperoxidáció egyik terméke. A magas hőmérsékletű kezelések hatására megjelenő stresszmarkerek (H_2O_2 és MDA) mennyisége egyértelműen különbözött a mikorrhizált, illetve a nem-mikorrhizált növényekben, ráadásul az MDA szintje a mikorrhizált paradicsomban megegyezett a hőstressztől megkímélt paradicsomokéval. Tehát a szakirodalommal megegyező eredmény olvasható ki az adatokból, miszerint a mikorrhizálás jótékonyan hat a magas hőmérsékleti stressz hatására termelődő reaktív oxigénformák eliminációjára, valamint így a membránok is kevésbé vannak kitéve oxidatív hatásoknak (Bienert & Chaumont, 2014; Dvořák et al., 2021).

Az enzimaktivitási értékek meghatározását követő varianciaanalízis és Tukey post hoc teszt alátámasztotta, hogy a hőstressz-kezelést kapó növényeknek valóban szignifikánsan elkülöníthetőek a hőstressztől megkímélt paradicsomoktól. A H és HAM kezelési csoportokba tartozó növényeknél a ROS elimináló enzimek aktivitása nagyobb volt a C, illetve CAM csoportnál mérteknél. A legjelentősebb különbséget a peroxidáz enzimaktivitásánál lehetett

tapasztalni, ami átlagosan 40,34%-kal volt kisebb a hőstressznek nem kitett növényeknél; ez az arányszám majdnem ilyen magas volt a kataláz enzim aktivitásánál is, de itt a különbség 38,49% volt. A szuperoxid-dizmutáz enzim aktivitása szintén szignifikánsan különbözött a kezelési csoportoknál annak függvényében, hogy ki voltak-e téve magas hőmérsékleti stressznek, itt a C és CAM csoportok értékei átlagosan 21,56%-kal voltak kisebbek, mint a H és HAM értékei. Továbbá, a statisztikai elemzés alapján a POD enzim aktivitása minden egyes kezelési csoportban jól elkülöníthető mértékben jelent meg: a mikorrhizáltság átlagosan 18,95%-kal magasabb enzimaktivitással járt, amíg a hipotézisünk szempontjából leginkább izgalmas HAM kezelési csoport értékei átlagosan 11,17%-kal voltak magasabbak, mint a H kezelési csoportéi. A SOD enzim hatására képződő H_2O_2 elbontásában szerepet játszó POD és CAT enzimek aktivitása nagyban függ a hidrogén-peroxid jelenlététől, így annak szintje befolyásolja az enzimaktivitást. A ROS elimináló enzimek emelkedett szintje a mikorrhiza gombával oltott növényeknél már leírt hatás, a mi kísérletünk szignifikáns különbséget csak a POD esetében mutatott ki, de a SOD és a CAT enzimek aktivitásában is meg lehet figyelni trendszerű emelkedést (Hashem et al., 2018; Saxena et al., 2017).

Génexpressziós jellemzők



11. ábra: A *HSP70* és *HSP90* gének relatív expressziója nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM), hőstresszelt nem-mikorrhizált (H) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) növényekben. Az ábrán megjelenített értékek a szórással korrigált $2^{-\Delta\Delta C_t}$ átlagok. Az egytényezős ANOVA és Tukey post hoc teszt ($P < 0,05$) alapján nem elkülöníthető csoportot alkotó értékekhez azonos betűket rendeltünk.

Az általam vizsgált két chaperon fehérje központi szereppel bír a hőstresszválaszban. A *HSP70* és *HSP90* gén a stresszválasz korai szakaszában, magas szinten expresszálnak, így azt vártuk, hogy a közvetlenül a stresszhatás után begyűjtött levelekben a kontrollnál magasabb szinteket tapasztalunk (Chaudhary et al., 2019; Efeoglu, 2010).

A statisztikai értékelés alapján a *HSP70* gén kifejeződésében nem volt szignifikáns különbség a kezelések között. Viszont a *HSP90* gén expresszójánál tapasztalhatunk eltérést a kezelési csoportok között, amit a varianciaanalízis és a Tukey-féle utóteszt is alátámasztott. A mikorrhizált hőstressznek nem kitett növények génexpressziós szintje jóval – átlagosan 77,3%-kal – alacsonyabb volt a nem-mikorrhizált hőstresszelt paradicsomokénál. A HAM kezelési csoportba tartozó növényeket a *HSP90* gén expressziója alapján statisztikailag nem lehetett elkülöníteni a H csoportba tartozóktól, de az átlagos (23,97%-os) különbségük alapján trendszerű eltéréseket tapasztalhatunk.

A *HSP70* gén expresszáldása alapján a kezelési csoportok nem voltak jól elkülöníthetőek. A hőstressz korai fázisára jellemző expressziós szint emelkedése a *HSP70* esetében nem volt megfigyelhető a kísérletünkben. Ennek oka lehet részben a relatív hosszú stresszkezelés, amit alkalmaztunk, mivel az akut hőstresszt alkalmazó kísérletek általában nem érik el a 6 óras időtartamot (Ferradini et al., 2015; Hahn et al., 2011). Elképzelhető, hogy a stresszválasz ezen szakaszában már megfelelő mennyiségű *HSP70* fehérje van jelen a növényben a sérült fehérjék konformációjának helyreállításához – ezt a feltételezésünket fehérje expressziós vizsgálatokkal lehetne ellenőrizni. Nem figyeltünk meg mikorrhiza által előidézett változást a leírt folyamatban. A *HSP90* gén expressziója a magas hőmérsékleti stressz hatására a H kezelési csoportban elvártak szerint magasabb volt, mint a stressznek nem kitett CAM növényekben. Viszont a mikorrhizaoltás és hőmérsékleti stressz együttes alkalmazásának hatására a paradicsomok *HSP90* génjének expressziós szintje nem jól elkülöníthető, sem a kontroll mikorrhizált, sem a csak hőstresszben részesített növények csoportjától. Habár a 16. ábra alapján azt lehetne feltételezni, hogy a HAM kezelési csoportba tartozók génexpressziója a hőmérsékleti stressz hatására megemelkedett, de nem érte el a nem-mikorrhizált növényekének a szintjét. Ezen megfigyelések alapján feltételezhetjük a mikorrhiza stressz tompító hatását, habár a jelenség csupán tendencia szintjén volt felfedezhető. Így érdemes lenne nagyobb mintaszámon génexpressziós vizsgálatot végezni, amivel megbízhatóbb statisztikai elemzésekkel lehetne ellenőrizni a hipotézisünket.

