

DOKTORI ÉRTEKEZÉS



**Törzs-összehasonlító vizsgálatok és gyakorlati fejlesztések az
ördögszekér laskagomba [*Pleurotus eryngii* (DC.:Fr.) Quél.]
termesztésében**

Szarvas József



**Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar
Zöldség- és Gombatermesztési Tanszék**

Budapest

2011

A doktori iskola

<i>megnevezése:</i>	Kertészettudományi Doktori Iskola
<i>tudományága:</i>	Növénytermesztési és kertészeti tudományok
<i>vezetője:</i>	<i>Dr. Tóth Magdolna</i> egyetemi tanár, DSc. Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Gyümölcstermő Növények Tanszék
<i>témavezető:</i>	<i>Dr. Győrfi Júlia</i> habilitált egyetemi docens, PhD. Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Zöldség- és Gombatermesztési Tanszék
<i>témacsoport:</i>	Zöldségnövények és termesztető gomba témacsoport
<i>tanszék:</i>	Zöldség- és Gombatermesztési Tanszék, tanszékvezető: <i>Dr. Terbe István</i> , DSc., egyetemi tanár

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Iskolavezető jóváhagyása

.....
Témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanácsának 2011. 10. 04-i határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi Bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG

Elnöke:

Balázs Sándor, MHAS

Tagjai:

Rimóczi Imre, DSc

Hodossi Sándor, DSc

Isépy István, CSc

Erős-Honti Zsolt, PhD

Opponensek:

Szántó Mária, CSc

Kovács András, CSc

Titkár:

Erős-Honti Zsolt, PhD

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	6
1.1. CÉLKITŰZÉS	8
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	9
2.1. A <i>PLEUROTUS</i> NEMZETSÉG BEMUTATÁSA	9
2.2. A <i>P. ERYNGII</i> FAJ NEVEZÉKTANA, MORFOLÓGIAI JELLEMZÉSE	10
2.3. A <i>P. ERYNGII</i> TAXONÓMIAI PROBLÉMÁI	11
2.4. A <i>P. ERYNGII</i> ELTERJEDÉSE, GAZDANÖVÉNYKÖRE	13
2.5. MOLEKULÁRIS MÓDSZEREK A ROKONSÁGI KAPCSOLATOK TISZTÁZÁSÁRA	14
2.6. MOLEKULÁRIS VIZSGÁLATOK A VÁLTOZATOK IDENTIFIKÁCIÓJÁHOZ	16
2.7. MOLEKULÁRIS VIZSGÁLATOK DSRNS MIKOVÍRUSOK KIMUTATÁSÁRA	17
2.8. A <i>P. ERYNGII</i> FAJ ÖKOLÓGIAI JELENTŐSÉGE ÉLETTANI MEGVILÁGÍTÁSBAN	20
2.9. A <i>P. ERYNGII</i> TERMESZTÉSI VONATKOZÁSAI	20
2.10. A <i>P. ERYNGII</i> TÖRZSEK A TERMESZTÉSBEN	23
2.11. BIOLÓGIAI HATÉKONYSÁG ÉS PRODUKTIVITÁS	24
2.12. KERESKEDELMI JELENTŐSÉG	25
2.13. A FAJ BELTARTALMI ÉRTÉKEI	26
2.14. MIKROELEMÉK SZEREPE AZ EMBER TÁPLÁLKOZÁSÁBAN	27
2.15. GOMBÁK MN, ZN ÉS SE TARTALMA	29
2.16. A <i>P. ERYNGII</i> FAJ ELEM-TARTALMÁVAL KAPCSOLATOS VIZSGÁLATOK	31
2.17. <i>P. ERYNGII</i> GYÓGYHATÁSÚ ANYAGAI	32
3. A MEGOLDANDÓ FELADATOK ISMERTETÉSE.....	34
3.1. MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI VIZSGÁLATOK	34
3.2. A TERMESZTÉS GYAKORLATI ALKALMAZÁSAIHOZ KAPCSOLÓDÓ KÍSÉRLETEK	34
3.3. BELTARTALMI ÉRTÉK FOKOZÁS LEHETŐSÉGEI	34
4. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	35
4.1. TÖRZSEK BEGYŰJTÉSE, TISZTATÉNYÉSZETÜK KIALAKÍTÁSA	35
4.2. TÖRZSEK ROKONSÁGI VIZSGÁLATAI RAPD-PCR MÓDSZERREL	37
4.3. <i>P. ERYNGII</i> IZOLÁTUMOK <i>TEF1α</i> , <i>RPB2</i> SZEKVENCIAANALÍZISE	39
4.4. TÖRZSEKBE ELŐFORDULÓ DSRNS SPECIESEK VIZSGÁLATA IMMUNOBLOT MÓDSZERREL	41
4.5. <i>P. ERYNGII</i> TÖRZSEK VEGETATÍV MICÉLIUMÁNAK NÖVEKEDÉSI TESZTJEI	45
4.6. TÖRZS-ÖSSZEHASONLÍTÓ TERMESZTÉSI KÍSÉRLETEK	47
4.7. TAKARÁSRÁ VONATKOZÓ TERMESZTÉSTECHNOLÓGIAI KÍSÉRLETEK	50
4.8. MIKROELEM-DÚSULÁS VIZSGÁLATA A TERMŐTESTEKBEN	52
4.9. A SZUBSZTRÁTUM MINŐSÉGÉNEK HATÁSA AZ ÁSVÁNYI ELEM ÖSSZETÉTELRE	56
4.10. TERMESZTÉS SORÁN MEGJELENŐ KÓROKOZÓ SZERVEZETEK	59
5. EREDMÉNYEK.....	60
5.1. IZOLÁLÁSOK EREDMÉNYEI.....	60
5.2. IZOLÁTUMOK ROKONSÁGI VIZSGÁLATAINAK EREDMÉNYEI	62
5.3. <i>P. ERYNGII</i> IZOLÁTUMOK <i>TEF1α</i> , <i>RPB2</i> RÉGIÓK SZEKVENCIAANALÍZISÉNEK EREDMÉNYEI	64
5.4. DSRNS MIKOVÍRUS VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI	68
5.5. A <i>P. ERYNGII</i> TÖRZSEK VEGETATÍV NÖVEKEDÉSI TESZTJEINEK EREDMÉNYEI	69
5.6. TÖRZS-ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI.....	81
5.7. TAKARÁSRÁ VONATKOZÓ TERMESZTÉSTECHNOLÓGIAI FEJLESZTÉSEK EREDMÉNYEI	90
5.8. MIKROELEM-DÚSULÁS VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI	96
5.9. A SZUBSZTRÁTUM HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA AZ ÁSVÁNYI ELEM ÖSSZETÉTELRE	104
5.10. A KÓROKOZÓ SZERVEZETEK VIZSGÁLATAINAK EREDMÉNYEI	108
5.11. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	110
6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	112

7. ÖSSZEFOGLALÁS	115
SUMMARY	116
8. MELLÉKLETEK.....	118
M.1. FELHASZNÁLT IRODALOM.....	118
M.2. MELLÉKLETEK	133
M.2.1. Melléklet: Izolálás, törzsfenntartás és spórafelvétel készítés.....	133
M.2.2. Melléklet: RAPD-PCR gélfotók, bináris kódolás és távolságmátrix	135
M.2.3. Melléklet: <i>tef1α</i> és <i>rpb2</i> régiók szekvenciaanalízisének eredményei	138
M.2.4. Melléklet: Vegetatív növekedési tesztek.....	148
M.2.5. Melléklet: Törzs-összehasonlító termesztési kísérlet részletes dokumentációja	155
M.2.6. Melléklet: Takarás hatásának vizsgálata	200
M.2.7. Melléklet: Termesztésben megjelenő fontosabb mikoparazita és kompetitor taxonok.....	202
M.2.8. Melléklet: Mikroelem dúsulás vizsgálata	204
M.2.9. Melléklet: Különböző üzemi szintű termesztési kísérleteink fotói.....	206
M.2.10. Melléklet: Termesztési útmutató a termesztői gyakorlat számára.....	209
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	220

1. BEVEZETÉS

Az ehető gombák alacsony energiatartalmú, ugyanakkor magas beltartalmi értékkel rendelkező táplálékai az emberiségnek. Az egészséges reform és diétás táplálkozásban betöltött szerepük kiemelkedő. Mindezekon felül számos gombafaj tartalmaz különböző gyógyhatással rendelkező bioaktív komponenseket, amelyek a humán gyógyászatban mind preventív, mind kuratív célokra egyaránt használhatóak. Amíg a legtöbb ázsiai országban komoly hagyománya van a gombák fogyasztásának, hagyományos gyógyászati célú alkalmazásának, addig Európában sajnos nem élünk a gombákban rejlő lehetőségekkel. Mindezek mellett ma már egyre nagyobb érdeklődés övezi a gombák környezetvédelmi („mycorestoration”) célokra történő alkalmazását. A baktériumok, alacsonyabbrendű gombák mellett, a termesztett gombáink egyaránt részesei lehetnek a különféle környezetvédelmi problémák megoldásának.

A gombák kedvező táplálkozás-élettani hatásainak ellenére, a hazai gombafogyasztás helyzete sajnos korántsem kedvező. A fogyasztók és a termesztők is elsősorban a kétszórás csiperkegombát (*Agaricus bisporus*) részesítik előnyben, holott számos más gombafaj kínál lehetőségeket az intenzív termesztés számára. A korábban „laskatermesztő országnak” is nevezett Magyarországon a laskagomba-termesztés volumene napjainkra jelentősen lecsökkent. A „laskagomba termesztésen” ma a kései laskagomba (*Pleurotus ostreatus*) hibridek termesztését értik, azonban számos *Pleurotus*-faj ismert, amelyek termesztési vonatkozásokban mindenképpen nagyobb figyelmet érdemelnének. Ilyen perspektivikus fajnak tartom a *P. eryngii*-t (ördögszekér laskagomba), amelyet a gombák között az egyik legizletesebb, a *Pleurotus* nemzetségen belül pedig a legjobb ízű étkezési gombának tartanak. A megfelelő törzsek szelekciójával, keresztezésével és a termesztéstechnológia helyes megválasztásával, akár felülmúlható a kései laskagombánál felső határnak számító, átlagosan 20 kg/100 kg termésmennyiség. Egyedülálló érzékszervi tulajdonságaival az ördögszekér laskagomba faj kiváló lehetőségeket rejt magában friss piaci formában és feldolgozott gombatermék-ként (szárítmány, konzervipari termékek stb.) egyaránt.

A *P. eryngii* faj taxonómiai vonatkozásai kapcsán, ma „fajkomplex”-ről beszélnek, és az ebbe tartozó taxonok tagjainak rendszertani helyzete, rokonsági viszonyai, filogenetikai kérdései még tisztázatlanok. Sok ellentmondás van a faj, pontosabban az ernyős virágzatú növények társaságában megjelenő *P. eryngii* fajkomplex populációinak taxonómiailag helyes megítélésében. A *P. eryngii sensu lato* a *Pleurotus* nemzetségen belül az egyedüli taxon, amely természetes élőhelyén fakultatív biotrófként, elsősorban az *Apiaceae*, ritkábban a *Compositae* növény családok bizonyos fajaiival asszociáltan fordul elő. A növények gyökerén és szárán, mint gyenge parazita,

illetve mint szaprobiontot, fehérkorhasztásra képes gomba fordul elő, azonban lényeges, hogy intenzív termesztés esetén nem igényli ezeknek a növényi tápanyagforrásoknak a jelenlétét.

A világon először hazánkban, az 1950-es években kezdődtek a fajjal kapcsolatos termesztési kísérletek, de a benne rejlő lehetőségek ellenére megfeledkeztünk a fajról. Mára a jelentősebb ördögsekér laskagomba termesztéssel is foglalkozó országok Japán, Kína, Korea és Európában Olaszország. A termesztés fejlesztéseinek irányai elsősorban az optimális táptalaj kidolgozása, megfelelő agrotechnikai módszerek kiválasztása és a termesztés környezeti körülményeinek törzsspecifikus – reményeim szerint későbbiekben fajtaspecifikus – megválasztása. A cél – a jó minőségű termés előállítása mellett – a jelenlegi termesztési gyakorlatban tapasztalt kis biológiai hatékonyság helyett, nagyobb biológiai hatékonyság (Biological Efficiency, BE%) elérése. A fenti országokban használt alapanyag-összetétel, termesztés-technológia gyakran nem biztosítja a legmagasabb terméskihozataalt, a magyarországi termesztés megkezdéséhez pedig szükség van a hazai alapanyagokra (mezőgazdasági, erdészeti hulladékok, melléktermékek) adaptált termesztéstechnológia kidolgozására.

Természetes élőhelyén számos gomba képes mikroelemeket (fémeket) felhalmozni vagy akkumulálni, így ezt kihasználva, lehetőség kínálkozik intenzív módszerekkel termesztett fajok esetén, céltudatosan a fogyasztók számára esszenciális mikroelemekben gazdag, funkcionális élelmiszertermék előállítására. Véleményem szerint pusztán az alapanyag megválasztása is lehetőséget biztosíthat bizonyos beltartalmi értékek – meghatározott korlátok melletti – fokozására.

A *Pleurotus*-fajok közül, kutatási munkámban elsősorban az ördögsekér laskagomba (*P. eryngii*) fajban rejlő termesztési lehetőségekre kívánok fókuszálni. A disszertációt tartalmi szempontból három részre kívánom felosztani. Az első részben molekuláris biológiai vizsgálatok segítségével szeretnék képet kapni, a rendelkezésemre álló izolátumok rokonsági kapcsolatairól, továbbá arról, hogy az izolátumok tartalmazznak-e mikovírusokra utaló dsRNS specieseket. A dolgozat második tartalmi részében a faj hazai termesztési vonatkozásait vizsgálom, amellyel adatokat kívánok szolgáltatni a termesztési gyakorlat számára. A harmadik tartalmi egységben a faj beltartalmi értékeinek fokozási lehetőségeit tanulmányozom, funkcionális élelmiszer előállítása céljából. Képet szeretnék továbbá kapni a termesztési alapanyag és a termőtestek ásványi elem tartalma közötti összefüggésekről. A dolgozat végén a saját és az irodalmi adatokra épülő termesztési összefoglalót adok közre a termesztői gyakorlat számára.

Bízom benne, hogy mind az alapkutatás, mind a gyakorlati vonatkozások terén is hasznosíthatóak lesznek a disszertációmban foglalt eredmények.

1.1. CÉLKITŰZÉS

A vonatkozó szakirodalom kritikai elemzése alapján az alábbi fő célkitűzéseket teszem:

- RAPD módszer segítségével képet kapjak a saját *P. eryngii* izolátumok rokonsági kapcsolatairól, továbbá két gén meghatározott régiójának szekvencia analízisével keressem a varietas szintű identifikáció lehetőségét.
- Kiderítsem, hogy az izolátumokban előfordulnak-e mikovírus fertőzésre utaló dsRNS molekulák.
- Eredményeket kapjak a rendelkezésemre álló törzsek *in vitro* vegetatív növekedési jellemzőiről, valamint termesztési tulajdonságairól.
- Megalapozzam a faj hazai termesztési gyakorlathoz történő adaptálását, és képet kapjak a biológiai hatékonyság fokozásának termesztési lehetőségeiről.
- Képet kapjak arról, hogy van-e lehetőség a termesztett gomba beltartalmi értékeinek fokozására, az alapanyag összetételének változtatása, valamint a szubsztrátumhoz kevert elemek adagolása révén.
- Tisztázom a takaró föld termésmennyiségre gyakorolt hatását, továbbá az ásványos táplálkozásban, vízforgalomban betöltött szerepét.
- A faj hazai termesztésének előmozdítása érdekében, a saját eredményeim és az irodalmi adatok alapján, olyan termesztési útmutató összeállítása, amelyet a hazai termesztők sikeresen használhatnak.

Mottó:

“Végtelen számú kísérlet sem bizonyíthatja, hogy igazam van, de egyetlen kísérlet is bizonyíthatja, hogy tévedtem.”

(Albert Einstein)

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A *PLEUROTUS* NEMZETSÉG BEMUTATÁSA

A laskagombák a *Fungi* országba, a *Dicarya* alországba, a *Basidiomycota* törzsbe, az *Agaricomycotina* altörzsbe, az *Agaricomycetes* osztályba, az *Agaricomycetidae* alosztályba, az *Agaricales* rendbe és a *Pleurotaceae* családba tartoznak. A *Pleurotus* (Fr.) Quel. nemzetség típusfaja a *Pleurotus ostreatus* (Jacq. et Fr.) Kummer. A *Pleurotus* név etimológiája: pleura (görög) = oldalt; ours, otos (görög) = fül.

A *Pleurotus* genus számos ehető gombafajt foglal magába. Ezek kiváló ízükről, viszonylag olcsó és egyszerű termesztési módszereikről ismertek. A laskagombák (*Pleurotus* spp.) termesztése a világ gombatermelésének 15%-át teszi ki, így a kétspórás csiperkegomba (*Agaricus bisporus*) és shii-take (*Lentinula edodes*) után a harmadik helyet foglalja el (RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

A *Pleurotus* genusba tartozó taxonok faji szintű identifikációja sokszor nehézségbe ütközik, mivel a termőtestek morfológiája és színe a környezeti feltételektől függően jelentős változatosságot mutat. Fontos mikromorfológiai bélyeg a spóra mérete, azonban ez a fajok között átfedhet, megnehezítve ezzel a spóraméret alapján történő elkülönítést. A kereskedelmi forgalomban lévő gombatörzsek, -izolátumok elnevezése szintén hozzájárul a taxonok nevezéktani „zűrzavarához” (RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

Az 1970-es évektől alkalmazzák az ún. *mating* vagy párosodási teszteket (interkompatibilitás) a *Pleurotus* genuson belül, a különböző biológiai fajok közötti határok tisztázására. A reprodukív barriereket okozhatnak teljes vagy részleges inkompatibilitást, amelyek a *P. eryngii* és más taxonok esetében is jól dokumentáltak. A fajokat 15 intersterilitási csoportba sorolják, melyek közül a *P. eryngii* a VI. intersterilitási csoportba tartozik (a *P. ferulae*, *P. nebrodensis*, *P. hadamardii*, *P. fossulatus* rokon, sok esetben bizonytalan faji minősítésű taxonokkal együtt).

Máig hozzávetőlegesen 51 *Pleurotus*-fajt tartanak nyilván. Az Index Fungorum alapján (internetes hivatkozás 1.), a világon eddig összesen 746 *Pleurotus* taxont írtak le, jelenleg 51 *Pleurotus* taxon érvényes (HAJDÚ, 2008).

A molekuláris vizsgálatok használata az elmúlt 15 évben elvezetett ahhoz, hogy jobban megértsük a *Pleurotus* genus és más bazídiumos gombák faji minősítésű egységeit, genetikai változatait, valamint filogenetikai kapcsolatait. Az interspecifikus és intraspecifikus kapcsolatokat RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) markerekkel és a DNS különböző régióinak szekvencia analízisével vizsgálták, mind a nukleáris, mind pedig az extrakromoszómális örökítő

anyagban (VILGALYS & SUN, 1994; ZERVAKIS et al., 1994; GONZALES & LABARERE, 2000; ZERVAKIS et al., 2004; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008). VILGALYS & SUN 1994-ben a nagy riboszómális alegység rDNS szekvenciája alapján rokonsági kapcsolatokat bemutató fát állított föl a különböző *Pleurotus* intersterilitási csoportok esetén.

A morfológiai, interkompatibilitási, biokémiai, élettani, molekuláris biológiai és filogenetikai adatok segítségével lehetővé vált, hogy jobban megértsük a faji szintű, valamint a faj alatti kategóriákat, felderítsük a faji minősítésű és faj alatti taxonok rokonsági kapcsolatait, és képet kapjunk a csoport evolúciós vonatkozásairól. A napjainkban zajló intenzív módszertani, molekuláris biológiai fejlődés ellenére még mindig sok a megválaszolatlan kérdés, amelyekre a jövő kutatásai fogják megadni a választ.

2.2. A *P. ERYNGII* FAJ NEVEZÉKTANA, MORFOLÓGIAI JELLEMZÉSE

A *P. eryngii* (De Candolle ex Fries) Quelet *sensu lato* országoként különböző neveken ismert: „the king oyster mushroom” (Egyesült Államok), „seta de cardo” (Spanyolország), „cardoncello” (Olaszország), „kruisdisteloesterzwam” vagy „krauterseitling” (Németország) és „Pleorote du Panicaut” (Franciaország). Egyéb gyakori elnevezések az „argonane”, „bouligoule”, „champignon de garrigue” és „Boletus of the steppes”, „King Trumpet Mushroom” (STAMETS, 2000; RODRIGUEZ ESTRADA, 2005; RODRIGUEZ ESTRADA & ROYSE, 2005; OEI, 2006). A *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél. szinonim nevei az Index Fungorum (2011) alapján: *Agaricus eryngii* (DC.), *Dendrosarcus eryngii* (DC.) Kuntze, *Pleurotus fuscus* Battarra ex Bres. (internetes hivatkozás 1.).

Leírás:

Kalap: (3-)5-15 cm átmérőjű; kezdetben domború, majd ellaposodik, végül kissé tölcsérformájú lesz; széle fiatalon begöngyölt, majd kiegyenesedik, és hullámossá válik; szürkésbarna, kávébarnás ritkán piszkosfehéres; felülete fiatalon kissé nemezes, majd csupasszá válik, vagy ritkán benőtten sugarasan szálas (ALBERT et al., 1995).

Tönk: 3-10 cm hosszú, 1-3 cm vastag, oldaltálló vagy többé-kevésbé központi helyzetű; gyakran gyökerező; színe fehéres (ALBERT et al., 1995). A tönk is fogyasztható. Termesztésben gyakori a kis kalap és a hasas tönk.

Lemezek: Mélyen lefutók, egymástól viszonylag távol állnak, gyakran elágazók. Fiatalon fehéresek, krémszínűek, idővel többé-kevésbé megszürkülnek (ALBERT et al., 1995).

Spórák: Átlagos méretük: $10-14 \times 4-5 \mu\text{m}$ (STAMETS, 2000). Néhány változat esetében közölt spóraméretetek: var. *elaeoselini* $10,1-14,0 \times 5,2-7,1 \mu\text{m}$; *nebrodensis* $13,2-17,4 \times 5,5-8,2 \mu\text{m}$ (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983; VENTURELLA et al., 2000; ZERVAKIS et al., 2001a; ZERVAKIS et al., 2001b). A spórapor színe: fehér.

Termőhely: Hazánkban legelőn, réten, kertben, többnyire ernyős virágzatú növények közelében, azok gyökerein, szárán nő (SZILI, 1994; ALBERT et al., 1995). Ritkán erdei füves tisztásokon, dombvidékeken is megtalálható. A termőtestek önállóan vagy csoportosan fejlődnek; a természetésre az utóbbi jellemző. A faj a nevét a mezei iringóról (*Eryngium campestre*) kapta, amelynek hajtásai letörve, majd ördögszekérként gurulva szórják a magvaikat. Termesztési körülmények között, konkuráló szervezetek nélkül más, dúsított lignocellulóz alapanyagon is jól fejlődik, nem igényli a természetben előforduló ernyős virágzatú növények jelenlétét. Hazánkban viszonylag gyakori, hidegtűrő, májustól decemberig termő, de dominánsan őszi faj, főként októbertől decemberig gyűjthető (SZILI, 1994; ALBERT et al., 1995). A fajnak több változata ismert, amelyekről a következőkben még lesz szó. A különböző *P. eryngii* var. *eryngii* törzsek, valamint az egyes változatok keresztezésével új, a gombaipar számára alkalmas hibridek előállítására van lehetőség. A gomba rendkívül jó ízű, más laskagomba-fajok ízét is felülmúlja.

2.3. A *P. ERYNGII* TAXONÓMIAI PROBLÉMÁI

A *P. eryngii* (De Candolle ex Fries) Quelet *sensu lato* taxonhoz kapcsolódó, bizonytalan taxonómiai minősítésű csoportok miatt bevezették az ún. „fajkomplex” koncepciót, amely mára széles körben elterjedt az olyan közelrokon fajok esetében, amelyek teljesen vagy részlegesen interkompatibilisek, és amelyek egy adott intersterilitási csoporthoz tartoznak. A *Pleurotus*-fajok között több fajkomplex felállítását is javasolták (ZERVAKIS et al., 2001a; BAO et al., 2004; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

Eredetileg Quelet, Lanzi és Inzenga ismerték föl, hogy a *P. eryngii* (*Agaricus eryngii* - 1815), *P. ferulae* (*A. ferulae* - 1873) és a *P. nebrodensis* (*A. nebrodensis* - 1863) külön fajok (CANDUSSO & BASSO, 1995). A párosodási vizsgálatok képezték tanulmányozásuk alapjait, amelyekkel kimutatták az interkompatibilitás bizonyos mértékét e három csoport között, támogatva a mikológusok azon javaslatát, miszerint e három csoport tagjai egy különálló biológiai fajhoz tartozzanak (LAMOURE, 1981; ZERVAKIS & BALIS, 1996). Másrészt URBANELLI és munkatársai (2002) genetikai és ökológiai megfigyeléseik alapján javasolták, hogy a *P. eryngii* var. *eryngii* és a *P. eryngii* var. *ferulae* két különböző biológiai faji minősítést kapjon (RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

Szintén újabb kutatásokra alapozva, molekuláris, kvalitatív és morfológiai jellegzetességek alapján javasolták, hogy a *P. eryngii* var. *nebrodensis*-nek fajsztűnek kellene lennie (VENTURELLA, 2000; ZERVAKIS et al., 2001a,b; DE GIOIA et al., 2005). A kutatás molekuláris és minőségi (termőtest színe, textúrája, szemcsék jelenléte stb.) jellemzőket vett figyelembe, amelynek eredményeképpen javasolták, hogy a *P. eryngii* var. *nebrodensis* taxont emeljék faji szintre (VENTURELLA, 2000; ZERVAKIS et al., 2001a; DE GIOIA et al., 2005).

Néhány morfológiai jellegzetesség hasznos lehet ezen fajkomplex tagjainak megkülönböztetéséhez (RODRIGUEZ ESTRADA nyomán, 2008):

- A vad *P. eryngii* var. *eryngii*-re jellemző a viszonylag rövid tönk ($2-4 \times 1-3$ cm) és a gyakran barna színű kalap.
- A *P. eryngii* var. *ferulae* nagyobb méretű tönkkel rendelkezik ($3-10 \times 1-4$ cm), mint a var. *eryngii* és a kalap színe mindig barna. A var. *ferulae* kalapja szintén nagyobb (6–25 cm), mint a var. *eryngii*-é (5–15 cm) (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983; ZERVAKIS & BALIS, 1996; URBANELLI et al., 2002).
- A *P. eryngii* var. *elaeoselini* kalapjának átmérője 5-14 cm, színe fehérestől a halvány krémszínűig terjed. A tönk mérete $4-7,5 \times 1,2-2,8$ cm. A spórák ($10,1-14,0 \times 5,2-7,1$ μ m) alig nagyobb méretűek, mint a var. *eryngii* és *ferulae* spórái. (VENTURELLA et al., 2000; ZERVAKIS et al., 2001a,b).
- A *P. eryngii* var. *nebrodensis* jellemzően fehér, krémszínű, lemezei mélyen tönkre lefutók és egyesülnek a tönkön, a spórák nagyobb méretűek $13,2-17,4 \times 5,5-8,2$ μ m (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983; ZERVAKIS et al., 2001a,b).

A *P. eryngii* var. *elaeoselini* változatot VENTURELLA és munkatársai írták le 2000-ben. Ez a változat makroszkopikus, morfológiai jellemzőiben hasonlít a var. *nebrodensis* változatra, azonban mikroszkopikus jellemzőikben (spórák, cheilocystida) és ökológiai vonatkozásaikban különböznek egymástól. Az *elaeoselini* változat az *Elaeoselinum asclepium* subsp. *asclepium*-mal együtt jelenik meg, míg a *nebrodensis* változat az *Opopanax chironium*-mal és *Cachrys ferulacea*-vel él együtt (VENTURELLA et al., 2000). E két változat azonosításának félreérthetősége az *A. nebrodensis* első Olaszországban történő leírására vezethető vissza. VENTURELLA és munkatársainak (2000) megállapítása szerint ez a *P. eryngii* var. *elaeoselini* példány az Inzenga által, 1863-ban leírt *A. nebrodensis* taxon tagjának tekinthető.

LEWINSOHN és munkatársai (2002) leírtak egy új változatot: *P. eryngii* var. *tingitanus*, amely az izraeli *Ferula tingitana*-val együtt fordul elő. A *P. hadamardii* és *P. fossulatus* bizonytalan

helyzetű taxonok, kétségbe vonható érvényességű taxonómiai nevekkal, ugyanis feltételezik, hogy a *P. eryngii* var. *elaeoselini* és var. *nebrodensis* téves identifikációjának eredményeképpen jelentek meg (ZERVAKIS et al., 2001 a,b; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

A *P. eryngii* fajkomplexbbe tartozó csoportok rendszertani pozíciója, valamint az evolúciós, rokonsági viszonyaik még ma sem tisztázottak, annak ellenére, hogy több szerző foglalkozott már a kérdéssel. Mindezek ellenére a taxonómiai, filogenetikai, speciációs kérdések még ma sem lezártak. A jelenlegi ismereteink alapján a következőket állapíthatjuk meg. A *P. eryngii* fajkomplexum több változatot és fajt foglal magába, amelyek (jelenleg) a következők: var. *eryngii* (DC.: Fr) Quel.; var. *ferulae* Lanzi /syn.: *P. fuscus* var. *ferulae*/; var. *elaeoselini* Venturella et al.; var. *nebrodensis* (Inzenga) Sacc.; var. *tingitanus* Lewinsohn et al.; var. *tuoliensis* C. J. Mou; *P. hadamardii* Constantin; *P. fossulatus* (Cooke Sacc.) (CANDUSSO & BASSO, 1995; VENTURELLA, 2000; ZERVAKIS et al., 2001a,b; LEWINSOHN et al., 2002; KAWAI et al., 2008; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008; RODRIGUEZ ESTRADA et al., 2010).

A vad *P. eryngii* var. *nebrodensis* ritkán fordul elő a természetben, mégis gyűjtik, és friss állapotban értékesítik Észak-Szicíliában. 2006-ban a Természetvédelmi Világszövetség (World Conservation Union) a kritikusan veszélyeztetett fajok (Critically Endangered - CR) közé sorolta a fajt, és felvették a veszélyeztetett fajok vörös listájára (*internetes hivatkozás 2.*).

Összefoglalva elmondható, hogy sok ellentmondás van a faj, pontosabban a *P. eryngii* fajkomplex populációinak taxonómiai helyes megítélésében (HILBER, 1989). Több kutató a legtöbb vagy az összes ökotípust külön fajnak tekinti (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983; JOLY et al., 1990), egyesek változatnak tartják (HILBER, 1982; BRESINSKY et al., 1987), míg mások a két álláspont között foglalnak állást. A taxonómiai viták végére átfogó molekuláris biológiai, speciációs és koevolúciós kutatások tehetnek pontot.

2.4. A *P. ERYNGII* ELTERJEDÉSE, GAZDANÖVÉNYKÖRE

A *P. eryngii* fajkomplex földrajzi és ökológiai eloszlása meglehetősen változatos. Az erna virágzatúakkal asszociált *Pleurotus*-fajok az északi félgömbön helyezkednek el a 30. és 50. szélességi fok között (ZERVAKIS & BALIS, 1996). Ezek a fajok elsősorban a Földközi-tenger szubtrópusi régióiban találhatók, ezen kívül Közép-Európában, Oroszországban, Ukrajnában, Közép-Ázsiában és Iránban. A *P. eryngii* megtalálható a sztyeppéken, a száraz mezőkön, sőt akár a hegyvidéki zónákban is. A *P. eryngii* fajkomplex egyedülálló a nemzetségen belül, mert fakultatív biotrófként növekedik az *Apiaceae* (*Umbelliferae*) család számos fáján (többek között *Eryngium campestre*, *E. maritimum*, *E. alpinum*, *E. moroccanum*, *E. planum*, *Ferula communis*, *F. sinkiangensis*, *Laserpitium latifolium*, *L. siler*, *Elaeoselinum asclepium*, *Thapsia garganica*,

Cachrys ferulacea), valamint az *Asteraceae* (*Compositae*) család bizonyos fajain (ZADRAZIL, 1974; ZERVAKIS & BALIS, 1996; ZERVAKIS et al., 2001a,b; LEWINSOHN et al., 2002; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

A *P. eryngii* var. *eryngii* általában az *Eryngium* ssp. tagjaival fordul elő, a *P. eryngii* var. *ferulae* a *Ferula* spp. gyökerein növekszik a Földközi-tengert övező mediterrán területeken és Közép-Európában. A *P. eryngii* var. *nebrodensis* általában a *Cachrys*-fajokkal együtt található meg Európában és Ázsiában szubalpesi zónák 1200–2000 m magasságában. Szintén megtalálták Kínában a *Ferula sinkiangensis*-szel asszociáltan (BOISSELIER-DUBAYLE & BAUDOUIN, 1986; ZERVAKIS et al., 2001a,b; ZHANG et al., 2005).

Összességében megjegyezhető, hogy több jellemző (termőtest morfológiája, a gazdakör stb.) átfedhet a taxonok között, ami az identifikációt jelentősen megnehezíti (ZHANG et al., 2006).

2.5. MOLEKULÁRIS MÓDSZEREK A ROKONSÁGI KAPCSOLATOK TISZTÁZÁSÁRA

A nukleinsav-vizsgálati módszerek még nem tartoznak a gombataxonómia mindennapos laboratóriumi gyakorlathoz, azonban a jövő rendszertani, filogenetikai kutatásaiban egyre szélesebb körben fognak elterjedni (SZÉCSI et al., 2003). Természetesen a morfológiai bélyegek szerepe az identifikációban továbbra is szükséges marad. A molekuláris módszerek használata számos esetben vezetett új rendszertani felismerésekhez (fajokat vontak össze, új fajokat azonosítottak, nemzetségeket bontottak szét stb.). A valós rokonsági viszonyok alapján történő, filogenetikai összefüggéseket tükröző rendszerek megszületése a molekuláris jellemzőkre épülő numerikus taxonómiai eljárások eredménye (SZÉCSI et al., 2003).

RAPD (Random amplifikált polimorf DNS)

A RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) módszerrel a genom ismeretlen DNS szekvenciáit lehet amplifikálni egy vagy két, 10 nukleotidból álló (dekamer) random primerrel. Az amplifikáció kiindulását képező primer(ek) a genomon véletlenszerűen hibridizál(nak) a komplementer szekvenciával. Alapvető különbség a RAPD és a többi DNS vizsgálati módszer között, hogy a RAPD analízishez nem kell ismernünk azokat a DNS szakaszokat, lókuszokat, amelyeknek a polimorfizmusát vizsgáljuk. A módszer hátránya, hogy gélen a RAPD-mintázat kevésbé jól reprodukálható. A gélen primerenként változó számú (maximum 10) és méretű (néhány 100 bp - 2000 bp) fragmentumokat látunk. A fragmentumok méretét a mintákkal együtt futtatott DNS-markerek segítségével állapítjuk meg (HAJÓSNÉ, 1999). Munkám során az egyes izolátumok RAPD-PCR mintázataiból kívántam rokonsági kapcsolatokat tükröző fát rekonstruálni.

A molekuláris biológiai módszerek kiértékelése során legáltalánosabban használt módszer az átlagos súlyozatlan párosításos módszer (Unweighed Pair Group Method with Averages, UPGMA), amelyről matematikai eljárásokkal bebizonyították, hogy a taxonómiai struktúrák leírására a legalkalmasabb módszer. A módszer két csoport halmazában a csoportokat alkotó valamennyi egyed közötti távolságot kiszámítja, és ezek átlagát jeleníti meg, mint a két csoport közötti távolságot. A korszerű programcsomagok (pl. PHYLO, PHYLIP) mind azonos elven működnek, azaz a leghasonlóbb egységeket párokba, majd klaszterekbe (csokrokba) gyűjtik. A gyűjtés során a klaszterek egyre gyarapodnak, túlnövik magukat és ekkor alcsokokra bomlanak, végül egy fenogram (dendrogram) vagy törzsfa képében lehet ábrázolni a rokonsági viszonyokat (SZÉCSI et al., 2003).