A munkám eredményeinek ismeretében szeretném tovább folytatni a témában rejlő potenciál kiaknázását. Célszerű lenne a mikorrhizaoltás hősokkfehérjék expressziójára való hatásának alaposabb megismerése több hősokkfehérje család vizsgálatával. Valamint más gazdaságilag hasznos növények is kitettek a magas hőmérsékleti stressznek, így érdemes lenne minél több faj esetében feltérképezni a mikorrhizaoltás által indukált hőstressz-tolerancia lehetőségét. Továbbá mind tudományos, mind az ipari alkalmazás szempontjából érdekes ismeret lehetne a

mikorrhizaoltás kedvező hatásának bizonyítása más módszertani körülmények között – akár többszöri hősokk-kezelés alkalmazásával, akár hosszú ideig tartó magas hőmérsékletű kezeléssel, amely a kimerülési fázis hosszáról adhatna értékes információkat.

Összefoglalás

Munkám során célom volt, hogy bővítssem az ismereteinket a magas hőmérsékleti stressz által növényben előidézett változások és az arbuszkuláris mikorrhizaoltás kapcsolatáról. Ismert, hogy az arbuszkuláris mikorrhizaképző gombák pozitívan befolyásolják a növények életfolyamatait, amely elsősorban a növekedésben és a tápelemfelvétel fokozásában nyilvánul meg. Egyre több adat van arra vonatkozóan is, hogy például szárazságstressz esetén a mikorrhizált növények ellenálló képessége növekedett. A szárazság mellett a hőmérsékleti stressz igen gyakori és jelentős termés kiesést okoz a mezőgazdaságban. A hőmérsékleti stressz kutatások azonban főleg a hideg stresszre fókuszálnak, amíg a magas hőmérséklet relatíve kevés figyelmet kap. A klímaváltozás hatásának növekedése miatt, azonban egyre inkább központi szerepet kapnak a hőstressz kivédésében szerepet játszó folyamatok, vizsgálatok.

Kontrollált körülmények között nevelt paradicsom (*Solanum lycopersicum* L.) var. Moneymaker növényekkel végzett hősokk kezelések hatását vizsgáltuk *Septoglomus constrictum* arbuszkuláris mikorrhizaképző gomba jelenlétében, illetve hiányában.

Eredményeink alapján sikerült megerősíteni az irodalomból már ismert több változást is: így a H₂O₂ és MDA és ROS elimináló enzimek (POD, SOD, CAT) megnövekedett termelődését a stressz hatására. Ugyanakkor a mikorrhiza stresszhatást tompító jelenségét már egyértelműen jelzi a nem-mikorrhizált növényekhez képest mért alacsonyabb értékek a stresszmarkerek esetében. A POD enzim aktivitása minden kezelési csoportban eltért mind a mikorrhizaoltás, mind a hősokk-kezelés tekintetében.

A hőstressz kivédésében a növények hősokkfehérjéinek igen nagy szerepe van. A HSP-k expressziójának változását két ismert és jellemzett hősokkfehérjén (*HSP70* és *HSP90*) keresztül vizsgáltuk. Ezek a fehérjék a stresszválasz korai szakaszában magas szinten expresszálódnak és a fehérjék, DNS, illetve lipidmembránok tartós károsodását megelőző funkcióval bírnak. A *HSP90* gén expresszióját tekintve ígéretesek az eredményeink, mert a mikorrhizált és a nem-mikorrhizált növények génexpressziója látszólag eltér a hősokk hatására, habár az eltérés nem szignifikáns, de további vizsgálatokat tartanék szükségesnek egyrészt a *HSP70*

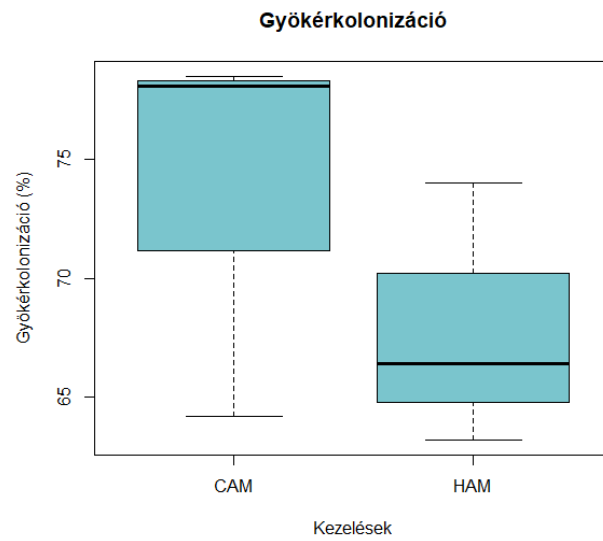
génexpresszióál mért értékek okán, másrészt szükségesnek látom nagyobb mintaelemszámmal megismételni a molekuláris vizsgálatokat.