Ezt a „csokrosítva csoportosítást” klaszter analízisnek nevezik. Hogy a fenogram mennyire valósághűen tükrözi vissza a hasonlósági mátrix adatait, arra a kofenetikus korrelációs analízis révén kaphatunk választ. Ennek során a fenogram alapján a számítógép leképez egy hasonlósági mátrixot, majd ezt összeveti az eredeti hasonlósági mátrix-szal. A koefficiens értéke 1 (teljes egyezés) és -1 (fordított arányosság) között változik, 0 esetén az összefüggés véletlenszerű.

A filogenetikai taxonómia által alkalmazott egyik módszer a „maximális takarékoság” alapuló besorolás (Maximum Parsimony). Ennek során azt a fenogramot tekintik a legjobbnak, melynél a teljes fahossz (az ágak hosszának az összege) a legkisebb, tehát a létrehozásához a legkevesebb evolúciós lépés szükséges. Ilyen evolúciós változás, pl. nukleotidcsere, restrikciós felismerőhelyek elvesztése. A megfelelő törzsfa kiválasztása után a módszer meghatározza az ősi formát, és az ágak hosszára is megad egy közelítő értéket. A módszer hátránya, hogy minőségi jellemzőkre nem használható, valamint, hogy távoli rokon taxonok esetében félrevezető eredményeket ad. A maximális valószínűsége (Maximum Likelihood) alapuló módszer hasonlóan az előzőhöz, elsősorban a szekvencia-adatok analízisére szolgál. Az elemzés során azt a törzsfát tekinti a módszer a legjobbnak, mely esetében az észlelt nukleotidcserék a legnagyobb valószínűséggel következnek be (SZÉCSI et al., 2003).

A taxonómiában központi fontosságú a leszármazási (evolúciós), rokonsági viszonyok vizsgálata, az evolúciós utak rekonstruálása. A leszármazási mintázatokat kereső metodológiát kladisztika néven foglaljuk össze, ahol a leszármazási viszonyok, fa-gráfok formájában ábrázolhatók („tree thinking”). Manapság a kladisztikai programcsomagok „piacát” négy program uralja, mert ezek adják a legtöbb lehetőséget a kladisztikai adatelemzésre (*1. táblázat*).

1. táblázat. A négy legfontosabb programcsomag (PODANI, 1997 nyomán).

Módszer	PHYLIP	PAUP	HENNIG	MacClade
Saitou – Nei szomszéd összevonó	+			
Fitch – Margoliash	+			
Wagner távolság			+	
Rendezetlen kar. parszimónia (pl. DNS)	+	+	+	+
Wagner parszimónia	+	+	+	+
Dollo parszimónia	+	+		+
Sztratiográfiai parszimónia				+
Camin-Sokal parszimónia		+		
„Branch and bound”	+	+	+	
Invariánsok módszere	+	+		
Maximum likelihood	+			
Karakter kompatibilitás	+			

A PHYLIP programcsomag (FELSENSTEIN, 1993; FELSENSTEIN, 1995) mellett szól a sok opció, és a forrásnyelvi, valamint a futtatható változatok ingyenessége és sokfélesége, míg ellene, a viszonylagos lassúságot hozzák föl legtöbbször (SANDERSON, 1990; PODANI, 1997). A disszertációban a molekuláris információn alapuló törzsfa-szerkesztést a PHYLIP programcsomag (internetes hivatkozás 3.) segítségével végeztük el.

2.6. MOLEKULÁRIS VIZSGÁLATOK A VÁLTOZATOK IDENTIFIKÁCIÓJÁHOZ

Korábban már ismertetésre került, hogy a *P. eryngii* fajkomplexum számos változatot és néhány bizonytalan faji minősítésű taxont foglal magában. Ezekben közös, hogy természetes élőhelyükön legtöbbször *Apiaceae* (*Umbelliferae*) és *Asteraceae* (*Compositae*) növénycsaládok bizonyos fajaival asszociáltnak, fakultatív biotrófként vagy elhalt növényi anyagaikon fehérkorhasztóként jelennek meg (CANDUSSO & BASSO, 1995; VENTURELLA, 2000; ZERVAKIS et al., 2001a,b; LEWINSOHN et al., 2002; KAWAI et al., 2008; SINGH et al., 2011).

Az egyes taxonok identifikációjához hagyományosan használt klasszikus, zömében mikro- és makromorfológiai bélyegeket elfedhetik a gombára gyakorolt környezeti hatások, így az identifikáció gyakran komoly nehézségekbe ütközik. A taxonómusok a megoldást gyakran a nukleinsavak vizsgálatában látják. A gombák között legismertebb, leggyakrabban vizsgált terület, a riboszómális génklaszterben található ITS (Internal Transcribed Spacer) régió. A *P. eryngii* esetében ezt a lókuszt, továbbá egy részleges β -tubulin gént vizsgáltak abból a célból, hogy föltárják a filogenetikai kapcsolatokat a *P. eryngii* fajkomplex tagjai között. Sajnos egyik régió sem mutatott megfelelő variabilitást ahhoz, hogy filogenetikai vizsgálatokhoz vagy a változatok differenciálására lehessen használni (RO et al., 2007b.; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008; RODRIGUEZ ESTRADA & ROYSE, 2008; RODRIGUEZ ESTRADA et al., 2010).

A transláció elongációs faktort (EF1 α) és az RNS-polimeráz II második legnagyobb alegységét kódoló gének (*rpb2*) meghatározott régióit alkalmasnak vélik molekuláris filogenetikai vizsgálatokra és a varietas szintű identifikáció céljaira (LIU et al., 1999; ROGER et al., 1999; MATHENY et al., 2002; MATHENY, 2005; MATHENY, 2006 - *internetes hivatkozás 4.*; RO et al., 2007b; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008; RODRIGUEZ ESTRADA et al., 2010). Az EF1 α egy kötő fehérje, amely riboszomális fehérjeszintézishez szükséges az eukarióta sejtekben. MARONGIU és munkatársai (2005) arról számoltak be, hogy az EF1 α génje (*tefl α*) nukleotid szubsztitúciókat tartalmaz, amelyek hasznosak lehetnek az *eryngii* és *ferulae* két változatának elkülönítésében.

Az *rpb2* gén 12 erősen konzervált doménnel rendelkezik, melyek megfelelő primer feltapadási helyek lehetnek a PCR során. Az *rpb2* gént (más genomi régiókkal) *Cortinarius* és *Inocybe* genus-ok fajainak identifikációjában is használták (FROSLEV et al., 2005; MATHENY, 2005). Munkánk során a saját izolátumainkon az utóbbi két lókus szekvenciájának polimorfizmusait kívántuk megvizsgálni.

2.7. MOLEKULÁRIS VIZSGÁLATOK dsRNS MIKOVÍRUSOK KIMUTATÁSÁRA

A gombasejtek az organelum DNS-eken kívül egyéb extrakromoszómális elemeket is tartalmazhatnak. A gombák egyes csoportjaiban, fajaiban cirkuláris, vagy lineáris kettősszálú DNS plazmidok, lineáris kettősszálú RNS „plazmidok”, mikovírusok, vagy vírusszerű partikulumok (Virus-Like Particles – VLP) találhatók (KEVEI et al., 1999).

A gombák vírusai a mikovírusok. Számos gombataxon esetében leírtak már mikovírusokat, amelyek gyakran csak látens formában (tünetmentesen) vannak jelen a gombában (BUCK, 1986), de léteznek olyanok is, amelyek jelentős változást idéznek elő a gazdában. Az irodalomban találkozhatunk még a VLP elnevezéssel is, ami azt jelenti, hogy a gombasejtekben jellegzetes, szabályos vírusfelépítéshez hasonló, vírusszerű részecskék láthatók. Természetesen ezek a VLP-k nem mindig figyelhetők meg a vírussal fertőzött sejtekben. Mivel a vírus nukleinsav gyakran nem okoz tüneteket, és sokszor nem is enkapszidálódik, így a mikovírusok detektálásának legbiztosabb módja az átvihető vírusnukleinsavak – leggyakrabban dsRNS – kimutatása.

A mikovírusok többsége dsRNS örökítőanyaggal rendelkezik (GHABRIAL, 1998; GHABRIAL & SUZUKI, 2009), és jellemző rájuk, hogy hiányzik az extracelluláris fertőzési út. Ezek vagy proteinnel enkapszidálódnak, és így 20-50 nm-es virionokat képeznek (BUCK, 1986), vagy membránvezikulumokkal asszociáltak (NUSS & KOLTIN, 1990).

Egy-két évtizeddel ezelőtt a mikovírus-kutatásokban az elektronmikroszkópos eljárások voltak elterjedtek, majd ezt követően jelentek meg a gélelektroforetikus módszerek. Ez utóbbi esetben már az etídium-bromiddal festett gélekben megjelenő, meghatározott méretű RNS fragmensek vírusra jellemző mintázatát vizsgálták (SONNENBERG et al., 1995). A vírusnukleinsavak száma és mérete adott mikovírusra specifikus lehet. A dsRNS molekulák kimutatását még érzékenyebbé lehet tenni az ún. *immunoblot* módszer egy speciális alkalmazásával. Az immunoblot elve, hogy a dsRNS nukleinsavakat nem denaturáló körülmények között pozitív töltésű membránra blotolják, és specifikusan a dsRNS-eket mutatják ki monoklonális ellenanyagok segítségével (SCHÖNBORN et al., 1991; LUKÁCS, 1994). Mindezek mellett, amennyiben rendelkezünk szekvenciaadatokkal a vírusnukleinsavról, úgy lehetőség van vírusspecifikus primerek segítségével RT-PCR alapú víruskimutatásra is. Amennyiben a virion izolálható a gombából és rendelkezünk vírusellenes ellenanyaggal, úgy lehetőség van az adott vírust szerológiai, immunológiai módszerekkel is detektálni. A legelterjedtebbek az ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) alapú módszerek (pl. TAS-ELISA – Triple Antibody Sandwich ELISA stb.) Természetesen ezeken kívül még más módszerek is ismertek a vírusok kimutatására.

A mikovírusok horizontálisan hifaanasztomózisokkal (szomato- vagy citogámiával) fertőzésszerűen képesek terjedni (SONNENBERG & VAN GRIENSVEN, 1991; IHRMARK et al., 2002). Amennyiben a spórákban is megjelennek, akkor spóraszórást követő anasztomózisok révén is képesek egészséges kultúrákat fertőzni (IHRMARK et al., 2002; CHU et al., 2003). A mikovírusok osztályozását, jellegzetességeit a 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat. Mikovírusok taxonómiai csoportjai (ICTV* alapján).

Familia	Genus	Nukleinsav	Morfológia	Gazda
<i>Totiviridae</i>	<i>Totivirus</i>	dsRNS (4-7 kb)	izometrikus virion	gomba
<i>Partitiviridae</i>	<i>Partitivirus</i>	dsRNS (2-3 kb)	izometrikus virion	gomba
<i>Chrysoviridae</i>	<i>Chrysovirus</i>	dsRNS (3-3,6 kb)	izometrikus virion	gomba
<i>Hypoviridae</i>	<i>Hypovirus</i>	dsRNS (9-13 kb)	citoplazmatikus vezikulum	gomba
-	<i>Endornavirus</i>	dsRNS (14-18 kb)	citoplazmatikus vezikulum	növény, gomba, Protista
<i>Naraviridae</i>	<i>Mitovirus</i>	ssRNS (2-3 kb)	ribonukleoprotein komplexek	gomba
	<i>Naravirus</i>			gomba

Familia	Genus	Nukleinsav	Morfológia	Gazda
<i>Barnaviridae</i>	<i>Barnavirus</i>	ssRNS (4 kb)	bacilliform virion	gomba
<i>Pseudovirus</i>	<i>Pseudovirus</i>	ssRNS (5-8 kb)	ismeretlen	növény, gomba, gerinctelen
	<i>Hemivirus</i>			növény, gomba, gerinctelen
<i>Metaviridae</i>	<i>Metavirus</i>	ssRNS (4-10 kb)	ismeretlen	gomba, gerinctelen
-	<i>Rhizidovirus</i>	dsDNS (27 kb)	izometrikus virion	gomba

(*The Universal Virus Database of International Committee on Taxonomy of Viruses alapján – Internetes hivatkozás 5.)

Míg bizonyos fajoknál a dsRNS-ek jelenléte semmiféle vírusbetegséggel, vagy fenotípusos béléggel nem kapcsolható össze (pl. *Aspergillus*-fajokban), addig más gombák esetében jelentős változásokat okoznak (pl. *Cryphonectria parasitica* hipovirulenciája) (KEVEI et al., 1999). A gazdaságilag is legfontosabb nagygomba fajunkban, az *Agaricus bisporus*-ban kimutatható extrakromoszomális dsRNS kapcsolatba hozható a termesztési tulajdonságok leromlásával, amivel jelentős termésvesztés párosul.

Mikovírusokat már számos termesztett nagygomba-fajból leírtak: *Flammulina velutipes* (MAGAE & HAYASHI, 1999); *Lentinula edodes* (INOUE, 1970); *Agrocybe aegerita* (BAROSSO & LABARERE, 1990); *Pleurotus ostreatus* (GO et al., 1992; VAN DER LENDE et al., 1995; PARK & KIM, 1996; YU et al., 2003; LIM et al., 2005) és *Agaricus bisporus*. Utóbbi faj legismertebb, gazdasági szempontból legfontosabb vírusai a LIV – La France Isometric Virus (SINDEN & HAUSER, 1950; HOLLINGS, 1962; ROMAINE & GOODIN, 2002) és az MVX – Mushroom Virus X (GAZE, 1997; GAZE et al., 2000; GROGAN et al., 2003; GEÖSEL et al., 2008). A gyakorlati gombatermesztésben az olyan mikovírus fertőzéseknek van jelentősége, amelyek termőtestek morfológiáját, számát, színét, a termesztési tulajdonságok elvesztését, és a termés mennyiségének csökkenését okozzák.

Máig egy irodalom foglalkozott *P. eryngii* mikovírus kutatással, diagnosztikával. RO és munkatársai 2007-ben egy koreai farmról származó deformált termőtestből tudtak kimutatni egy vírust, melyet „*Pleurotus eryngii* spherical virus”-nak (PeSV) nevezték el. A PeSV egy 31 nm átmérőjű, szférikus, ssRNS-t tartalmazó vírus. Ezzel szemben máig senki nem vizsgálta meg, hogy a *P. eryngii* faj tartalmaz-e dsRNS specieseket. Mivel a gombatermesztésben megjelenő mikovírusok dominánsan dsRNS-t tartalmaznak, érdemesnek tartottuk a fajt dsRNS jelenlétére is megvizsgálni. A dolgozat kísérletes részében a rendelkezésemre álló 16 izolátumot immunoblot

módszerrel vizsgáltuk dsRNS molekulák jelenlétére abban a reményben, hogy a törzsek közötti jelentős különbségre magyarázatot találunk.

2.8. A *P. ERYNGII* FAJ ÖKOLÓGIAI JELENTŐSÉGE ÉLETTANI MEGVILÁGÍTÁSBAN

A laskagombák lehetnek gyengültségi paraziták, azaz képesek behatolni és parazitálni az ellenálló képességében gyengült gazdanövényt. Más esetben szaprobiontként elpusztult növényi szervesanyag lebontására is képesek. A faanyagok felépítése, kémiai összetétele, víz- és levegőtartalma, pH értéke, fungisztatikus anyagai sajátos élőhelyet és tápanyagforrást biztosítanak a farontó gombák számára (JAKUCS & VAJNA, 2003). A fa lebontása a farontó gombafajok révén már élő állapotban megkezdődik és folytatódik 5-30 éven át. A faanyagok lebontása soktényezős, enzimatisz folyamat. A fő szénforrás a fában a cellulóz, hemicellulóz és a lignin. Nitrogén viszonylag kis mennyiségben van jelen a fában (MANCZINGER et al., 2003). Általánosságban elmondható, hogy a laskagombák is az ilyen szubsztrátumhoz adaptálódott szervezetek.

A lignocellulóz anyagok bontását enzimek, enzimrendszerek végzik: celluláz enzimrendszer (endocelluláz, exocelluláz, β -glükozidáz, cellobióz-kinon-oxidoreduktáz, cellobióz-oxidáz, glükóz-oxidáz); hemicellulázok (heteropolimer jellegből és az elágazó szerkezetből adódóan több enzimből álló, bonyolultabb enzimrendszer végzi a bontást, pl.: endoxilánázok, β -xilozidáz, acetyl-xilán-észteráz stb.); ligninázok (lignin peroxidázok /LiP/, mangán-peroxidáz /MnP/, fenoloxidázok, valamint a hidrogén-peroxidot generáló enzimek, pl.: glükóz-oxidáz stb.) (NÉMETH, 1998; MANCZINGER et al., 2003). A lignocellulóz bontásának „celluláz” és „lignináz” enzimrendszerei közösen reguláltak.

A fehér korhadás és a faanyag nagymértékű lágyulása a lignin degradációjának a következménye. A fehér korhadáskor mindhárom fő alkotó (cellulóz, lignin és hemicellulóz) szimultán bomlik, csaknem azonos mértékben. A gombák lignolitikus és más egyéb enzimrendszerei lehetőségeket kínálnak környezetvédelmi problémák megoldására, xenobiotikumok környezetbarát eliminálására is (STAMETS, 2005; ASGHER et al., 2008).

2.9. A *P. ERYNGII* TERMESZTÉSI VONATKOZÁSAI

Termesztéstörténeti vonatkozások

A *P. eryngii* var. *eryngii*-t és *nebrodensis*-t egyes irodalmak szerint (RODRIGUEZ ESTRADA, 2008) 1970 és 1987 között vonták termesztésbe, azonban mindenképpen kiemelendő, hogy a faj intenzív termesztése Magyarországon kezdődött meg az 1950-es években komposztált széna és fűrészpor keveréken (KALMÁR, 1960; SZILI & VÉSSEY, 1980; SZILI, 1994; KIRBAG & AKYÜZ,

2008). Később, a 60-as évek végén Véssey is próbálkozott a steril alapanyagon történő termesztésével (VÉSEY, 1971). CAILLEUX és DIOP búzaszalmát, zabot tartalmazó steril táptalajt használt a termesztéshez (CAILLEUX & DIOP 1974; CAILLEUX & JOLY, 1987). Napjainkban már termesztik több ázsiai országban, és jelen van több európai ország (pl. Olaszország) gombatermesztő farmján és piacain is. Az Egyesült Államokban az *eryngii* változat termesztésével 2000-től kezdtek foglalkozni.