Ezen megfigyelések alapján feltételezhetjük a mikorrhiza stressz tompító hatását, habár a jelenség csupán tendencia szintjén volt felfedezhető. Összességében a mikorrhizával oltott, magas hőmérsékleti stressznek – hősöknek – kitett paradicsomokban a stresszmarkerek jelenléte alacsonyabb szintet mutatott, mint a hőstresszelt nem mikorrhizált növényekben; a mért védelmi enzimaktivitások (SOD, POD és CAT) és a *HSP90* génexpressziók tekintetében trendszerű eltérésekre figyelhettünk fel. Eredményeink ismeretében szeretném tovább folytatni a témában rejlő potenciál kiaknázását a mikorrhizaoltás hősokkfehérjék expressziójára gyakorolt hatásának alaposabb megismerését, valamint más hősokkfehérje család vizsgálatával tovább bővíteni ismereteinket.

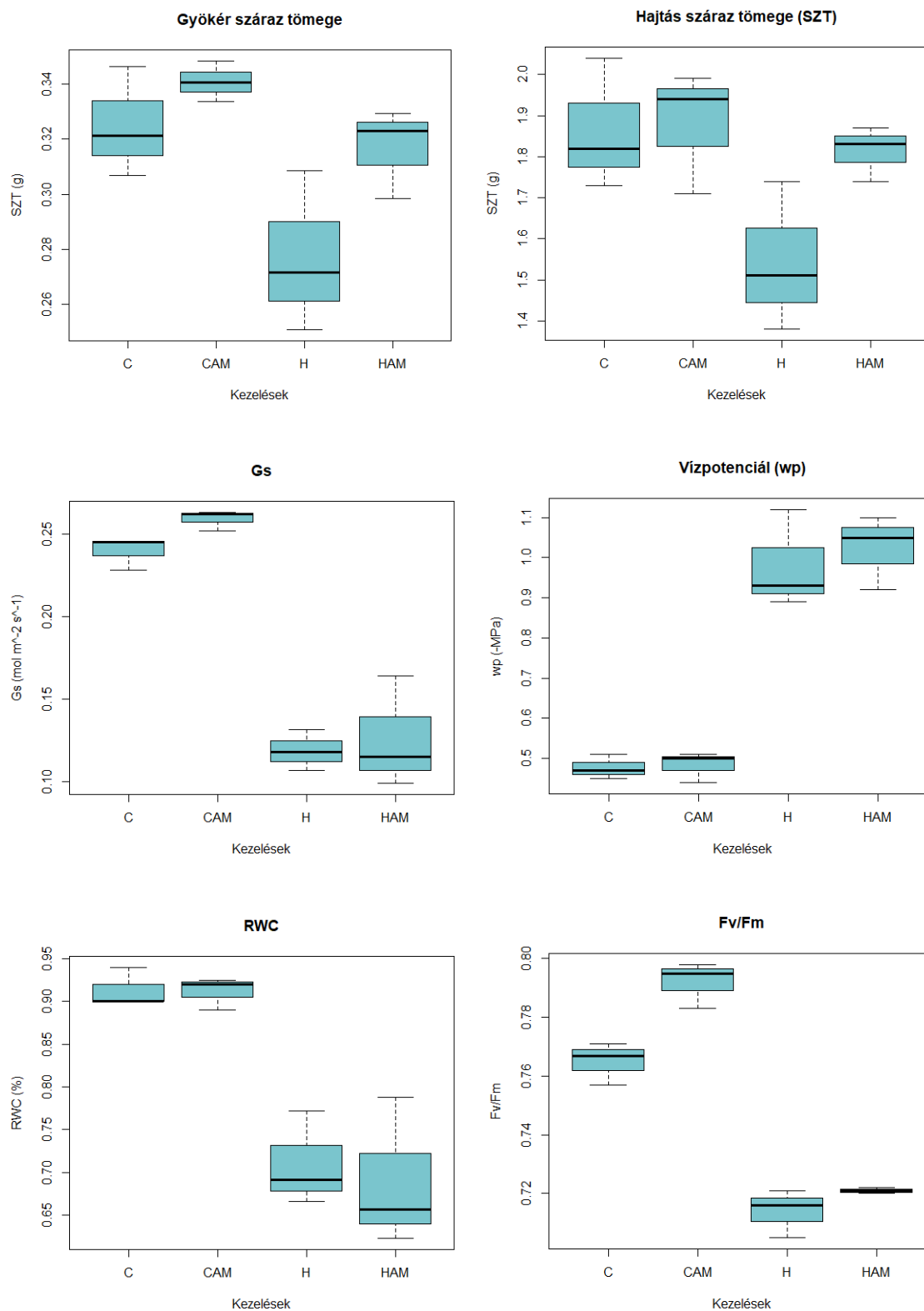
Függelékek

Gén neve	Génszekvencia (5' - 3')	Hossza	Start	Stop	T _m	GC%	komplemen- taritás önmagával	3' komplemen- taritás	Termék hossza
<i>Eflα</i> forward	GATTGGTGGT ATTGGAACGTG TC	22			57,03	45,45	3	1	130
<i>Eflα</i> reverse	AGCTTCGTGG TGCATCTC	18			57,39	55,56	4	4	
<i>Hsp70</i> forward	TGTGGACTGG CTTGCTGATA	20	929	948	59,02	50	2	2	107
<i>Hsp70</i> reverse	CTATCTTTGCC TTCCCAGCAG	21	1035	1015	58,7	52,38	3	2	
<i>Hsp90</i> forward	AGCAAGATGG AGGAAGTGGA	20	2295	2314	58,34	50	2	0	136
<i>Hsp90</i> reverse	ACTGACTCGG AAGAACAAAA CA	22	2430	2409	58,13	40,91	3	0	