A termesztési alapanyagok köre jóval szélesebb, mint amennyiről a különböző irodalmak beszámolnak. Ezek általában mezőgazdasági, erdészeti melléktermékek, hulladékok közül kerülnek ki. Ilyenek a különböző gabonafélék szalmái, bizonyos fafajok fűrészporai, gyapot-, szójaszalma, kukoricaszár, *Cyperus alternifolius* szár, kukoricaliszt, főzött gabonamagvak, maláta, bambusz por, búzakorpa, rizskorpa stb. (SAWA, 1996; OHGA, 1999; OHGA, 2000; SZARVAS és SZARVAS, 2002; OHGA & ROYSE, 2004). Az egyes országoknak saját maguknak kell fölmérniük, hogy milyen könnyen hozzáférhető, olcsó, a faj termesztésére alkalmas alapanyagok állnak a rendelkezésükre, és ennek megfelelően kell a szubsztrátum összetételét meghatározni. Az alapanyagot nedves hőkezeléssel, xerotherm eljárással vagy steril technológiával állíthatják elő (KÓSZÓ, 1997; SZARVAS és SZARVAS, 2002).

Szaporítóanyag

A kereskedelembe megtalálható legtöbb törzs európai eredetű. Szaporítóanyagként az esetek többségében szemcsírárt használnak föl, de szintén előfordul a „plug” csíra használata is.

A termesztés lehetőségei

Az alapanyag hőkezelése alapján lehetőség van száraz hőkezelésre, azaz “xerotherm eljárásra” (100 °C-on történő 1-1,5 órás hőkezelés, nedvesítés és csírázás); nedves hőkezelésre (alapanyagok keverését, nedvesítését, prizmába húzását követő indoor pasztörözés, kondicionálás, hűtés és csírázás); sterilizálásra (autoklávokban történő teljes csíramentesítés, hűtés, majd csírázás) és egyéb – elsősorban hobbi termesztésben használt – lehetőségekre. Jelenleg a steril eljárás az egyik legcélravezetőbb módszer az alapanyag dúsítása és összetétele miatt.

Az alapanyag zsákos, blokkos, továbbá üveges, PP-üveges és ládás kiserelésben kerülhet a termesztésbe. Lehetőség van a takarás nélküli termesztésre, amikor a termőtestek a szabad lignocellulóz alapú, átszövetett szubsztrátum-keverék felszínéről fejlődnek, valamint a takarással történő termesztésre, amikor az alapanyagot a csiperketermesztésben használt tőzeges takaróföld-keverékkel takarják, és így a termés a takaróföldről, illetve azon keresztül fejlődik a blokkokról.

Maga a termesztés történhet *indoor* (termesztő házakban, termesztő helyiségekben), *outdoor* (nem termesztő berendezésekben, hanem szabadban történő termesztés) és *semi-indoor* (a gombatermesztés bizonyos szakaszai *indoor*, míg más fázisai *outdoor* zajlanak) módszerekkel. A *P. eryngii* termesztésével kapcsolatban négy termesztési módszert említenek: zsákos, takarásos, üveges és az *outdoor* módszer (TAN et al., 2005).

Zsákos módszer: Különböző kapacitású filterekkel rendelkező (0,5-3,0 kg, maximum 5 kg) polipropilén esetleg polietilén zsákokat használnak. A zsákok körülbelül a kapacitásuk feléig, háromnegyed részéig tartalmazzák a szubsztrátumot. Az alapanyagot sterilizálják (1,5 - 3 óra, 121 °C), majd egy éjszakán át hűtik. A zsákokat oltják a csírával, majd homogenizálják. Az átszövetés, érlelés átlagos ideje 15-25 napig terjed 23-25 °C-os hőmérsékleten. Ezt követően a hőmérsékletet lecsökkentik 10-18 °C-ra primordium indukció céljából. A zsákokat a primordiumok kialakulását követően kinyitják, majd ezt követően fokozatosan fejlődnek ki a termőtestek. Az érett gombák a tűfej-képződést követően 6-7 napon belül kifejlődnek. Általában csak az első termőhullámot várják meg a termesztők, mielőtt a szubsztrátumot kitermelik (CAILLEUX & DIOP, 1976; RODRIGUEZ ESTRADA & ROYSE, 2008).

Takarásos módszer: A klimatikusan kevésbé kontrollált termesztési környezetben, a szubsztrátum vízvesztésének megakadályozására célszerű takarást végezni. A magas nedvességtartalmú takaróföld véd a kiszáradás ellen, csökkenti a vízvesztést (OEI, 2006). A szubsztrátumba történő utólagos vízpótlás nem lehetséges. A takarásos termesztés esetén nem világos, hogy a takarásnak a fő funkciója a vízvesztés megakadályozása, vagy más szerepe is van, mint például a kétspórás csiperke termesztésében. A szubsztrátot blokkokba tömörítik, autoklávozható fóliában vagy zsákokban sterilizálják (1,5-3 óra 121 °C-on) vagy pasztörizálják. A csírázás a blokkok minden részén történő beoltásával valósul meg, majd a zsákokat lezárják (OEI, 2006). Miután a szubsztrát átszövetése megvalósult, a takaró réteget 1,5-3 cm vastagságban rárétegezik a szubsztrátumra. Lehetőség van különböző takaróanyagok használatára (tőzeg, homok, talaj stb.) Ezzel a módszerrel akár három terméshullám is nyerhető (RODRIGUEZ ESTRADA, 2008). GYÖRFI és munkatársai (2007) kimutatták a takarás termésmennyiségre gyakorolt pozitív hatását.

Üveges termesztési módszer: A *P. eryngii* termesztését Japánban, Koreában, Kínában és kis mértékben az Egyesült Államokban is szubsztrátumot tartalmazó polipropilén palackokban (850 - 1050 ml) valósítják meg. Többek között fűrészpor és gyapotmag-héj lehetnek a fő alapanyagok. Búza-, és rizskorpa, őrölt szójabab, gabonák és őrleményeik (kukorica, búza, zab, rozs, köles, és maláta) használatosak, mint táptalaj kiegészítők (RODRIGUEZ ESTRADA & ROYSE, 2005). Hazánkban a darált búzaszalma is fontos alapanyag lehet. A táptalajt összeállítják, majd a nedvességtartalmat

60-65%-ra állítják be. 16 palackot rendeznek el műanyag ládákban. A szubsztrátumnak palackokba helyezése után függőleges mélyedéseket készítenek a beoltás helyének kialakítására. A táptalajt autoklávozzák (1,5-3 óra 121 °C-on), majd hűtik és csírázzák. Koreában a folyadék fázisban lévő csírával történő beoltásnak módszere a *P. eryngii* és *Flammulina velutipes* esetén meglehetősen közkedvelté vált. Az átszövetési periódus 28 naptól 35 napig terjed, 16-24 °C hőmérsékleten. Kolonizációt követően a fedőt, és a kolonizált szubsztrát legfelső rétegét eltávolítják, és perforált fóliafilm-borítás kerül az üvegekre. Ezt a primordium-képződést követően távolítják el. A termőtestkezdemények képződéséhez a relatív páratartalom (Relative Humidity – RH) szintje 90-95%-ig terjed, míg a termőtest-képzéshez 85% szükséges. Egy termőhullám érhető el az üveges módszer használatával (CAILLEUX & DIOP, 1976; RODRIGUEZ ESTRADA & ROYSE, 2005; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

Outdoor termesztés: A fentiekben említett takarásos módszert outdoor termesztéshez használják. A módszert főként Olaszországban alkalmazzák. A táptalajt tartalmazó műanyag zsákokat pasztörizálják, beoltják, majd indoor inkubálják. Miután a szubsztrátumban az átszövetés teljesen végbemegy, a műanyag zsákokat eltávolítják, és a táptalajt egy, a szabadban kialakított árokban helyezik el, majd bevonják a szabadban lévő talajjal. Árnyékolás és védelem céljából egy fémszerkezetet építenek, amelyre szövetet erősítenek. Az öntözést időszakosan hajtják végre (ZERVAKIS & VENTURELLA, 2002). Annak ellenére, hogy a *P. eryngii* fejlődése ilyen körülmények között követi a szezonális megjelenést, az *outdoor* termesztési idő elnyújtható a megfelelő klímájú helyekre történő telepítéssel (RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

2.10. A *P. ERYNGII* TÖRZSEK A TERMESZTÉSBEN

A termesztésben fellelhető *P. eryngii* törzsek jelentős része Európából származik, ennek ellenére a törzsek között jelentős különbségek lehetnek a termesztési vonatkozások tekintetében. Ezek a különbségek megnyilvánulnak mind a morfológiai, mind a termesztési tulajdonságok terén. A kereskedelmi forgalomban lévő törzsek nem igazán céltudatos szelekció eredményeként kerültek a piacra, hanem végül a termesztés szelektálta őket. Első lépésben mindenképpen a vad izolátumok szelekcióját szükséges elvégezni a termesztetőség és a piaci érték szempontjából. A munka során saját izolátumaink összehasonlító termesztési vizsgálatait végeztük el. Irodalmi adatokat nem találtunk arra vonatkozóan, hogy termesztési célokra, hagyományos nemesítési munkával állítottak volna elő hibrideket. YASUSHI és munkatársai 2003-ban protoplasztálással nyert gombasejteket UV hatásának tettek ki. Az indukált mutagenézis eredményeként spórátlan mutáns törzset sikerült előállítaniuk.

A jövőben nagy jelentősége lenne a különböző törzsek nemesítésének, amelyhez néhány, a disszertációban szereplő, igazoltan kedvező termesztési tulajdonságokkal rendelkező vad izolátum jó alanynak bizonyulna. A *Pleurotus*-fajokra a tetrapoláris heterotallizmus jellemző, így valószínűleg a *P. eryngii* nemesítési munkáiban is sikeresen alkalmazhatók a *P. ostreatus* nemesítésében használt monospór és multispór eljárások, majd idővel a molekuláris módszerek.

2.11. BIOLÓGIAI HATÉKONYSÁG ÉS PRODUKTIVITÁS

Az egyes gombafajok, -törzsek, -hibridek különböznek azon tulajdonságukban, hogy milyen mértékben képesek az adott szubsztrátum anyagaiból termést produkálni. A termesztők számára egyrészt lényeges lehet az, hogy adott összetételű alapanyagról mennyi termés szedhető le, másrészt pedig, hogy az alapanyag összetételének változtatásával hogyan fokozható a termés mennyisége. A termesztési kísérletekben az egyik legelterjedtebb paraméter az ún. biológiai hatékonyság (Biological Efficiency, BE %/), amelyet a következőképpen határozzák meg: $BE(\%) = \frac{\text{friss gomba tömege}}{\text{száraz alapanyag tömege}} \times 100$ (STAMETS, 2000). Egy másik használható paraméter a produktivitás (Productivity, P %/), amelyet az alábbi formula alapján határoznak meg: $P(\%) = \frac{\text{friss gomba tömege}}{\text{nedves alapanyag tömege}} \times 100$ (ANDRADE et al., 2007).

Egyes irodalmak tág biológiai hatékonysági értékeket közölnek a fajjal kapcsolatban, az alapanyag összetételétől, a dúsítóanyag minőségétől, mennyiségétől és takarástól függően. SONNENBERG és munkatársai (2006) arról számoltak be, hogy Németországban és Hollandiában gyakran meglehetősen alacsony, 10-15% a biológiai hatékonyság, azonban ezt kísérleteikben 20-25%-ra tudták emelni. KIRBAG & AKYÜZ (2008) különböző összetételű mezőgazdasági melléktermékekből álló alapanyagaik esetében 48-85%-os biológiai hatékonyságról számoltak be. RODRIGUEZ ESTRADA és munkatársai (2009a) dúsítás és takarás variációival már elérték a 179%-os hatékonyságot.

A BE (%) és a P (%) meghatározásában nem térnek ki az egyes irodalmak, hogy a letermett vagy a kiindulási alapanyagok tömegét kell-e szerepeltetni a nevezőben. Szintén problémát okozhat a gomba szedésének ideje, ugyanis nincs meghatározva a „szedésérett termőtest” kritériuma a *P. eryngii* esetében.

A munkánk során azonos összetételű alapanyagon végeztük a 16 különböző *P. eryngii* törzs termesztését, melynek során egyaránt meghatároztuk a törzsek BE (%) és P (%) értékeit mind a kiindulási, mind a letermett alapanyagra vonatkozóan.

2.12. KERESKEDELMI JELENTŐSÉG

A *P. eryngii* var. *eryngii* egy kivételes jelölt a termesztésre. Elsősorban azért, mert sokak szerint a legjobb ízű a többi laskagomba-fajhoz képest. Egyéb kívánatos tulajdonságai közé tartozik a viszonylag hosszú eltarthatósági ideje, a relatíve kismértékű spóraszórása, és magasabb piaci ára (RODRIGUEZ ESTRADA & ROYSE, 2005). E faj termesztési kísérletei hazánkban kezdődtek meg az 1950-es években, azonban mára a legjelentősebb ördögszekér laskagomba termesztő országok Japán, Kína, Korea és Olaszország lett. 2001-ben kezdtünk el behatóbban foglalkozni az ördögszekér laskagombában rejlő termesztési lehetőségekkel. A faj „újrafelfedezésével” szinte egyidőben, a világban egy jelentős és folyamatos fellendülésnek lehettünk szemtanúi. Kínában, a *P. eryngii* termesztés 21 000 tonna volt 2001-ben, és 2003-ra 114 000 tonnára emelkedett (CHANG, 2005). A *P. eryngii* iránti kereslet Olaszországban meghaladja a 2000 t/év mennyiséget (OEI, 2006). Koreában a laskagombák királyának termesztése 1995-ben kezdődött meg, és 2008-ban 30%-át képezte az ország gombapiacának (RO et al., 2007b). A vad „Cardoncello”-hoz hasonlóan gyűjtik és frissen értékesítik a helyi piacokon néhány európai országban úgy, mint Spanyolországban és Olaszországban. Az Egyesült Államokban a faj kereskedelmi termesztése 2000-ben kezdődött és 2004-ig mintegy 85 tonnát termeltek (ROYSE et al., 2005; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

Hazánkban sajnos szinte teljesen megfeledkeztünk az ördögszekér laskagombáról. A Quality Champignons Kft. és a Budapesti Corvinus Egyetem Zöldség- és Gombatermesztési Tanszékének együttműködésével 2002-től újból megkezdődött a faj termesztése, hazai alapanyagokra adaptáltan. Sajnos a termesztés – a kft. megszűnésével – nem folyt tovább. Mindenképpen reménykeltő, hogy napjainkban az egyik legnívósabb hazai gombaipari cég szándékozik e faj nagyobb volumenű termesztésére berendezkedni.

A friss gombát tálcákba csomagolva, vagy fóliában árusítják. Szeletekben szárítva és por formájában is kapható. A kínai termesztők a gombát sós vízben, főtt formában is kereskedelembe bocsájtották, műanyag tasakokban, vagy fémdobozokban. Kiskereskedelmi ára országonként jelentősen változik, és a *P. eryngii* var. *eryngii* morfológiájának fogyasztói preferenciái nagymértékben eltérnek egymástól (RODRIGUEZ ESTRADA, 2008). Mindezek arra is utalnak, hogy termesztése továbbra is fellendülőben van, és hazánkban is érdemes a faj termesztésével üzemi szinten is foglalkozni. Olaszországban a kicsi és vékony tönk, valamint a sötét széles kalap a leginkább preferált tulajdonság. A spanyolországi fogyasztók viszont a világosabb színű kalapot kedvelik. A kínai fogyasztók inkább a szélesebb tönköt és kisebb kalapot részesítik előnyben. Észak-Amerikában, Koreában és Japánban a széles tönkű, és az ugyancsak széles kalapú gombák a keresettek (RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

A „*P. nebrodensis*” kereskedelmi és természetvédelmi oldalról

Inzenga, aki először leírta az *A. nebrodensis* fajt „a szicíliai mikológiai flóra legízletesebb gombája”-ként említette. A vad *P. eryngii* var. *nebrodensis* ritkán fordul elő a természetben, mégis gyűjtik, és friss állapotban értékesítik Észak-Szicíliában. Azonban 2006-ban a Természetvédelmi Világszövetség (World Conservation Union) a kritikusan veszélyeztetett fajok (Critically Endangered - CR) közé sorolta a fajt, és felvették a veszélyeztetett fajok vörös listájára (*internetes hivatkozás 2.*). Sajnos nem vezettek be semmiféle szabályozást a faj természetes élőhelyéről történő begyűjtésének tilalmára. Mivel a faj begyűjtése általában fiatal termőtest formájában történik, becslések szerint, évente csak 250 termőtest éri meg termőképességét Szicília északi részén. Ennek okán az ára Olaszországban 68 \$–95 \$/kg (*internetes hivatkozás 6.*). A *P. eryngii* var. *nebrodensis* fajt a kínai őslakosok szintén vadon gyűjtik „Tiansan szent gomba” („Tiansan holy mushroom”) néven. Egyéb gyakori kínai elnevezései a fajnak: Bailinguu, Baiawiewo, és Tuolibianzhong (SHEN et al., 2005). Ez a gomba volt az első termesztésbe vont faj ebben az országban 1987-ben (ZHANG et al., 2005).

Egy rövid gondolat erejéig szeretném megemlíteni a gombák környezetvédelmi jelentőségét is. A „mycorestoration” fogalom - amely magában foglalja a „mycofiltration”, „mycoforestry”, „mycoremediation”, „mycopesticides” fogalmakat - az angol nyelvű irodalomban már egyre szélesebb körben terjed és „nagygombáinkkal” is kapcsolatba hozható, így a gombatermesztés ezeken a területeken is perspektivikus lehetőségeket kínál. Mivel a dolgozatban szereplő laskagomba faj gazdag extracelluláris enzimmészettel rendelkezik, véleményem szerint környezetvédelmi problémák kezelésében is jó szolgálatot tehet.

2.13. A FAJ BELTARTALMI ÉRTÉKEI

Az ördögszekér laskagomba beltartalmi értékei LELLEY & VETTER (2004) nyomán az alap paraméterekre vonatkozóan: szárazanyag: 15,44%; nyersfehérje (sza.%): 25,02; nyerszsír (sza.%): 2,95; nyersrost (sza.%): 6,04; kitin (sza.%): 4,77; hamu (sza.%): 10,05. COLI és munkatársai 1988-ban a következő adatokat közölte: nyersfehérje 12,3%; nyerszsír 6,7%; oldható szénhidrát: 25,3%; nem cellulóz típusú poliszacharid 15,4%.

Elemek vonatkozásában LELLEY & VETTER (2004) a következő adatokat közölte mg/kg szárazanyagra vonatkoztatva: Al 13,4; As < 0,05; B 4,97; Ba 1,42; Ca 684; Cd 0,59; Co <0,002; Cr 1,17; Cu 10,8; Fe 77,5; K 34 846; Mg 1595; Mn 9,14; Mo < 0,005; Na 189; P 7461; Hg 0,45; Se 0,5; Sr 5,8; Ti 0,43; V 0,16; Zn 80,2. RODRIGUEZ ESTRADA & ROYSE (2007) eredményei elemek

vonatkozásában több esetben eltérnek az általuk mért adatoktól. A faj kalciumtartalmával kapcsolatban CHOI és munkatársai (2009) megállapították, hogy amennyiben 1% mennyiségben tengeri csillag meszes vázát keverik az alapanyag-keverékbe, úgy a dúsított szubsztrátumról származó termőtestek kalciumtartalma 2560 ppm-re emelkedik, szemben a kalciumot nem tartalmazó kontrollban talált 700 ppm-hez képest.

Vitaminok tekintetében LELLEY & VETTER (2004) a következő eredményekről számol be: B₁-vitamin: 51 mg/kg; B₂-vitamin 2 mg/kg; B₆-vitamin 3,8 mg/kg; D₁-vitamin 84,8 µg/kg; D₂-vitamin 187,6 µg/kg.

A *P. eryngii* illékony komponensei közül megemlíthető a 3-oktanon, 1-oktén-3-on, 1-oktén-3-ol, 1-oktanol, 2-oktén-1-ol és benzaldehid (MAU et al., 1998). LA GUARDIA és munkatársai 2005-ben három csoport, a var. *thapsiae*, var. *elaeoselini* és var. *nebrodensis* (*P. nebrodensis*) vizsgálata során azt találták, hogy a B₁₂- (kobalamin), B₂- (riboflavin) és B₇- (biotin) vitaminokból a legtöbbet a *P. nebrodensis* tartalmazza. B₁₂-vitaminból 1,93 µg/100 g sz.a., B₂-vitaminból 0,29 µg/100 g sz.a., és B₇-vitaminból 18,3 µg /100 g sz.a. mennyiségeket mértek.

2.14. MIKROELEMEEK SZEREPE AZ EMBER TÁPLÁLKOZÁSÁBAN

Azokat az elemeket soroljuk a mikroelemek közé, amelyeknek tömege az emberi szervezetben 50 mg/kg alatt van, az ennél nagyobb mennyiségben jelen levő elemeket makroelemeknek nevezzük. Az eddigi kutatások alapján 14 mikroelemről állíthatjuk, hogy esszenciálisak (CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2003). Először ARNON & STOUT (1939) fogalmazták meg az esszencialitást:

- a) az adott élő szervezet az adott elem távollétében sem növekedni nem tud, sem életfolyamatait nem képes teljessé tenni;
- b) az adott elemet egyetlen más elem sem képes helyettesíteni;
- c) az adott elem az élő szervezetre közvetlen hatással van, és az anyagcserében szerepet játszik.

Jelenleg létfontosságúnak, részlegesen létfontosságúnak tartott mikroelemek: arzén, cink, jód, króm, vas, mangán, nikkel, réz, szilícium, bór, fluor, kobalt, lítium, molibdén, ón, szelén, vanádium (PAIS, 1999). A cink, mangán és szelén szerepéről a 3. táblázat nyújt áttekintést.

3. táblázat. Áttekintés a mikroelemek jelentőségéről az emberi szervezet vonatkozásában.

Esszenciális mikroelemek fontosabb hatásai az emberi szervezetre		
<i>Mn szerepe</i>	<i>Zn szerepe</i>	<i>Se szerepe</i>
Metalloenzimek komponense (5 enzim, pl.: piruvát-karboxiláz, glikozil-transzferáz). Idegrendszer zavartalan működése (a substantia nigra melanocytaiban koncentrálódik). Csontrendszer kifejlődése (hossz, sűrűség, törékenység). Mukopoliszacharidok bioszintézise (porcok képződéséhez nélkülözhetetlen). Szénhidrát anyagcsere normál folyamatának biztosítása (piruvát karboxiláz). Lipidanyagcsere, koleszterin szintézis. Nukleinsav bioszintézis. Immunrendszer működésének elősegítése (gamma globulin mennyiségére, limfocytaktivációra van hatással).	RNS, a DNS és a riboszómák szerkezetének stabilizálása, (meghatározó szerepe van a sejtszótódásban és a sejtszerkezet reprodukciójában is). DNS- és RNS-polimeráz enzimek zavartalan működésének biztosítása. Génszabályozási szerep (Zn-ujj motívum). Glükóz- és lipidanyagcsereben betöltött szerep. Az inzulintermelés és -le bomlás folyamatában vesz részt. Az immunrendszer működésében is kiemelkedően fontos szerepet tulajdonítanak neki. Öregedési folyamatok lassítása. Sebek gyógyulása. Ivarmirigyek, gonadok megfelelő működése. Egészséges bőr kialakulása. Daganatellenes hatás.	Tokoferollal szinergizmusban fontos antioxidáns. Szeléntartalmú glutation-peroxidáz nevű enzim kis aktivitása okozza a Keshan-kórt (akár halálos kimenetelű, többek között szívizom-sorvadással járó betegség). Pajzsmirigyben fontos szerepet játszó egyik enzim, a jodotiroxin 5'-dejodináz működésében a szelén kulcsszerepet játszik: a jódhiány mellett a szelénhiány is felelős a pajzsmirigy működésének zavaraiért. Antikarcinogén hatás. Szívinfarktus esélyét csökkenti. Bizonyos vírusok virulenciáját csökkentheti.
A vér mangántartalma általában 24 µg/l. Felnőtt személy átlagos mangántartalma 12-15 mg.	Felnőtt személy átlagos cinktartalma 2-3 g (humán testis: 150-200 µg/g).	Az emberi szervezetben 10-15 mg szelén van, amely antioxidánsként, rendszerint a tokoferollal együtt vesz részt a metabolizmusban.
A mangán szállításában jelentős szerepet játszik a transzmanganin, továbbá a transzferrin.	Jelenleg 300-nál is több az ismert cinktartalmú enzimek száma, míg mások 25 enzimről számolnak be.	A szeléntartalmú glutation-peroxidáz enzim védi a telítetlen lipideket, membránokat az oxidációtól.
A táplálékokban lévő mangán mintegy 5-10%-a hasznosul. A felszívódásnál a mangán és a vas, valamint a mangán és a kalcium között kölcsönös és jelentős antagonizmust figyeltek meg.	Azt, hogy minden enzimesaládban találunk cinktartalmú enzimet, a cink széleskörű élettani fontosságának jeleként értékelhetjük.	A szelénellátottságban a geológiai adottságoktól függően az egyes területek között lényeges különbségek vannak. Hazánk bizonyos területei alacsony szelén ellátottságúak.

(CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2003 és PAIS, 1999 nyomán).

A 4. és az 5. táblázat a szelén és a cink ajánlott napi bevitel (RDA - Recommended Dietary Allowances) mennyiségeit mutatja korcsoportonként. A mangánra nincs ajánlott RDA érték, de 2,5-5,0 mg biztonságos 11 éves kor fölött.

4. táblázat. A szelén RDA értékei.

Kor (év)	Férfiak és nők (µg/nap)	Terhesség (µg/nap)	Laktáció (µg/nap)
1-3	20	-	-
4-8	30	-	-
9-13	40	-	-
14-18	55	60	70
19 év fölött	55	60	70

Internetes hivatkozás 7.

5. táblázat. A cink RDA értékei.

Kor	Férfiak	Nők	Terhesség	Laktáció
0-6 hónap	2 mg (AI*)	2 mg (AI*)	-	-
7-12 hónap	3 mg	3 mg	-	-
1-3 év	3 mg	3 mg	-	-
4-8 év	5 mg	5 mg	-	-
9-13 év	8 mg	8 mg	-	-
14-18 év	11 mg	9 mg	12 mg	13 mg
19 év fölött	11 mg	8 mg	11 mg	12 mg

*AI - Adequate Intake

Internetes hivatkozás 8.

2.15. GOMBÁK MN, ZN ÉS SE TARTALMA

A gombák között találunk olyan fajokat, amelyek meghatározott ásványi elemeket képesek felhalmozni sejtjeikben (vegetatív micéliumban és/vagy termőtestjeikben). Amennyiben a gombákban a környezetben található koncentrációt meghaladóan halmozódnak bizonyos elemek, bioakkumulációról beszélünk. Nagymértékű akkumulációnál már “hiperakkumulációt” is említenek.

Amennyiben a gombák bizonyos fémeket képesek akkumulálni, miért ne használhatnák ki a termesztők is ezt a lehetőséget? Természetesen itt a humán egészségre igazoltan előnyös hatású fémeket kell az alapanyagba keverni és vizsgálni a termésben a dúsulás, halmozódás mértékét. Ezzel a gombák beltartalmi értékeit maguk a termesztők növelhetik (a megfelelő fém, annak dózisének, valamint a megfelelő faj kiválasztásával). Ezzel ún. funkcionális gomba vagy gomba alapú élelmiszert lehet előállítani. A funkcionális élelmiszer megnevezés mindenképpen növelné a gombák népszerűségét, főképp, ha ezen felül a gomba vegyszermentes termesztésből is származik.

A dolgozatban három esszenciális mikroelem, a cink, a szelén és a mangán dúsulásának a mértékét kívánom megvizsgálni a *P. eryngii* termőtestekben, funkcionális gomba alapú élelmiszer előállítása céljából. A következőkben e három mikroelem bemutatására szorítkozom.

Mangán

A mangán, a gombákban is enzimek részét képezi, így nélkülözhetetlen mikroelem. A ligninbontásra nem képes gombákban a mangánhiány alacsonyabb fehérje-, lipid- és nukleinsavszintet eredményez, ráadásul kedvezőtlenül megváltozik a membrán permeabilitása, ami a sejtek nitrogénvesztését okozza.

Gombák termőtestjeiben 6-129 ppm között változik a mennyisége. Egyes fehérkorhasztó gombák (*Ganoderma applanatum* stb.) élettevékenysége nyomán a bontott faanyag mangántartalma a korábbi érték 100-szorosára növekedett, a gomba mangántartalmának változatlansága mellett (VETTER, 1989). Ennek oka, hogy a ligninbontásra képes fehérkorhasztó gombák mangán-peroxidáz enzimének működésének elengedhetetlen feltétele a mangán jelenléte. Mangánhiány esetén a ligninbontás hatékonysága csökken, folyamatában zavar keletkezik (MANCZINGER et al., 2003). Igen nagy mennyiségű mangánt mutattak ki az *Inonotus obliquus* steril tenyészetében, ahol a mennyiség elérte a 10 000 mg/kg szárazanyagot.

Ökoszisztémájuk növényfajaival összehasonlítva a gombák sokkal kevesebb mangánt tartalmaznak (azonos terület 39 gombájának átlagos mangántartalma 38 ppm, 14 virágos növényfaj értéke 1875 ppm!) (VETTER, 1989).

Cink

A harmincas években már analizáltak néhány gombát és eredményül 40-279 ppm közötti cinktartalmat kaptak a kutatók. Az újabb, pontosabb analízisek 100 ppm átlag körüli értéket mutattak a termőtest egészére nézve. A cinktartalom viszont nem egységes a termőtestben, a tönk 30-50%-kal kevesebbet tartalmaz, mint a kalap (VETTER, 1989). Néhány kivételtől eltekintve a *Polyporus* nemzetség alacsony, az *Agaricus*-, *Lycoperdon* fajok nagy cinktartalommal jellemezhetők. Jelentős akkumulációt a *Hygrophorus nitratus* (1025 ppm) fajban találtak. A *Polyporus gibbosus* faj mutatta a legkisebb mennyiséget (9 ppm) (VETTER, 1989). A gombákban is számos enzim működése igényel cinket (aldoláz, alkohol-dehidrogenáz, gliceraldehid-3-foszfát-dehidrogenáz, RNS-polimeráz, aminoszintetáz, piruvát-dekarboxiláz, szuperoxid-dizmutáz stb.). A nagygombák cinkkoncentrációja nem ingadozik túlságosan, így igen kevés a cinket valóban akkumulálni képes taxonok száma (*Russula atropurpurea*) (MANCZINGER et al., 2003).

Szelén

Csak az analitikai módszerek finomodásával vált lehetővé nagyobb számú gombaminta szeléntartalmának meghatározása. Szabadon termő nagygombáknál a szelén mennyisége fajtól függően 0,01-20 ppm között változik (VETTER, 1989). Viszonylag nagy koncentrációt találtak az *Agaricaceae*, *Boletaceae* család egyes fajaiban, míg a *Russulaceae*, *Amanitaceae*, *Cantharellaceae* család fajait nem jellemezte szelén akkumuláció.

A *Boletus edulis* fajban található a legnagyobb mennyiségben természetes szelén (20 µg/g szá. mennyiség fölött) (STIJVE, 1977). Vad csiperkefajok kb. 2,7 µg/g, míg a *P. cornu-copiae* és a *Grifola frondosa* kevesebb, mint 0,5 µg/g szelént tartalmaznak (PIEPPONEN et al., 1983; BEELMAN & ROYSE, 2006).

A gombák között tapasztalt Se-akkumuláló képesség nagyságrendileg azonos egyes Se-felhalmozó hajtásos növényekével (*Astragalus* spp.). Esetleg toxikológiai problémák is felléphetnek 5 ppm Se-tartalom felett (VETTER, 1989).

2.16. A *P. ERYNGII* FAJ ELEMNTARTALMÁVAL KAPCSOLATOS VIZSGÁLATOK

DOGAN és munkatársai (2005) 7 fém (Ag, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb) koncentrációját vizsgálták 32 török származású vad gombafajban, köztük a *P. eryngii*-ben. A vad eredetű *P. eryngii* termőtestekben a következő fémmennyiségeket mérték (mg/kg szá.): Ag – 0,06, Cd – 0,31, Cr – 46,7, Cu – 16,5, Mn - 143, Ni – 24, Pb – 15,2. STAJIC és munkatársai (2005) a réz és mangán ionok optimális koncentrációinak hatásait vizsgálták a *P. eryngii*, *P. ostreatus* és a *P. pulmonarius* fajok lakkáz és peroxidáz enzimjeinek aktivitására.

RODRIGUEZ ESTRADA és munkatársai (2009b) az ergothionein és a szelén mennyiségének fokozására tettek kísérletet. 5 és 10 ppm mértékben szelénnel dúsították a termesztési alapanyagot, és a termőtestekben a szelén 4,6-9,3 µg/g szá. mennyiségben dúsult. Az ergothionein mennyiség fokozását a szubsztrátum nedvességtartalmának 5%-os csökkentésével érték el.

VUKOJEVIC és munkatársai (2007) három szelénvegyület dúsulását vizsgálták a vegetatív micéliumban. Eredményeik alapján megállapították, hogy a micélium jelentős mennyiségben abszorbeálja a szelént. A HAI 711 törzset vizsgálva, a médiumhoz 1 és 1,3 mg/l mennyiségben adagolt nátrium-szelenáttal (Na₂SeO₄) 725 µg/g szá. és 575 µg/g szá. dúsulás volt elérhető a micéliumban.

BAEZA és munkatársai (2002) a ¹³⁴Cs és ⁸⁵Sr izotópok termőtestekbeni mennyiségét vizsgálta a *P. eryngii* termőtestekben kontrollált laboratóriumi körülmények között. BAEZA és munkatársai 2004-es munkájában kibővítette a vizsgált α- és β- emitterek körét a fajjal kapcsolatban.

2.17. *P. ERYNGII* GYÓGYHATÁSÚ ANYAGAI

STAMETS 2000-ben azt írta, hogy az ördögszekér laskagomba gyógyászati jelentősége még pontosan nem ismert, azonban mára már számos gyógyhatás vált ismertté a faj vonatkozásában:

- A *P. ostreatus* és valószínűleg a többi *Pleurotus*-faj jó forrásai a β (1-3), β (1-6) és β (1-4) glükánoknak. A *Pleurotus* taxonon belül ezeket a molekulákat *pleuránnak* is nevezik. Az immunrendszer hatékonyabb védekezését teszik lehetővé az abnormális sejtekkel, fertőző ágensekkel szemben, azaz immunstimuláns hatásuknál fogva fontos szerepük van a daganatos sejtek, kórokozók eliminációjában. A glükánok elsődleges tulajdonságai mellett (immunrendszer stimulálása, illetve a szív- és érrendszeri betegségekkel szembeni védelem) számos pozitív gasztroenterológiai hatásról is beszámolnak.
- A laskagomba-fajok tartalmaznak olyan hatóanyagot (pl. *mevinolin*), ami a koleszterin bioszintézisében résztvevő HMG-CoA-reduktáz enzimet gátolja, ezáltal a vér koleszterinszintjét csökkentő, ún. sztatínokra jellemző hatással képes az LDL-koleszterinszintet csökkenteni. Az előbb említett hatások mellett a gomba rostfrakciója serkenti a máj koleszterin-kibocsátását, illetve gátolja a koleszterinabszorpciót (VETTER, 2010). Igen kifejezett a *P. eryngii* koleszterinszint csökkentő hatása.
- MIZUTANI és munkatársai (2010) nyolc gombafaj közül a legerősebb hypolipidémiás hatást a *P. eryngii* esetében igazolták.
- A faj antioxidáns, gyökfogó hatással rendelkezik (HUI et al., 2002). Antioxidatív hatását többek között az L-ergothioneinnek köszönheti, amelyet az állati és az emberi szervezet nem képes szintetizálni, így táplálékkal vehető fel. A *P. eryngii* kb. negyvenszer annyi ergothioneint tartalmaz, mint a búzaborpa (utóbbit korábban az ergothionein egyik leggazdagabb forrásának tekintették) (VETTER, 2010).
- Beszámoltak a *P. eryngii* csontmetabolizmusban résztvevő enzimekre gyakorolt hatásairól (KIM et al., 2006). Állatkísérletben bizonyították, hogy a gombának van bizonyos mértékű hatása az osteoporózis ellen. Beigazolódott, hogy a gomba kivonatával történő kezelés serkenti az oszteoblasztok és gátolja az oszteoklasztok aktivitását (KIM et al., 2006; VETTER, 2010).