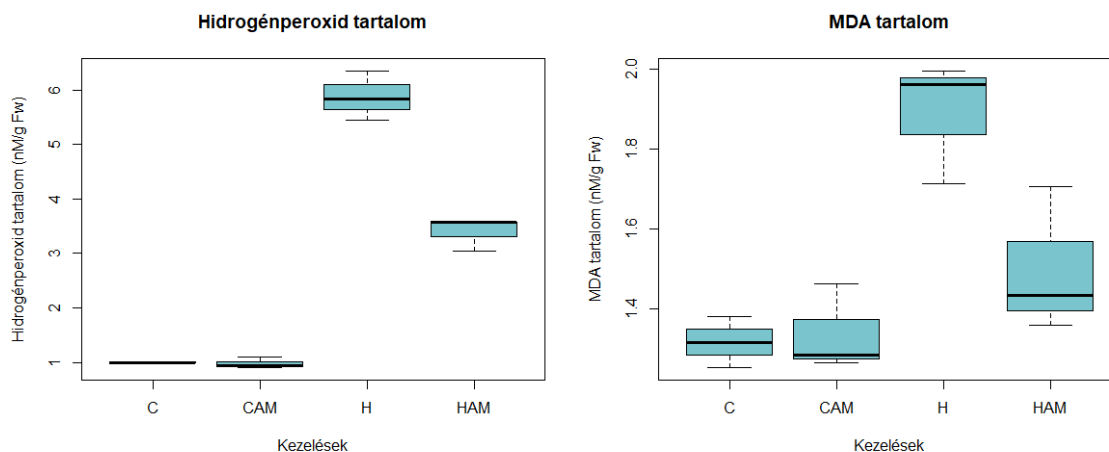
2. táblázat: Felhasznált primer szekvenciák



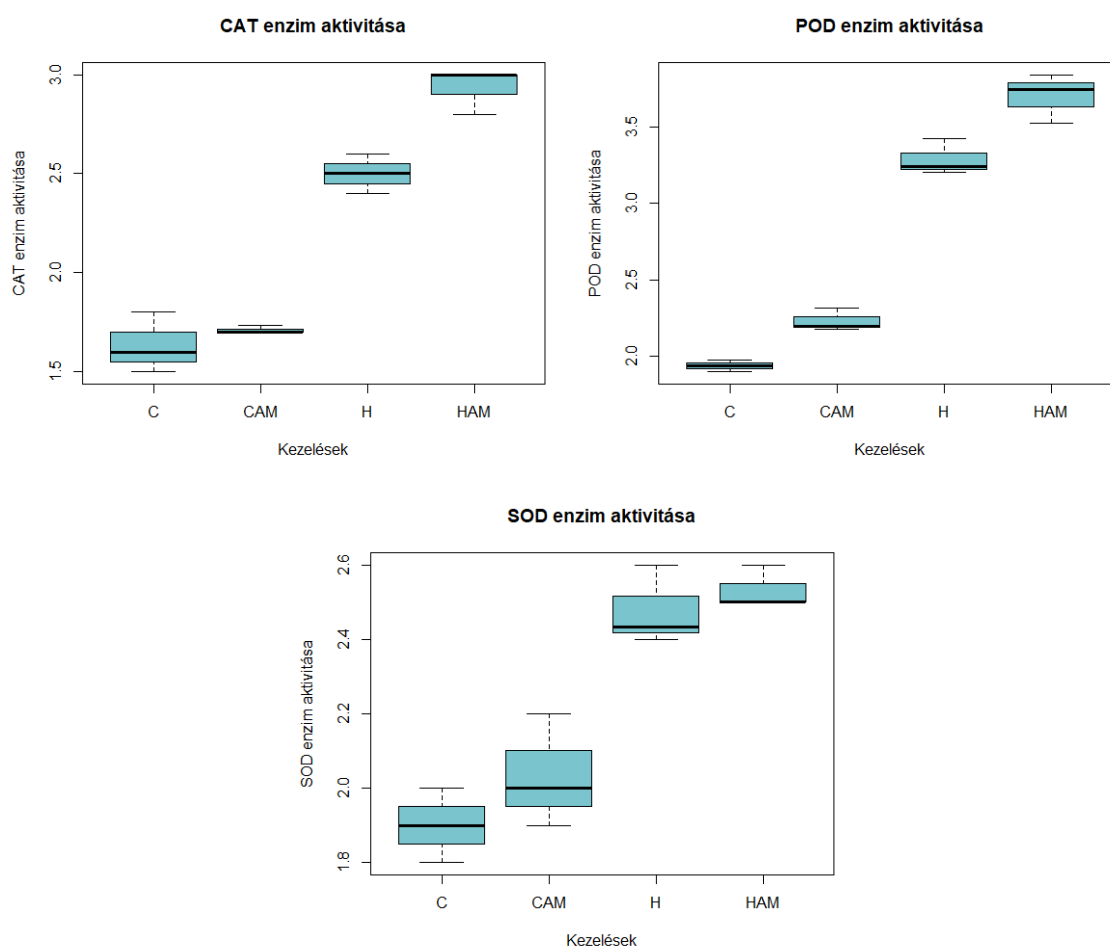
12. ábra: A gyökérkolonizáció százalékos mértéke nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) növényekben. Az ábrán megjelenített értékek a szórással korrigált százalékok.



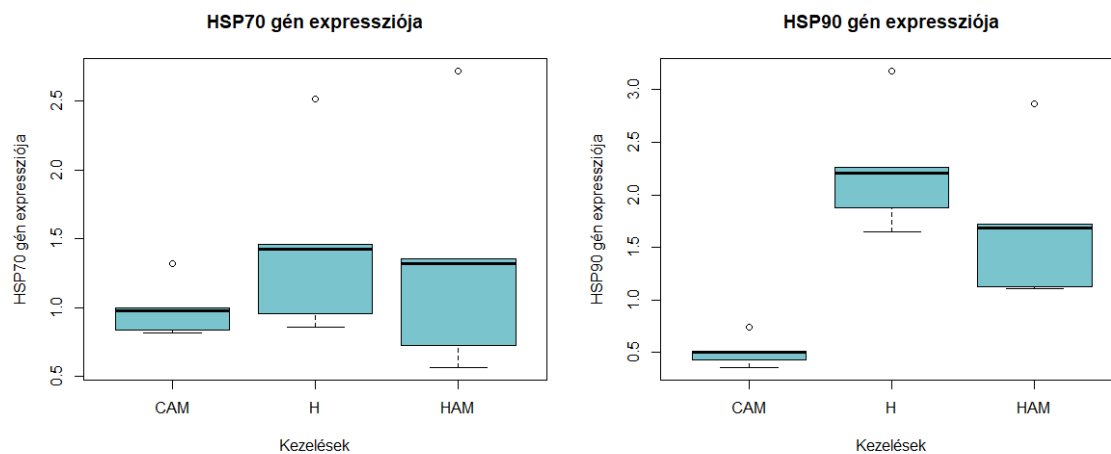
13. ábra: A kontroll (C), nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM), hőstresszelt nem-mikorrhizált (H) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) növények fenológiai jellemzőinél mért értékek. SZT - száraz tömeg (g); Gs - sztomakonduktancia (mol m⁻² s⁻¹); $\psi_{\text{levél}}$ - levél vízpotenciálja (-MPa); RWC - relatív víztartalom (%); Fv/Fm - fotokémiai rendszerek maximum kvantumhatásfoka.



14. ábra: A kontroll (C), nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM), hőstresszelt nem-mikorrhizált (H) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) növények stresszmarkereinél (H₂O₂ és MDA) mért értékek (nM/g).



15. ábra: A kontroll (C), nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM), hőstresszelt nem-mikorrhizált (H) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) növények CAT, POD és SOD enzim aktivitásánál mért értékek (U ml⁻¹ min⁻¹).



16. ábra: A nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM), hőstresszelt nem-mikorrhizált (H) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) növények *HSP70* és *HSP90* gének relatív expressziójánál mért értékek ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

ANOVA és Tukey-féle utótesztek eredményei

vizsgálati szempont	CAM-C	H-C	HAM-C	H-CAM	HAM-CAM	HAM-H
Gs	n.S.	***	***	***	***	n.S.
ψlevél	n.S.	***	***	***	***	n.S.
RWC	n.S.	**	**	**	**	n.S.
Fv/Fm	**	***	***	***	***	n.S.
H₂O₂	n.S.	***	***	***	***	***
MDA	n.S.	**	n.S.	**	n.S.	*
CAT	n.S.	***	***	***	***	**
POD	*	***	***	***	***	**
SOD	n.S.	***	***	**	**	n.S.
HSP90				***	*	n.S.

3. táblázat: A kontroll (C), nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM), hőstresszelt nem-mikorrhizált (H) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) kezelési csoportok közötti kapcsolatok vizsgálata egytényezős ANOVA-t követő Tukey-féle post hoc teszttel. A gyökérkolonizáció, gyökér és hajtás száraz tömege és a *HSP70* gén expressziójának variancianálízisei nem mutattak szignifikáns eredményt, így post hoc teszt híján nem kerültek be a táblázatba. A táblázatban alkalmazott jelölések és rövidítések: Gs – sztómakonduktancia ; ψ levél – levél vízpotenciálja ; RWC – relatív víztartalom; Fv/Fm – fotokémiai rendszerek maximum kvantumhatásfoka; H₂O₂ – hidrogén-peroxid; MDA - malondialdehid; CAT – kataláz; POD - peroxidáz; SOD – szuperoxid-dizmutáz. A adatok szignifikanciáját az alábbiak szerint osztályoztuk: n.s. nem szignifikáns; * szignifikáns P<0,05 szinten; ** szignifikáns P<0,01 szinten; *** szignifikáns P<0,001 szinten. táblázatba.

	C	CAM	H	HAM	
MDA	1,32±0,06a	1,34±0,11a	1,89±0,15b	1,50±0,18a	F= 11,56 df= 3 P= 0,0028 **
H₂O₂	1,00±0,01a	0,98±0,10a	5,87±0,46c	3,40±0,31b	F= 206,2 df= 3 P = 6,51e-08 ***
POD	1,94±0,04a	2,23±0,07b	3,29±0,12c	3,70±0,16d	F= 178,4 df= 3 P= 1,15e-07 ***
SOD	1,90±0,10a	2,03±0,15a	2,48±0,11b	2,53±0,06b	F= 24,99 df= 3 P = 0,000204 ***
CAT	1,63±0,15a	1,71±0,02a	2,50±0,10b	2,93±0,12b	F= 101 df= 3 P = 1,07e-06 ***
HSP70		0,99±0,20a	1,44±0,66a	1,34±0,85a	F= 0,705 df= 2 P= 0,514 n.s.
HSP90		0,51±0,14a	2,24±0,59b	1,70±0,71b	F= 13,43 df= 2 P= 0,000868 ***

4. táblázat: A kontroll (C), nem hőstresszelt mikorrhizált (CAM), hőstresszelt nem-mikorrhizált (H) és hőstresszelt mikorrhizált (HAM) növényeknél mért stresszmarkerek, enzimaktivitások és génexpressziók értékének szórással korrigált átlagai. Az egytényezős ANOVA és Tukey post hoc teszt ($P < 0,05$) alapján nem elkülöníthető csoportot alkotó értékekhez azonos betűket rendeltünk. Az adatok szignifikanciáját az alábbiak szerint osztályoztuk: n.s. nem szignifikáns; * szignifikáns $P < 0,05$ szinten; ** szignifikáns $P < 0,01$ szinten; *** szignifikáns $P < 0,001$ szinten.