- SANO és munkatársai 2002-ben a faj etanolos kivonatát tesztelték, olyan egereken, amelyeket allergiás reakció kiváltása céljából oxazolonnal provokáltak. A kísérletben a kivonat antiallergén és gyulladásgátló hatását sikerült igazolni. YAOITA és munkatársai 2002-ben egy új szterolt izoláltak a fajból, amelynek gyulladásgátló hatást tulajdonítottak.
- Egyéb hatások: GUILLEN és munkatársai 2000-ben antitumor aktivitást, KANG és munkatársai 2001-ben vércukorszint csökkentő hatást igazoltak. Szintén megfigyelték, hogy gátolja az angiogenezis-függő enzimeket (KANG et al., 2003), a vastagbél daganat sejteket (HAWANG et al., 2003), valamint az immunsejtek aktivációját idézi elő (KANG et al., 2004).
- SYNYTSYA és munkatársai (2008) kimutatták, hogy a *P. eryngii* vizes és lúgos extraktjai pozitív hatással lehetnek a probiotikus baktériumtörzsekre (*Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp.). Az eredmények nem kellően megalapozottak, ugyanis nem jelezték, hogy milyen probiotikus referencia törzsekkel dolgoztak, és a kivonatok készítésének lépései sem pontosan dokumentáltak.

3. A MEGOLDANDÓ FELADATOK ISMERTETÉSE

3.1. MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI VIZSGÁLATOK

1. *P. eryngii* törzsek begyűjtése, beszerzése, tiszta tenyészetük kialakítása, és a törzsek prezervációja.
2. A törzsek rokonsági kapcsolatainak vizsgálata RAPD-PCR módszerrel, valamint a rokonsági kapcsolatokat mutató Neighbor-Joining fa összeállítása.
3. A „transzláció elongációs faktor” és „RNS-polimeráz II” gének egy-egy meghatározott régiójának szekvencia-analízise, a törzsek közötti polimorfizmusok keresése és a varietas-szintű identifikáció céljából. Törzsek nukleotid-eltéréseire alapozott elkülönítési lehetőség kidolgozása.
4. Dupla-szálú RNS molekulák jelenlétének vizsgálata immunoblot módszerrel, dsRNS mikovírusok jelenlétének kimutatása céljából.

3.2. A TERMESZTÉS GYAKORLATI ALKALMAZÁSAIHOZ KAPCSOLÓDÓ KÍSÉRLETEK

1. A *P. eryngii* törzsek vegetatív életszakaszának *in vitro* vizsgálata különböző környezeti feltételek (kémhatás, hőmérséklet, fény/sötét, anaerobitás-tolerancia, ozmotikus koncentráció) között.
2. Törzs-összehasonlító vizsgálatok kisparcellás termesztési kísérletben.
3. A szubsztrátum takarására vonatkozó termesztéstechnológiai fejlesztések.

3.3. BELTARTALMI ÉRTÉK FOKOZÁS LEHETŐSÉGEI

1. Esszenciális mikroelemek (Zn, Mn, Se) lignocellulóz alapanyagba keverését követően, az egyes elemek dúsulásának vizsgálata a termőtestekben.
2. A termesztési alapanyagok hatásának vizsgálata a gomba beltartalmi értékeire, különös tekintettel a gomba elemtartalmára.
3. A takaróföld ásványi táplálkozásban és vízfelvételben való szerepének tisztázása.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. TÖRZSEK BEGYŰJTÉSE, TISZTATENYÉSZETÜK KIALAKÍTÁSA

A törzseket 2006–2008 őszén termőtest formában (*M.2.1.1.*) gyűjtöttük be Novaj, Eger Felnémet-Pásztorvölgy, Bogács, Tószeg, Kecskemét és Heves körzet füves területeiről. A termőtesteket papírba helyeztük, és így szállítottuk a laboratóriumba. A tenyészetek fennmaradó részét az Országos Korona Gombaipari Egyesülés Fajtakutató Laboratóriuma, törzsgyűjteményéből bocsátotta rendelkezésünkre, vegetatív micéliumtenyészet formájában. Ezek közül a PE-SZM Malajziából, a PEL Olaszországból, a PES jelű törzs pedig Hollandiából származott.

Izolálás

Az egészséges termőtestekből alapos tisztítást követően álszövet-leoltásokat végeztünk malátás agarlemezeken. Több esetben kloramfenikol tartalmú maláta agarokat használtunk a megjelenő baktériumtelepek kifejlődésének gátlására. A termőtesteket lamináris fülke alatt hosszában kettétörtük, és a termőtest kalap-tönk határának területéről 0,5 cm³-es darabot metszettünk ki. A gomba álszövetét agarlemezeken felszínére helyeztük (*M.2.1. melléklet M.2.1.2., M.2.1.3. és M.2.1.4. ábra*). Egy termőtestből két-két leoltást végeztünk maláta-, és antibiotikum tartalmú maláta-agarra. A lemezeket 25 °C-on inkubáltuk. A kifejlődött vegetatív micélium egy-egy szép szektorából további három passzázst végeztünk újabb malátás lemezekre, a törzsfenntartásig.

Spórafelvételek előállítása

Spóranyerés céljára tisztított, rövid tönkkel rendelkező termőtestet vagy a termőréteggel rendelkező kalap-szektorát használtunk. Ezeket hymeniummal lefelé helyeztük rá a steril Petri-csészé nyitott alsó felére úgy, hogy a kalap ne fedje be az egész Petri-csészét, valamint, hogy a kisebb termőtestek lemezei ne feküdjenek szorosan a csésze aljára (*M.2.1. melléklet M.2.1.5 ábra*). A lemezek és a csésze alja között levegőréteget hagytunk, így többnyire elkerülhető volt a kondenzvíz megjelenése. Ennek érdekében több alkalommal egy kiizzított drót huzalra szúrtuk föl a gombát. A termőtestek 24 °C-os hőmérsékleten 24-48 óra alatt tömegesen leszórták bazidiospóráikat (*M.2.1. melléklet M.2.1.6. ábra*).

A Petri-csészékből eltávolítottuk a termőtesteket és zárást követően tiszta papírtasakba helyeztük. Ezt követően a spórafelvételek hűtőszekrénybe kerültek 5-7 °C közötti hőmérsékletre. A spórafelvételek előállításának célja esetünkben elsősorban az volt, hogy az álszövet-leoltások sikertelensége esetén, a spórák multispórás tenyészeiből, új vegetatív micélium tenyészeteket lehessen indítani.

Törzsfenntartási módszerek

A törzsek fenntartására olyan módszerek alkalmasak, amelyek csökkent anyagcsere aktivitást biztosítanak, minimalizálják a genetikai változások („leromlások”) lehetőségét, megőrzik a törzsek eredeti tulajdonságait, és hosszú távon biztosítják a tenyészetek életképességét.

a) Fapálcikán történő fenntartás

15 cm hosszú 0,4 cm átmérőjű bükkfa pálcikákat egy napig áztattuk vízben. Második nap sörgyári árpamalátával (1 liter víz, 6,5 g szemes maláta, 3 g búzadara, 3 g búzakorpa, 3 g glükóz, 0,3 ml Vuxal) forraltuk 3 órán át. A pálcikákat kémcsövekbe töltöttük, amelyek aljára főzőlevet vittünk. Zárás után 2 órán át 121 °C-on sterilizáltuk autoklávban. Hűtést követően 5 mm átmérőjű agarkoronggal oltottuk, 25 °C-on inkubáltuk. A fapálcákat tartalmazó csöveket 5-7 °C-ra helyeztük. Törzsenként 3 párhuzamost állítottunk be.

b) Perlites törzsfenntartás

A fenntartás céljára, a következő keveréket állítottuk elő 1 literre vonatkoztatva (v/v%): 1 liter apró szemcseméretű perlit, 0,1 liter korpa, 0,05 liter gipsz, 0,05 liter mészkőpor. A keveréket annyi vízzel kevertük, hogy kézbe véve erős szorításnál, kis mennyiségű víz volt látható az ujjaink között. Az anyagkeveréket homogén bekeverést követően 2 és 5 dl-es üvegekbe töltöttük, papírdugóval zártuk és 121 °C-on 2 órán át autoklávoztuk. Lehűlést követően lamináris fülke alatt egy vegetatív micéliumos agar-koronggal beoltottuk. 25 °C-os átszövetést követően 2 °C-ra helyeztük.

c) Krioprezerváció

Maláta agaron fejlődő micélium szép régióiból, aszeptikus körülmények között 5-7 korongot fűrtünk ki. A korongokat 2 ml-es fagyasztócsövekbe vittük be. Ezekre annyi steril 10%-os glicerin oldatot mértünk, hogy a korongokat ellepje. Egy óra elteltével, 1 °C/perc sebességgel csökkentettük a hőmérsékletüket -40 °C-ig, majd folyékony nitrogénbe süllyesztettük. Kiolvasztás során a csöveket szobahőmérsékletre helyeztük, amíg a tartalmuk el nem érte a terem hőmérsékletét, majd egy oltótűvel maláta agarlemez felszínére helyeztünk egy-egy korongot a micéliumos felével lefelé.

4.2. TÖRZSEK ROKONSÁGI VIZSGÁLATAI RAPD-PCR MÓDSZERREL

A vegetatív micélium-tenyészet előállítása

250 ml mennyiségű steril malátás folyékony táptalajt oltottunk maláta lemezzről lekapart vegetatív micéliummal, két párhuzamosban. Álló kultúrában 25 °C-on végeztük a tenyésztést. Az inkubáció ideje 1,5 hónap volt. Ezt követően a vegetatív micéliumot aseptikus körülmények között szűrtük, majd kétszer mostuk steril desztillált vízzel. A micéliumot 50 ml-es Greiner-csövekbe helyeztük. Rövid centrifugálással a cső aljára gyűjtöttük a micéliumot, és a fölösleges folyadékot leöntöttük róla. Ezt követően azonnal -80 °C-ra fagyasztottuk tartalmukat, és 48 órán át liofilizáltuk. A száraz micéliumot steril dörzsmozsárba öntöttük és elporítottuk. A csövekbe történő visszatöltés után a micéliumporokat hűtőszekrényben tároltuk a kivonások megkezdéséig.

DNS-kivonás

A SHURE és munkatársai (1983) által közölt protokollt optimalizáltuk, gombasejtekből történő DNS kivonásra, lényegesen változtatva az eredeti módszeren. A DNS-izolálását a liofilizált vegetatív micéliumból kiindulva végeztük el. 30 mg liofilizált gombamintára 325 µl DNS izoláló puffert (0,6 M NaCl, 0,1 M Tris /pH 7/, 40 mM EDTA, 4% Sarcosyl, 1% SDS), 325 µl ureát (60 g urea 100 ml desztillált vízben oldva) és 6,5 µl 1 M Na₂O₅S₂-ot mértünk, majd 1 percig vortexeltük. A csöveket 37 °C-on 45 percig inkubáltuk. Az inkubálás 15. és 30. percében 15 s-ig vortexeltük a csöveket. Ezt követően 650 µl fenol : kloroform : izoamil-alkohol 25 : 24 : 1 arányú keverékével végeztük a fehérjék kicsapását, majd a csöveket centrifugáltuk 9500 g-n 7 percig. A felülúszót új csőbe vittük át. A fenol-kloroform kezelést még kétszer ismételtük. A vizes fázist új csőbe vittük, és 70 v/v% hideg izopropanollal kicsaptuk a nukleinsavat. 5 perc múlva centrifugáltuk a csöveket 9500 g-n 7 percig. A cső alján lévő nukleinsav pelletről leöntöttük az izopropanolt és 1000 µl 70%-os etanollal háromszor mostuk. A folyamat végén a nukleinsavat vákuumcentrifugában beszáritottuk, majd 80 µl 1×TE-pufferben beoldottuk. 2 µl RN-áz oldatot (10 mg/ml) hozzámérve 37 °C-on 45 percig inkubáltuk, majd -20 °C-ra helyeztük a csöveket.

A nukleinsav minőségét és mennyiségét NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, USA) spektrofotométerrel állapítottuk meg. A tisztaságot A₂₆₀/A₂₈₀ és A₂₆₀/A₂₃₀ abszorbancia hányadosok alapján minősítettük. A kivonatokat gélelektroforézissel is ellenőriztük. A gélelektroforézist 1×TBE pufferközegben, 1%-os agaróz gélen, 110 V-os feszültség mellett végeztük el.

RAPD-PCR

A RAPD-PCR optimalizálásokat követően vizsgálatainkban templátként 15 *Pleurotus eryngii*, külcsoporthként egy *Pleurotus ostreatus* izolátum DNS-ét használtuk. A DNS mintákat 200 ng/μl-es mennyiségre hígítottuk. A random dekamerek közül OpA és OpB primersorozat (Operon Technologies) használtuk. A PCR reakcióelegy mennyisége 25 μl volt, ami a következő összetevőket tartalmazta: 0,5 μl MgCl₂ (25 mM), 2,5 μl Taq puffer, 0,5 μl dNTP (10 mM), 1 μl primer (10 pM), 0,125 μl Taq polimeráz (5 U/μl; Fermentas, Canada), 2 μl templát DNS (200 ng/μl) és 18,375 μl MQ-víz. A PCR reakciókat Corbett Research Thermocycler (Corbett Life Science, Ausztrália) típusú készülékben hajtottuk végre, a következő beállítások szerint: elődenaturáció 95 °C, 2 perc; 35 ciklusban 94 °C 1 perc denaturáció, 34 °C 1 perc anelláció, 72 °C 1 perc extenzió; végül 72 °C 5 perc végső extenzió. Több primer esetében hőmérsékleti gradiens PCR-ben optimalizáltuk a megfelelő primerfeltapadási hőmérsékleteket.

A PCR termékeket gélelektroforézissel ellenőriztük. 1%-os GelRed festéket tartalmazó (Biotium, USA) agaróz gél készítettünk (SeaKem LE Agarose, Lonza), amelynek zsebeibe 8 μl PCR terméket vittünk. A gélelektroforézist 1×Tris Borát EDTA pufferben, 110 V-on 45 percen keresztül végeztük, 100 bp-os BenchTop létrát (Promega, USA) használva molekuláris méret markerként. A RAPD-PCR reakciót - a szükséges optimalizálásokat, majd a primerek szelekcióját követően - standardizált körülmények mellett hajtottuk végre, reprodukálható mintázatok nyerése céljából, három ismétlésben.

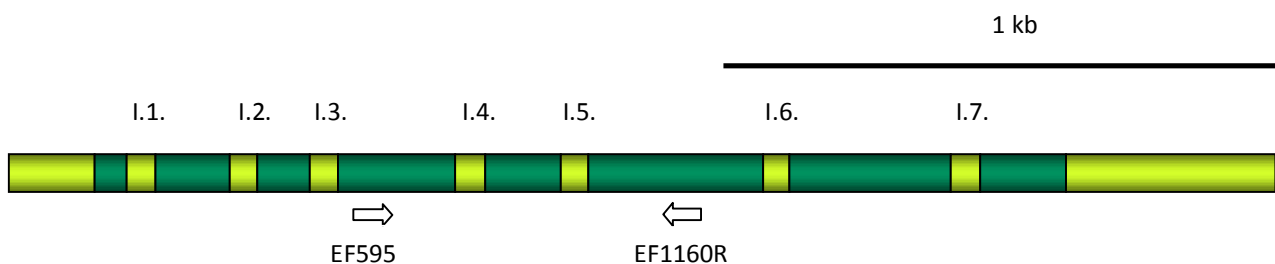
RAPD mintázat kódolása és rokonsági fa szerkesztése

Az értékelést három ismétlésben elvégzett RAPD mintázat alapján, vizuálisan végeztük el. A sávok előfordulását vagy hiányát binárisan kódoltuk. A primerenként összeállított binárisan kódolt mátrixból a távolságmátrixot a PHYLTOOLS segítségével készítettük el Nei-Li koefficiens alkalmazva. A mátrixból a PHYLIP program csomag NEIGHBOR programjával készítettünk neighbor-joining fát (NEI & LI, 1979; FELSENSTEIN, 1995).

4.3. *P. ERYNGII* IZOLÁTUMOK *TEF1 α* , *RPB2* SZEKVENCIAANALÍZISE

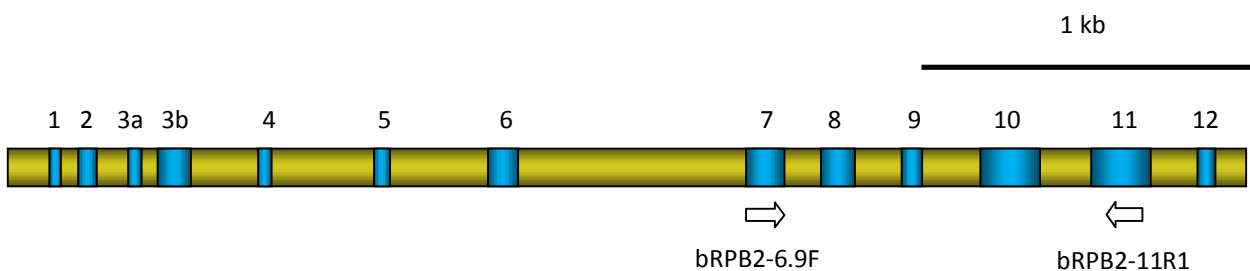
PCR és szekvenálás

Kísérleteinkben két régió (*tefla* és *rpb2*) szekvenciaanalízisét végeztük el a változatok elkülönítése céljából. A *tefla* lókuszt 550 bp hosszú szakaszt vizsgáltuk PCR reakcióban (1. ábra). A primerek a 4-6. exon régiót célozták meg, ami kiterjedt a 4-5. intron régióra is. A *tefla* vizsgálatához használt primerek szekvenciái a következők voltak: EF595F (5' CGT GAC TTC ATC AAG AAC ATG 3') és EF1160R (5' CCG ATC TTG TAG ACG TCC TG 3'). A várt amplicon mérete kb. 550 bp.



1. ábra. A transzlációs elongációs faktort (EF1 α) kódoló *tefla* génrészlet az általunk használt belső primerek feltapadásának helyeivel (nyilak). (A sárga szín az intronokat/I.1. – I.7./, a zöld szín az exonokat jelöli.) (WENDLAND & KOTHE 1997 adatai nyomán).

Az *RNS-polimeráz II* (*rpb2*) lókuszt közel 1100 bp hosszú régióját szintén PCR módszerrel vizsgáltuk. A primerek a 4-5. exon (7-11. domén) régiót amplifikálják (2. ábra). Az *rpb2* régió vizsgálatához a bRPB2-6.9F (=b6.9F) (5' TGG ACN CAY TGY GAR ATY CAY CC 3') és a bRPB2-11R1 (=b11R1) (5' TGG ATY TTG TCR TCC ACC AT 3') primereket használtuk. A várt amplicon mérete kb. 1100 bp.