Irodalomjegyzék

- Abedon, S. T. (2010). Biocommunication in Soil Microorganisms (G. Witzany, Ed.; Vol. 23). Springer Science & Business Media.
- Adeleke, R., Nwangburuka, C., & Oboirien, B. (2017). Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. In *South African Journal of Botany* (Vol. 108, pp. 393–406). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.09.002>
- Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. In *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 121–126). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*, 24(12), 1337–1344. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- Al-Whaibi, M. H. (2011). Plant heat-shock proteins: A mini review. *Journal of King Saud University - Science*, 23(2), 139–150. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2010.06.022>
- Amanifar, S., & Toghranegar, Z. (2020). The efficiency of arbuscular mycorrhiza for improving tolerance of *Valeriana officinalis* L. and enhancing valerenic acid accumulation under salinity stress. *Industrial Crops and Products*, 147, 112234. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112234>
- Andrade, S. A. L., Malik, S., Sawaya, A. C. H. F., Bottcher, A., & Mazzafera, P. (2013). Association with arbuscular mycorrhizal fungi influences alkaloid synthesis and accumulation in *Catharanthus roseus* and *Nicotiana tabacum* plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(3), 867–880. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1130-8>
- Ángyán, J. (2008). *Tájgazdálkodási és vidékfejlesztési alapismeretek* (Z. Menyhért, Ed.). Szent István Egyetemi Kiadó.
- Asthir, B. (2015). Mechanisms of heat tolerance in crop plants. *Biologia Plantarum*, 59(4), 620–628. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0539-5>
- Barea, J. M., Azcon, R., & Azcon-Aguilar, C. (1989). Time-course of N₂-fixation (15N) in the field by clover growing alone or in mixture with ryegrass to improve pasture productivity, and inoculated with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 112(3), 399–404. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1989.tb00329.x>
- Barea, J. M., Pozo, M. J., Azcón, R., & Azcón-Aguilar, C. (2005). Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56(417), 1761–1778. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri197>
- Bienert, G. P., & Chaumont, F. (2014). Aquaporin-facilitated transmembrane diffusion of hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1840(5), 1596–1604. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.09.017>
- Bisbis, M. B., Gruda, N. S., & Blanke, M. M. (2019). Securing horticulture in a changing climate-a mini review. *Horticulturae*, 5(3). <https://doi.org/10.3390/horticulturae5030056>

- Bokszczanin, K. L., & Fragkostefanakis, S. (2013). Perspectives on deciphering mechanisms underlying plant heat stress response and thermotolerance. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 4, Issue AUG). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00315>
- Bose, J., Pottosin, I. I., Shabala, S. S., Palmgren, M. G., & Shabala, S. (2011). Calcium efflux systems in stress signaling and adaptation in plants. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 2, Issue DEC). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00085>
- Boyer, J. S. (1995). *Measuring the water status of plants and soils*. Academic Press Inc.
- Brierley, A. S., & Kingsford, M. J. (2009). Impacts of Climate Change on Marine Organisms and Ecosystems. In *Current Biology* (Vol. 19, Issue 14). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.05.046>
- Chaudhary, R., Baranwal, V. K., Kumar, R., Sircar, D., & Chauhan, H. (2019). Genome-wide identification and expression analysis of Hsp70, Hsp90, and Hsp100 heat shock protein genes in barley under stress conditions and reproductive development. *Functional & Integrative Genomics*, 19(6), 1007–1022. <https://doi.org/10.1007/s10142-019-00695-y>
- Daliakopoulos, I. N., Tsanis, I. K., Koutroulis, A., Kourgialas, N. N., Varouchakis, A. E., Karatzas, G. P., & Ritsema, C. J. (2016). The threat of soil salinity: A European scale review. *Science of The Total Environment*, 573, 727–739. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.177>
- Das, K., & Roychoudhury, A. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. In *Frontiers in Environmental Science* (Vol. 2, Issue DEC). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>
- Ding, W., Song, L., Wang, X., & Bi, Y. (2010). Effect of abscisic acid on heat stress tolerance in the calli from two ecotypes of *Phragmites communis*. *Biologia Plantarum*, 54(4), 607–613. <https://doi.org/10.1007/s10535-010-0110-3>
- Dvořák, P., Krasylenko, Y., Zeiner, A., Šamaj, J., & Takáč, T. (2021). Signaling Toward Reactive Oxygen Species-Scavenging Enzymes in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.618835>
- Efeoglu, B. (2010). Heat Shock Proteins and Heat Shock Response in Plants. *Gazi University Journal of Science*, 22(2), 67–75.
- Farooq, M. A., Niazi, A. K., Akhtar, J., Saifullah, Farooq, M., Souri, Z., Karimi, N., & Rengel, Z. (2019). Acquiring control: The evolution of ROS-Induced oxidative stress and redox signaling pathways in plant stress responses. In *Plant Physiology and Biochemistry* (Vol. 141, pp. 353–369). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.04.039>
- Ferradini, N., Iannaccone, R., Capomaccio, S., Metelli, A., Armentano, N., Semeraro, L., Cellini, F., Veronesi, F., & Rosellini, D. (2015). Assessment of Heat Shock Protein 70 Induction by Heat in Alfalfa Varieties and Constitutive Overexpression in Transgenic Plants. *PLOS ONE*, 10(5), e0126051. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126051>
- Fester, T., Wray, V., Nimtz, M., & Strack, D. (2005). Is stimulation of carotenoid biosynthesis in arbuscular mycorrhizal roots a general phenomenon? *Phytochemistry*, 66(15), 1781–1786. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.05.009>

- Fodor, F., Bratek, Z., Király, I., Nyitrai, P., Parádi, I., Rácz, I., Rudnóy, S., Sárvári, É., Solti, Á., Szigeti, Z., & Tamás, L. (2013). *A növényi anyagcsere élettana* (F. Fodor, Ed.). Eötvös Loránd Tudományegyetem.
- Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An Evaluation of Techniques for Measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infection in Roots. *The New Phytologist*, 84(3), 489–500.
- Hahn, A., Bublak, D., Schleiff, E., & Scharf, K.-D. (2011). Crosstalk between Hsp90 and Hsp70 Chaperones and Heat Stress Transcription Factors in Tomato. *The Plant Cell*, 23(2), 741–755. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.076018>
- Harrison, M. J. (2005). Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. In *Annual Review of Microbiology* (Vol. 59, pp. 19–42). <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.58.030603.123749>
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Roychowdhury, R., & Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 14, Issue 5, pp. 9643–9684). <https://doi.org/10.3390/ijms14059643>
- Hashem, A., Abd_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., & Egamberdieva, D. (2018). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Plant Stress Tolerance. In *Plant Microbiome: Stress Response* (Vol. 5, pp. 81–103). https://doi.org/10.1007/978-981-10-5514-0_4
- Hassan, M. U., Chattha, M. U., Khan, I., Chattha, M. B., Barbanti, L., Aamer, M., Iqbal, M. M., Nawaz, M., Mahmood, A., Ali, A., & Aslam, M. T. (2021). Heat stress in cultivated plants: nature, impact, mechanisms, and mitigation strategies—a review. In *Plant Biosystems* (Vol. 155, Issue 2, pp. 211–234). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/11263504.2020.1727987>
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189–198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Hemnani, T., & Parihar, M. S. (1998). Reactive oxygen species and oxidative DNA damage. *Indian J Physiol Pharmacol*, 42(4), 440–452.
- Higashi, Y., & Saito, K. (2019). Lipidomic studies of membrane glycerolipids in plant leaves under heat stress. In *Progress in Lipid Research* (Vol. 75). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2019.100990>
- Hou, X., Rivers, J., León, P., McQuinn, R. P., & Pogson, B. J. (2016). Synthesis and Function of Apocarotenoid Signals in Plants. In *Trends in Plant Science* (Vol. 21, Issue 9, pp. 792–803). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.06.001>
- Kaur, S., & Suseela, V. (2020). Unraveling arbuscular mycorrhiza-induced changes in plant primary and secondary metabolome. In *Metabolites* (Vol. 10, Issue 8, pp. 1–30). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/metabo10080335>
- Larcher, W. (1994). *Ökophysiologie der PflanzenLeben, Leistung und Stressbewältigung der Pflanzen in ihrer Umwelt*. Ulmer.
- Lindberg, S., Kader, M. A., & Yemelyanov, V. (2012). Calcium signalling in plant cells under environmental stress. In *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era*

of *Climate Change* (pp. 325–360). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0815-4_15

- Lopez-Obando, M., Ligerot, Y., Bonhomme, S., Boyer, F.-D., & Rameau, C. (2015). Strigolactone biosynthesis and signaling in plant development. *Development*, 142(21), 3615–3619. <https://doi.org/10.1242/dev.120006>
- Mar Vázquez, M., César, S., Azcón, R., & Barea, J. M. (2000). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. In *Applied Soil Ecology* (Vol. 15).
- Miralles, D. G., Teuling, A. J., van Heerwaarden, C. C., & de Arellano, J. V. G. (2014). Mega-heatwave temperatures due to combined soil desiccation and atmospheric heat accumulation. *Nature Geoscience*, 7(5), 345–349. <https://doi.org/10.1038/ngeo2141>
- Miransari, M. (2011). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 89, Issue 4, pp. 917–930). <https://doi.org/10.1007/s00253-010-3004-6>
- Mohanta, T. K., Bashir, T., Hashem, A., Abd Allah, E. F., Khan, A. L., & Al-Harrasi, A. S. (2018). Early Events in Plant Abiotic Stress Signaling: Interplay Between Calcium, Reactive Oxygen Species and Phytohormones. In *Journal of Plant Growth Regulation* (Vol. 37, Issue 4, pp. 1033–1049). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9833-8>
- Niu, S., Luo, Y., Li, D., Cao, S., Xia, J., Li, J., & Smith, M. D. (2014). Plant growth and mortality under climatic extremes: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 98, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.10.004>
- Ofoe, R. (2021). Signal transduction by plant heterotrimeric G-protein. In *Plant Biology* (Vol. 23, Issue 1, pp. 3–10). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/plb.13172>
- Osmond, C. (1994). What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. *Photoinhibition of Photosynthesis—from Molecular Mechanisms to the Field*, 1–24. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1570291226414214144.bib?lang=ja>
- Oxborough, K., & Baker, N. R. (1997). Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components – calculation of qP and Fv-/Fm-; without measuring Fo-. *Photosynthesis Research*, 54(2), 135–142. <https://doi.org/10.1023/A:1005936823310>
- Paszkowski, U. (2006). A journey through signaling in arbuscular mycorrhizal symbioses 2006. In *New Phytologist* (Vol. 172, Issue 1, pp. 35–46). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01840.x>
- Persson, J., & Näsholm, T. (2001). Amino acid uptake: a widespread ability among boreal forest plants. *Ecology Letters*, 4(5), 434–438. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2001.00260.x>
- Poveda, J., Abril-Urias, P., & Escobar, C. (2020). Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes by Filamentous Fungi Inducers of Resistance: *Trichoderma*, Mycorrhizal and Endophytic