2. ábra. A bazídiumos gombák *rpb2* lókusza (LIU et al., 1999 nyomán). A primerek pozícióját és a szintézis irányát a nyilak – méretarány nélkül – mutatják (kék színnel jelölve az eukariótákban konzervatív régiók).

A DNS kivonás során a RAPD-PCR analízis módszereiben leírtak szerint jártunk el. Első lépésben - az irodalomban található beállításoktól eltérően – a PCR reakció körülményeit optimalizáltuk. A primerföltapadási hőmérsékletet hőmérséklet-gradiens PCR-ben határoztuk meg. Ezt követően végeztük el a láncreakciókat a következők szerint:

Templátként a 16 *P. eryngii* törzs DNS-ét használtuk, amelyet a vizsgálat előtt 10 ng/μl-re hígítottunk. A PCR reakciót DreamTaq Kit (Fermentas) segítségével állítottuk össze. Egy reakcióelegy a következő mennyiségeket tartalmazta: 2,5 μl DreamTaq Buffer, 0,5 μl 25 mM MgCl₂, 0,5 μl 10 mM dNTP, 0,2 μl DreamTaq Polimeráz (5U/μl), 1 μl forward primer (5 pM/μl), 1 μl reverse primer (5 pM/μl), 2 μl templát DNS (10 ng/μl); 17,3 μl MQ víz. A mindkét primerpárra optimalizált PCR program a következő lépésekből állt: 1. 95 °C 3 perc; 2. 95 °C 5 s, 57 °C 10 s, 72 °C 30 s; 3. 72 °C 5 perc. A 2. lépésben 35× ciklusszámot alkalmaztunk. A PCR reakciókat Corbett Research Thermocycler (Corbett Life Science, Ausztrália) típusú készülékben hajtottuk végre.

Az amplikonokat GelRed-del (Biotium, USA) festett agaróz gélen (SeaKem LE Agarose, Lonza), elektroforézissel vizsgáltuk. A géltre 5 μl amplikont vittünk, 130 V-on, 1×Tris Borát EDTA pufferben 30 percen keresztül futtattuk. A gélelektroforézishez 100 bp BenchTop ladder (Promega, USA) méretmarkert használtunk.

Szekvenálás és a szekvenciák rendezése

A PCR amplikonokat EZ-10 Spin Column PCR Products Purification Kit (BioBasic Inc.) segítségével tisztítottuk a gyártó által meghatározott utasítás szerint. A tisztított amplikonokat az előzőekkel azonos körülmények között gélelektroforézissel vizsgáltuk.

A tisztított amplikonokból 10 μl-t szekvenáltattunk meg az LGC Genomics (Germany, Berlin) segítségével.

A szekvenálást követően a reverz primerrel kapott szekvenciáknak elkészítettük a reverz komplementer megfelelőjét a DNASTar programcsomag EditSeq programjával. Az egyes törzsekhez tartozó fragmenteket a ClustalX program segítségével összeillesztettük az ugyanazon törzshöz tartozó, forward primerrel kapott szekvenciákkal, majd az így teljessé váló szekvenciákat ugyanezzel a programmal illesztettük egymáshoz. Az illesztés során lehetővé vált az egyes törzsek között meglévő pontmutációk felderítése, amely a későbbiekben az egyes változatok azonosítását is megkönnyítheti. A szekvenciák illesztése után a BoxShade programmal tettük jobban láthatóvá, illetve könnyebben értelmezhetővé a törzsek közötti azonosságokat és különbségeket.

Az egyes törzsek végleges azonosítását az összeillesztett szekvenciáknak az NCBI adatbankjában (GenBank) történő BLAST keresésével végeztük.

RFLP analízis lehetőségének vizsgálata

A szekvenciaadatok illesztését követően, néhány törzs esetében pontmutációkat figyeltünk meg ugyanazon pozícióban. Ezek a kis különbségek pedig lehetőséget nyújthatnak a nukleotidcserét hordozó és nem hordozó törzsek közötti differenciálásra RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) módszerrel. Ennek érdekében *in silico* olyan restriktációs endonukleáz enzimeket kerestünk, amelyek ezeknél a pontmutációknál hasítják az amplikont. Ezt követően a hasított és nem hasított DNS-molekulák láthatóvá tehetők agaróz gélelektroforézissel.

A Restriction Mapper program segítségével végzett *in silico* hasítási próbákat követően két enzimet találtunk, amelyek képesek a két pontmutációt érintő régió hasítására. Az egyik enzim a BsmAI, a másik pedig a TspDTI volt. Az enzimek hasítási helye a következő:

BsmAI

5' GTCTC (N)₁↓ 3'

3' CAGAG (N)₅↑ 5'

TspDTI

5' ATGAANNNNNNNNNN↓ 3'

3' TACTTNNNNNNNNNN↑NN 5'

A két enzimmel elvégeztük az emésztést. A BsmAI (New England Biolabs, USA) emésztési elegy összetétele a következő volt egy reakcióra: 3 µl NE puffer 4, 1 µl BsmAI, 16 µl MQ víz, amelyhez 10 µl PCR amplikont adtunk. Az elegyet 55 °C-on 60 percen keresztül inkubáltuk.

Az előbbivel azonos mennyiségű amplikon használatával, a TspDTI (EURx, Lengyelország) emésztési elegyet az alábbi módon állítottuk össze egy reakcióra: 3 µl 1 × TspDTI puffer, 1 µl TspDTI, 16 µl MQ víz. Az emésztést 70 °C-on 3 órán keresztül végeztük.

4.4. TÖRZSEKBEN ELŐFORDULÓ DSRNS SPECIESEK VIZSGÁLATA IMMUNOBLOT MÓDSZERREL

Minták

A munka során 16 *P. eryngii* törzs liofilizált vegetatív micélium mintáit használtuk föl. Ezeket ugyanúgy állítottuk elő, ahogy azt a RAPD-PCR vizsgálat (4.2.) pontban leírtuk. A mintákat 50 ml-es Greiner-csőbe töltöttük, majd légmentesen lezártuk és -20 °C-on tároltuk a vizsgálatokig. A munkához mindenképpen tiszta vegetatív micéliumból kívántuk a nukleinsavat izolálni, mert véleményem szerint félrevezető eredményekhez juthatunk, amennyiben termőtestekből indulunk ki. Ennek oka, hogy a termőtestek nagyszámú baktériummal, és számos mikroszkopikus gombával lehetnek kolonizáltak vagy fertőzöttek. A mikofil, mikoparazita, esetleg kompetitor mikroszkopikus gombák szintén hordozhatnak mikovírusok jelenlétére utaló dsRNS molekulákat (ezeket korábban

sikerült igazolnunk), így ezek jelenléte esetén, a termesztett gombafaj törzsének, hibridjének negativitása ellenére is kaphatunk álpozitív eredményt. Ez mindenképpen téves következtetésekhez vezetne az adott termesztett gombára (adott termőtestre) vonatkozóan. (Úgy gondolom, hogy hasonló okok miatt, több a tévesen publikált eredmény a kétspórás csiperkegomba esetében is.)

Teljes nukleinsav kivonatok kinyerése

A munkát a BCE Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszékén végeztük el. A nukleinsav kivonásokhoz, a növényi nukleinsav kivonatok készítéséhez általánosan használt protokoll (LUKÁCS, 1994) átdolgozott változatát alkalmaztuk.

A liofilizált vegetatív micélium mintát szárazon dörzsmozsárban elporítottuk, majd 50 ml-es Greiner-csövekben tároltuk. A kivonás megkezdésekor új, steril 50 ml-es Greiner-csöveket 10 ml-es jelig töltöttük a gombaporral, és még szárazon hozzáadtunk: 400 µl merkaptotetanolt, 2% PVP-t (polivinil-pirrolidin). Rámértünk 65 °C-ra előmelegített 20 ml CTAB alapú *1. puffert* (2% CTAB; 0,1 M Tris-HCl /pH 8,0/; 20 mM EDTA; 1,4 M NaCl), majd 65 °C-on inkubáltuk fél órán keresztül, időnként a csövek tartalmát kézzel átráztuk. Ekvivalens mennyiségű (kb. 20 ml) kloroform : izoamil-alkohollal (24:1) kicsaptuk a fehérjéket, közben vortexeltük. A csöveket centrifugáltuk 4500 g-n, 15 percig szobahőmérsékleten, és a felső vizes fázist átpipettoroztuk egy tiszta csöbe. Ehhez a fázishoz hozzámértünk 4 ml-t a *2. pufferből* (5% CTAB; 0,1 M Tris-HCl /pH 8,0/; 20 mM EDTA; 0,35 M NaCl), majd hozzátettünk 1 térfogat (20 ml) kloroform – izoamil-alkoholt. Alapos vortexelést követően centrifugáltuk 4500 g-n 15 percig szobahőmérsékleten. Elválasztottuk a felső vizes fázist, és egy tiszta csöbe három térfogatnyi *3. puffert* adtunk hozzá (1% CTAB; 50 mM Tris-HCl /pH 8,0/; 10 mM EDTA). Ennél a lépésnél a csövek száma megkétszereződik. A csöveket összeráztuk és szobahőmérsékleten inkubáltuk legalább 1-2 órán keresztül (vagy egy éjszakán át). A csöveket 3500 g-n 6 percig szobahőmérsékleten centrifugáltuk. A felülúszót elöntöttük, a pelletet pedig 2 ml *4. TE pufferben* vettük fel (10 mM Tris-HCl /pH 8,0/; 1 mM EDTA; 1 M NaCl). Az oldatot 10 percig 65 °C-on inkubáltuk vízfürdőben. A csövek tartalmát 2 térfogat abszolút etanollal kicsaptuk, 4 °C-on 15-60 percig inkubáltuk, majd centrifugáltuk 4500 g-n 15 percig szobahőmérsékleten. A felülúszót leöntöttük, a pelletet 70%-os etanollal mostuk, centrifugáltuk. A pelletet 37°C-on inkubátorban beszárítottuk, végül körülbelül 300-500 µl 0,1×TE pufferben vettük fel (1 mM Tris-HCl /pH 8,0/; 0,1 mM EDTA).

Poliakrilamid gélelektroforézis (PAGE)

A nukleinsav-kivonatokkal végzett kísérleteinkben az elektroforézist 5%-os nem-denaturáló poliakrilamid (PAA) gélen végeztük 1×TBE (89 mM Tris; 89 mM bórsav; 2,5 mM EDTA) elektroforézis-pufferben. A mikovírusok többségében előforduló dsRNS szakaszok (5 kb alatt) 5%-os PAA gélen viszonylag élesen elválaszthatóak. A gélben az akrilamid : bisz-akrilamid arány 30 : 0,8 volt. A felvitt mintához egyharmad térfogat $4 \times$ töménységű futtatópuffert adtunk, és együttesen nem haladhatták meg a zseb 60 µl-es befogadóképességét. A zsebenkénti mintamennyiség általában 40 és 60 µg között mozgott, ennél kisebb mennyiséget csak azokban az esetekben alkalmaztunk, ahol a törzsoldat a kelleténél alacsonyabb koncentrációja ezt nem tette lehetővé. A gél 180 V-on futtattuk.

A módszer részletes leírása

Az üveglapokat és az 1 mm vastag távtartókat etanollal zsírtalanítottuk és megszáritottuk. Kevés vazelinnel egyenletesen bekentük a távtartókat, melyek segítségével összeillesztettük az üveglapokat, és kapcsokkal rögzítettük azokat.

30 ml akrilamid-oldatot készítünk az alábbi komponensekből: 4,96 ml 30% akrilamid - 0,8% bisz-akrilamid törzsoldat; 18,81 ml Milli-Q víz; 6 ml 5×TBE puffer. Az oldatban található levegőt vákuumkamra segítségével távolítottuk el, majd a következő vegyületek hozzáadásával indítottuk el a polimerizációt: 0,21 ml 10%-os APS (ammónium-perszulfát) és 0,01 ml TEMED (tetrametil-etilén-diamin). Az oldatot buborékmentesen az üveglapok közé öntöttük, majd TEMED-del nedvesített fésűvel képeztük ki a zsebeket. Polimerizációt követően eltávolítottuk a fésűt, és a zsebeket Milli-Q vízzel mostuk ki. A gél üveglapokkal együtt a tankba helyeztük, és a kádat 1×TBE pufferrel töltöttük föl.

A mintákhoz használt mintapuffer (LB) összetétele a következő volt: brómfenolkék 0,25%; xilén-cianol 0,25%; glicerol 40%; 6×futtatópuffer 59,5%. A mintákat Hamilton fecskendővel vittük a zsebekbe. Az elektroforézist 180 V-on végeztük. Amikor a brómfenolkék front elérte a gél alját, leállítottuk az elektroforézist.

Immunoblot

a) Elektroblot

Vizsgálataink során Zeta Probe (BioRad) membránt alkalmaztunk, míg a blottolást Semi-Dry (BioRad) készüléssel végeztük. Konstans 1,2 A áramerősség és 15 V feszültség mellett 30 percig blottoltunk a futtatópufferben. A poliakrilamid gélét óvatosan kiszabadítottuk az üveglapok közül, majd 1×TBE pufferral felöntött kádban ráúsztattuk a membránra és két réteg benedvesített szűrőpapírra helyeztük. Ezt követően lefedtük még két réteg beáztatott szűrőpapírral, és a buborékokat kipréseltük, mert azok megakadályozzák a nukleinsavak transzferét. A felismerhetőség érdekében a membrán egyik sarkát levágtuk.

b) Előhívás

A további inkubálás során ügyeltünk arra, hogy a filter nukleinsavakat kötő oldala mutasson felfelé, hogy az inkubáció során folyamatosan és egyenletesen érintkezzen az inkubáló reagenssekkel. A membrán még szabad kötőhelyeit blokkoló oldattal telítettük. Ehhez, kísérleteinkben hideg szobában rázatva, egy éjszakán keresztül az alábbi oldatban inkubáltuk a membránt: 0,5% Blocking Reagent (*Boehringer*); 0,02% NaN₃; 1×PBS oldatban (20 ml 0,5 M KPi /pH=7,0/; 8,75 g NaCl; 1000 ml Milli-Q víz) oldva.

A membránt dsRNS-specifikus J2 monoklonális ellenanyaggal inkubáltuk 2 órán keresztül szobahőmérsékleten, rázóasztalon. Ez az ellenanyag szelektíven megköti a kettős szálú RNS-eket: J2 hibridóma felülúszó - 1 tf; 1×PBS + 1% BSA - 2 tf. Kétszer 15 percig mostuk a membránt 1×PBS + 0,1% Triton X-100 oldatában szobahőmérsékleten. Inkubáltuk az alkalikus foszfatázzal konjugált másodlagos antitesttel, amely „Goat Anti Mouse IgG (H+L)” (Jackson Immunoresearch, USA) volt. Az ellenanyagot 3000-szeresre hígítottuk 1×PBS + 2% BSA oldatában. Rázóasztalon két órán keresztül, szobahőmérsékleten inkubáltuk. Kétszer mostuk 15 percig.

Az immunoblot előhívásához BCIP-NBT oldatot használtunk, amely az alkalikus-foszfatáz szubsztrátja (NBT /4-nitroblue-tetrazolium chloride/: 175 mg/ml törzsoldat, 70%-os dimetil-formamid /DMF/-ben oldva; BCIP /5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate disodium salt/: 340 mg/ml törzsoldat, 70%-os DMF-ben oldva). Az előhívó oldat összetétele: 40 ml puffer (2 mM MgCl₂, 100 mM NaCl, 100 mM Tris-HCl /pH 9,5/); 140 µl BCIP törzsoldat; 180 µl NBT törzsoldat. A szubsztrát-inkubálás befejezéseként a blottot desztillált vízzel lemostuk, majd beszkeneltük a membránt. Papírlapok között megszáritva a membrán sötétben jól tárolható.

4.5. *P. ERYNGII* TÖRZSEK VEGETATÍV MICÉLIUMÁNAK NÖVEKEDÉSI TESZTJEI

Munkánk során 15 törzs vegetatív micéliumának növekedéséről kívántunk képet kapni különböző körülmények között. A kísérletben *in vitro* vizsgáltuk a 15 törzs növekedését különböző hőmérsékleten, kémhatáson, fényben és sötétben inkubálva, levegőn és oxigéntől elzártan, valamint változó ozmotikus viszonyok mellett. Szintén vizsgáltuk a törzsek egységnyi idő alatt kifejlődő száraz micéliumtömegét. A munka során, a termesztői körökben népszerű *Pleurotus ostreatus* Gyurkó HK 35 hibrid további keresztezéséből származó, Korona 357-es üzemi hibridet is fölhasználtuk (amely az eredmények grafikonjain „*P.o.*” névvel szerepel).

Hőmérséklet hatásának vizsgálata

A hőmérsékleti vizsgálatokhoz maláta lemezek közepét inokuláltuk a 15 törzs azonos korú, 10 napos vegetatív tenyészetével. Az oltáshoz 0,8 cm átmérőjű, steril dugófúróval készített, micéliumos agarkorongokat használtunk. Minden törzs esetében 3 párhuzamost állítottunk be. Az inkubációt a következő hőmérsékleteken végeztük: 5-10-15-20-25-30-35 °C. Az idő függvényében, törzsenként vizsgáltuk a micélium növekedési ütemét, és regisztráltuk, hogy az egyes törzsek mikor érik el a maximális telepátmérőt.

Kémhatás vizsgálata

A vizsgálatokhoz szintén maláta lemezeket használtunk, amelyek kémhatását 1 M-os HCl-dal vagy 1 M-os NaOH-dal állítottuk be pH=4-9 közötti értékekre, 0,5-es lépésekben. Az inokulálás a hőmérsékleti vizsgálatokkal azonos módon történt, három párhuzamosban. A lemezeket 24 °C-on inkubáltuk. Szintén fölhasználtuk a vizsgálatokban a K 357 üzemi hibridet. Ebben az esetben is vizsgáltuk, a vegetatív micélium növekedési ütemét a maximális telepátmérő eléréséig.