- Fungi. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00992>
- Rahmstorf, S. (2002). Ocean circulation and climate during the past 120,000 years. *Nature*, 419(6903), 207–214. <https://doi.org/10.1038/nature01090>
- Rathmell, W. G., & Sequeira, L. (1974). Soluble Peroxidase in Fluid from the Intercellular Spaces of Tobacco Leaves. *Plant Physiology*, 53(2), 317–318. <https://doi.org/10.1104/pp.53.2.317>
- Roldán-Arjona, T., & Ariza, R. R. (2009). Repair and tolerance of oxidative DNA damage in plants. In *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (Vol. 681, Issues 2–3, pp. 169–179). <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.07.003>
- Rummukainen, M. (2012). Changes in climate and weather extremes in the 21st century. In *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change* (Vol. 3, Issue 2, pp. 115–129). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/wcc.160>
- Savicka, M., & Škute, N. (2010). Effects of high temperature on malondialdehyde content, superoxide production and growth changes in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Ekologija*, 56(1), 26–33. <https://doi.org/10.2478/v10055-010-0004-x>
- Saxena, B., Shukla, K., & Giri, B. (2017). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Tolerance of Salt Stress in Plants. In *Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants* (pp. 67–97). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4115-0_4
- Schöffl, F., Prändl, R., & Reindl, A. (1998). Regulation of the Heat-Shock Response. *Plant Physiology*, 117(4), 1135–1141. <https://doi.org/10.1104/pp.117.4.1135>
- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 13). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
- Silva, F. A., Maia, L. C., & Silva, F. S. B. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi as biotechnology alternative to increase concentrate of secondary metabolites in *Zea mays* L. *Revista Brasileira de Botânica*, 42(1), 189–193. <https://doi.org/10.1007/s40415-018-0508-2>
- Spatafora, J. W., Chang, Y., Benny, G. L., Lazarus, K., Smith, M. E., Berbee, M. L., Bonito, G., Corradi, N., Grigoriev, I., Gryganskyi, A., James, T. Y., O'Donnell, K., Roberson, R. W., Taylor, T. N., Uehling, J., Vilgalys, R., White, M. M., & Stajich, J. E. (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 108(5), 1028–1046. <https://doi.org/10.3852/16-042>
- Stürmer, S. L., Bever, J. D., & Morton, J. B. (2018). Biogeography of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota): a phylogenetic perspective on species distribution patterns. *Mycorrhiza*, 28(7), 587–603. <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0864-6>
- Tedersoo, L., & Bahram, M. (2019). Mycorrhizal types differ in ecophysiology and alter plant nutrition and soil processes. *Biological Reviews*, 94(5), 1857–1880. <https://doi.org/10.1111/brv.12538>
- Udvardi, M., & Poole, P. S. (2013). Transport and metabolism in legume-rhizobia symbioses. In *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 64, pp. 781–805). <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120235>

- Wang, B., & Qiu, Y. L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. In *Mycorrhiza* (Vol. 16, Issue 5, pp. 299–363). <https://doi.org/10.1007/s00572-005-0033-6>
- Welc, M., Ravnskov, S., Kieliszewska-Rokicka, B., & Larsen, J. (2010). Suppression of other soil microorganisms by mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in root-free soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(9), 1534–1540. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.05.024>
- Whiteside, M. D., Garcia, M. O., & Treseder, K. K. (2012). Amino Acid Uptake in Arbuscular Mycorrhizal Plants. *PLoS ONE*, 7(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047643>
- Xiong, L., & Zhu, J.-K. (2001). Leung and Giraudat. *Physiologia Plantarum*, 112, 152–166.
- Zaidi, A., Khan, M. S., Ahemad, M., & Oves, M. (2009). Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. In *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* (Vol. 56, Issue 3, pp. 263–284). Akademiai Kiado ZRt. <https://doi.org/10.1556/AMicr.56.2009.3.6>
- Zhao, J., Lu, Z., Wang, L., & Jin, B. (2021). Plant responses to heat stress: Physiology, transcription, noncoding rnas, and epigenetics. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 1, pp. 1–14). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22010117>
- Zhu, X., Song, F., & Xu, H. (2010). Influence of arbuscular mycorrhiza on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity of maize plants under temperature stress. *Mycorrhiza*, 20(5), 325–332. <https://doi.org/10.1007/s00572-009-0285-7>
- Ziegler, J., & Facchini, P. J. (2008). Alkaloid biosynthesis: Metabolism and trafficking. In *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 59, pp. 735–769). <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092730>

Köszönetnyilvánítás

Szeretném kifejezni a hálámat témavezetőmnek, Dr. Posta Katalinnak, aki mindvégig támogatott és segített a TDK dolgozatom elkészítésében, valamint végtelen türelemmel volt irányomban. Valamint köszönettel tartozom a munkájáért Szentpéteri Viktornak is és a Mikrobiológia és Alkalmazott Biotechnológia Tanszék további munkatársainak is, akik munkám tervezése és kivitelezése közben támogattak.