Fényben és sötétben történő növekedés vizsgálata

A munka során 6-os pH értékre beállított maláta lemezeket használtunk. Az oltásokat három-három párhuzamosban, a fentiekkel azonos módon végeztük el. Minden törzsből hat lemezt oltottunk. Három lemezt 23 °C-ra, teljesen sötét körülmények közé helyeztünk, három lemezt pedig szintén 23 °C-ra helyeztünk úgy, hogy napszakos fény-sötét periódust kaptak a tenyészetek. A telepátmérőket a 7. napon regisztráltuk.

Száraz micéliumtömeg vizsgálata

A telepátmérő önmagában nem minden esetben alkalmas a gomba vegetatív micéliumtömegének vizsgálatára, ugyanis a törzsek változó mértékben képezhetnek különböző

lefutású dúsabb vagy vékonyabb légmicéliumot, illetve szubsztrátmicéliumot. A folyadéktesztek helyett maláta lemezekre helyezett celofánfilmen végeztük a törzsek növesztését. 8,5 cm átmérőjű celofánlapokat 105 °C-on tömegállandóságig szárítottuk, majd bemértük a tömegüket. Ezt követően autoklávban 121 °C-on 20 percig sterilizáltuk, és a maláta lemezek felszínére helyeztük. A celofán közepét inokuláltuk, és 7 napig 25 °C-on inkubáltuk a lemezeket. A 7. napon leemeltük a celofánt a micéliummal minden lemezről, és 105 °C-on tömegállandóságig szárítottuk. A száraz celofán és gomba együttes tömegéből kivonva a celofán tömegét, megkaptuk a törzsek azonos korú, száraz vegetatív biomassza tömegét. Vizsgáltuk a 25 °C-on történő micélium-növekedés és a celofánon mért biomassza-gyarapodás összefüggését.

A micélium anaerobitás toleranciája

Az anaerobitás tolerancia vizsgálatokhoz a törzseket maláta lemezek (pH 6) közepére oltottuk. Egy törzsből 6 lemezt oltottunk. 3 napig normál légköri gázösszetételen, 25 °C-on inkubáltuk, hogy meggyőződjünk az inokulumból induló micélium életképességéről. Ekkor lemértük a telep átmérőjét, és a 6 lemezből 3 lemezt anaerob jarba helyeztünk, hármat pedig hagytunk normál légköri gázösszetételen. A jarokba a levegő eltávolítását követően 10% H₂, 10% CO₂ és 80% N₂ gázelegyet töltöttünk. A jarokat 25 °C-os termosztátba helyeztük, majd vizsgáltuk a telepek átmérőjét a 7. napon a normál légköri összetételen inkubált lemezekkel párhuzamosan. Az inkubálást követően mért telepátmérőkből kivontuk a kiindulási telepátmérőket.

Ozmotikus koncentráció vizsgálata

A munka során két ozmotikum, a NaCl és a glükóz különböző koncentrációinak a hatását vizsgáltuk a vegetatív micélium növekedésére. A glükózzal kapcsolatban fontos megemlíteni azt, hogy elektron- (hidrogén-) donor és szénforrás szerepét is betölti a táptalajban. A vizsgálatok során a törzseket itt is maláta lemezek (pH 6) közepére oltottuk. Előkísérletek eredményeit követően meghatároztuk az alkalmazandó koncentrációk tartományát, mindkét ozmotikum esetében. A koncentrációk a NaCl esetében 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, míg a glükóz esetében 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 17,5% voltak. A kontroll lemezek általános mikológiai maláta agart tartalmaztak. A vizsgálatokban három párhuzamost használtunk.

Az egyes vizsgálati területeknél megfigyeltük a befolyásoló tényezők egymással való kapcsolatát korreláció-számítás segítségével, a Spearman-féle korrelációs együttható számításával. A mutató értéke jelzi a kapcsolat szorosságát, az együttváltozás mértékét. Amennyiben az érték 1-hez közeli, azt jelzi, hogy a két változó kapcsolata szoros. Abban az esetben, ha a mutató értéke nullához közelít, a két változó kapcsolata laza (ORBÁN, 1995).

4.6. TÖRZS-ÖSSZEHASONLÍTÓ TERMESZTÉSI KÍSÉRLETEK

Szaporítóanyag előállítás

Szaporítóanyagként rozs alapú szemcsírat állítottunk elő a rendelkezésünkre álló 16 törzsből (PEA; PEP; PES; PEG; PEF-i; PE-SZM; PEF; PEC; PEL; PEK; Ple-1V; Ple-2V; Ple-3V; Ple-4V; Ple-5V; Ple-6V). Ehhez 5,5 l rozst főztünk meg, majd lecsöpögtetést követően, finom modell gipsszel forgattuk át úgy, hogy a szemek felületén vékony gipszréteg alakuljon ki. A gabonaszemeket 500 ml-es Erlenmeyer-lombikokba töltöttük, 200 g töltőtömeggel. A lombikokat zártuk, és a rozst 121 °C-on 2 órán keresztül autoklávban sterilizáltuk. A lombikok lehűlését követően, a rozs alapanyagot maláta agaron fejlődő 7 napos, 1,5-2 cm átmérőjű agarkoronggal oltottuk be, aszeptikus körülmények között. A 25 °C-os inkubáció ideje alatt – amikor a micélium elérte a 8-10 cm átmérőt – egyszer fölráztuk a lombikok tartalmát, majd folytattuk az inkubálást az alapanyag teljes átszövődéséig. A teljes, egyenletes átszövetést követően a lombikokat felhasználásig 5 °C-os hűtőszekrénybe helyeztük.

Alapanyag összetétele

A szubsztrátum töltésére 2000 ml-es polipropilén zsákokat használtunk, amelyekbe 900 g nedves alapanyag-keverék került. A szubsztrátum összetétele százalékos bontásban, légszáraz alapanyagra vonatkoztatva a következő volt: bükk fűrészpor 65%; búzakorpa 17%; bükkfa-forgács 9%; gipsz 3,5 %; szója dúsító (Promycel 480) 5,5%. (Egy zsákra számított mennyiségek: bükk fűrészpor 229,647 g; búzakorpa 59,052 g; bükkfa-forgács 32,806 g; gipsz 12,029 g; Promycel 450 szója alapú dúsító 19,684 g). Az alapanyag nedvességtartalmát 60%-ra állítottuk be (egy zsákra vonatkoztatva, az alapanyagok nedvességtartalmával kalkulálva: 353,218 g légszáraz alapanyag-keverékre 546,78 ml vizet mértünk). 16 törzsszel dolgoztunk, és a párhuzamosoknak megfelelően szoroztuk föl az összetevők mennyiségét. Az elkészült alapanyagokat papírdugóval zártuk, alufóliával fedtük, és 121 °C-on 2,5 órán keresztül autoklávban sterilizáltuk. A szubsztrátumot, lehűlést követően 10 m/m%-os oltási rátával csíráztuk be, lamináris fülke alatt.

Szubsztrátum szárazanyag- és nitrogéntartalom meghatározása

Mintavételeket követően meghatároztuk a 16 törzs kiindulási és letermett alapanyagainak szárazanyag-tartalmát, 105 °C-os tömegállandóságig történő szárítást követően. Megadtuk a kiindulási alapanyag és a letermett alapanyagok szárazanyag-tartalmának, valamint termesztés előtti és utáni nedvességtartalmának különbségeit. Az alapanyagok nitrogéntartalmát hagyományos Kjeldahl-módszerrel határoztuk meg, amelyhez roncsolást követően Büchi B-324 készüléket használtunk. (A módszerek leírása a 4.8. pontban olvasható).

Az oltás

A sterilizálást követően lehűlt alapanyagok beoltása lamináris fülke alatt történt. Az oltási ráta - relatíve magas - 10% volt, ami egyben tovább dúsította az alapanyagot. A beoltást és zárást követően, a zsákok tartalmát alaposan elkevertük a csírával.

Termesztés

A zsákok beoltását és homogenizálását követően, 25 °C-os helyiségekben végeztük az átszövetést. A fenti, emelt csírázási ráta mellett, a szubsztrátum az összes törzs esetében a 10. napra egyenletesen átszövődött, így a beoltástól számított 10. napon 10 °C-ra helyeztük az összes átszövetett alapanyag-keveréket. A 12. napon a zsákok száját legyűrtük, majd elvégeztük a csiperkegomba termesztésben is használt, fertőtlenített tőzeg alapú takaróanyaggal 3 cm vastagságban a takarást, majd a permetező beöntözést, végül a felszint fátyolfóliával fedtük. A takarástól kezdve 12-12 órás fény/sötét periódust alkalmaztunk, 95%-os relatív páratartalom mellett. A 15. napon, a fóliatakarást megtartva, a levegő hőmérsékletét 17,5 °C-ra emeltük, a relatív páratartalmat 95%-on tartottuk. A 17. napon az első zsákokon, a takaróföld pereménél a micélium felfutott a takaróföld felszínére. A 19. napon eltávolítottuk a fóliatakarást, ami a CO₂-szint 800 ppm alá történő csökkenése révén, elősegítette a termésindukciót.

A primordiumok kialakulását követően, a termésfejlődés idején a hőmérsékletet 19 °C-ra emeltük. A termesztés teljes ideje alatt permetezéssel naponta nedvesítettük a termőfelszint, padozatot, falakat. A termésfejlődés ideje alatt 19 °C (+/- 2 °C) teremhőmérsékletet, 95%-os relatív páratartalmat és kevesebb, mint 800 ppm alatti CO₂-szintet tartottunk.

Termesztési tulajdonságok vizsgálata

Pontosan regisztráltuk a termőidőszak alatt betakarított termés mennyiségét, és a termőtestek számát, amelyeket 100 kg alapanyagra vonatkoztatva adtunk meg. A törzsekről fejlődési stádiumonként fotódokumentációt és szöveges leírást készítettünk a legfontosabb jellemzőik figyelembevételével. Meghatároztuk a törzsek hullámainak alakulását, a szedési napokat és az átlagos termőtest tömegeket. Minden törzs esetében biológiai hatékonyságot (BE, %) és produktivitást (P, %) határoztunk meg a kiindulási és letermett alapanyagra vonatkozóan. Biológiai hatékonyság a friss gomba tömegének (FGT)/száraz alapanyag tömegének (ST) a hányadosa $\times 100$ ($BE \% = FGT/ST \times 100$) (STAMETS, 2000). Produktivitás a friss gomba tömege (FGT) és a szubsztrátum friss tömegének (SFT) hányadosa $\times 100$ ($P \% = FGT/SFT \times 100$) (ANDRADE et al.,

2007). A BE (%) és a P (%) meghatározását a letermett és a kiindulási alapanyagok vonatkozásában is elvégeztük, sőt a kettő különbségét is kifejeztük. A kiértékelésben nem csak a törzsek, hanem a törzsek átlageredményeiből következtetve, a faj vonatkozásában várható átlagos termésmennyiséget, termőtest-számot és átlagos termőtest-tömeget is meghatároztunk.

A biológiai hatékonysággal és a produktivitással kapcsolatban is felmerültek kérdések a fajjal kapcsolatban:

1. A nevezőben szereplő alapanyag friss tömeget átszövetés előtt vagy letermesztés után kell-e mérni? Mindkét esetet megvizsgáltuk és mindkét esetben végeztünk BE (%) és P (%) meghatározást.
2. Amennyiben takarással történik a termesztés az alapanyag-tömegbe beleszámoljuk-e a takaróföldet? A takaróföld tömegével nem számoltunk, hanem kizárólag a szubsztrátum tömegével kalkuláltunk, de fontos megemlíteni, hogy maga a termesztés, takarással történt. A kiindulási alapanyag száraz és nedves tömegét pontosan meghatároztuk. A letermett alapanyagról eltávolítottuk a takaróföldet, és így mértük vissza a nedves alapanyag-tömegét, majd ezt követően határoztuk meg a letermett szubsztrátum száraz tömegét.
3. Milyen morfológiai bélyegek azok, amelyek jelzik a friss termés szedésérettségét? Nehézséget jelentett a kísérletek során, hogy a termőtestek nem azonos fejlettségi stádiumúak és csoportosan fejlődnek. Ebből kifolyólag a legfejlettebb termőtesthez igazítottuk az adott csokor szedését. Ezek alapján, az egy csoportban fejlődő termőtestek közül, a legfejlettebb termőtest kalapszélének kiterülése idején az egész termőcsokrot leszedtük.

Korreláció és klaszter analízis

Az alapanyag-vizsgálatok eredményei és a termésmennyiségek ismeretében a következő kérdésekre is kerestük a választ: a) Összefügg-e a szubsztrátum száraz tömegének vesztesége a termésmennyiséggel? b) Van-e korreláció a nedves alapanyagok tömegvesztése és a termés mennyisége között? c) Kimutatható-e összefüggés a letermett alapanyag összes nitrogéntartalma és a termésmennyiség között? A kérdések megválaszolásához Pearson-féle korrelációanalízist végeztünk, amelyhez SPSS 15 programot használtunk.

A törzsek termésmennyiség alapján történő csoportba rendezéséhez Tukey-féle korrelációanalízist végeztünk SPSS 15 programmal. Az analízissel arra kerestük a választ, hogy a termésmennyiségek alapján, mely törzsek sorolhatóak azonos csoportba.

4.7. TAKARÁSRA VONATKOZÓ TERMESZTÉSTECHNOLÓGIAI KÍSÉRLETEK

A terméseredmények és a termésminőség alapján kiválasztott PES törzzsel, a termesztéstechnológia tökéletesítése céljából újabb kísérleteket állítottunk be. Kísérletünkben választ kerestünk arra, hogy sterilizált szubsztrátumon milyen hozamokat és milyen termésminőséget kapunk, ha takarás nélkül termesztünk, vagy különböző takaróanyagokat, takaróanyag-keverékeket, különböző rétegvastagságban alkalmazunk.

Szaporítóanyag

Üzemi szinten állítottuk elő a PES törzs szaporítóanyagát az Országos Korona Gombaipari Egyesülés (OKGE), Gombacsíra Üzemében és Fajtakutató Laboratóriumában. A gyártás során Petri-csészés vegetatív micélium-tenyészetből kiindulva köles alapú anyacsírárt, majd búzakorpa és perlit alapú oltóanyagot állítottunk elő. Az oltóanyag segítségével készült el a gomba szaporítóanyaga (gombacsíra).

Az anyacsíra-előállítás során a kölest megfőztük, majd felületét gipsszel vontuk be, és 500 ml-es Erlenmeyer-lombikokba töltöttük. A lombikokat zárást követően 121 °C-on 2 órán keresztül sterilizáltuk. A lehűlt steril alapanyagot egy darab 2 cm átmérőjű, maláta agaron fejlődött vegetatív micéliumos agarkoronggal oltottuk be. Az anyacsírárt 25 °C-on inkubáltuk, a 7-8. napon főlráztuk, majd az átszövetést követően hűtőszekrénybe (5 °C) helyeztük.

Az oltóanyagot nedvesített perlit (90%), búzakorpa (10%) alapú keveréken állítottuk elő. A keveréket, 10 literes polipropilén zsákokba (Mycelia SACO₂, Belgium) 5 literes mennyiségben töltöttük be. A zsákokat 126 °C-on autoklávban sterilizáltuk 2 órán át, majd tisztatéri laboratóriumi feltételek mellett, hűlést követően, oltottuk a törzsek anyacsírájával 3-5%-os oltási rátával. 25 °C-on inkubáltuk a zsákokat átszövődésig, majd 2 °C-on tároltuk felhasználásig.

A gombacsírárt üzemi körülmények között állítottuk elő főzött rozson. A 43-47% nedvességtartalmú főtt rozs felszínét CaSO₄ és CaCO₃ 1:1 arányú keverékével vontuk be keverődobban, majd filterrel rendelkező 15 literes polipropilén zsákokba (Mycelia SACO₂, Belgium) 10 literes mennyiségben (kb. 7 kg) töltöttük be. A zsákokat 2 órán keresztül, 126 °C-on autoklávban sterilizáltuk, majd lehűlést követően, tisztatéri laboratóriumi körülmények között oltottuk 3-5% mennyiségű anyacsírával. Zárást, homogenizálást követően a beoltott alapanyagot 25 °C-os átszövő helyiségben inkubáltuk. Az inkubáció ideje alatt ráztuk, majd formáztuk a zsákokat, és 20 °C-on teljes átszövődésig inkubáltuk. Ezt követően 10 °C-on 5 napig előhűtöttük, majd felhasználásig 2 °C-on tároltuk a gombacsírárt.

Szubsztrátum előállítás

A szubsztrátumot az OKGE Gombacsíra Üzemében állítottuk össze. A termesztőközeg összetétele a következő volt: 60% tölgyfa fűrészpor, 10% kis szemcseméretű tölgyfa forgács, 5% darált búzaszalma, 23% főzött rozs. Az alapanyagokat - a rozs kivételével - 3 órán keresztül áztatással előnedvesítettük, majd keverőben homogenizáltuk. A felesleges nedvesség kezelése, és az alapanyag kémhatásának beállítása érdekében, gipsz-kőpor 1:1 arányú keverékét 2% mennyiségben kevertük a szubsztrátumba. A kiindulási alapanyagok előnedvesítése és összekeverése után, az alapanyag-keverék nedvességtartalmát 65%-ra állítottuk be, majd 15 literes, filterrel rendelkező polipropilén zsákokba (Mycelia, SACO₂, Belgium) töltöttük. Egy zsákba 4 kg szubsztrátum került, amelyeket 126 °C-on 2 órán keresztül sterilizáltunk üzemi autoklávban. Az alapanyagot sterilizálást és lehűtést követően 5% rozs alapú szemcsírával oltottuk, és kezdetben 25 °C-on, majd a zsákok formázását követően 20 °C-on szövettük át. Az átszövetés közel 3 hétig tartott, majd az átszőtt blokkokat 2 hétig 10 °C-os hűtőtérben tároltuk. A hibátlanul, egyöntetűen átszőtt blokkokat a Budapesti Corvinus Egyetem üvegházában helyeztük el, kezelésenként random elrendezésben. Egy-egy blokk felülete $28 \times 32 \text{ cm} = 896 \text{ cm}^2$ (kb. 900 cm^2), tömegük 4 kg volt.

Takaróanyaggal, takaróanyag-keverékkel és örlött mészkőporral végzett termesztési kísérletek

A kezelésenkénti 10 blokkot szorosan egymás mellé helyeztük, felső részükről levágtuk a polipropilén fóliát, s az előre elkészített takaróanyaggal, takaróanyag-keverékkel 1 cm, 2 cm és 3 cm, míg a tiszta kőporral 1 cm és 2 cm vastagságban letakartuk. Takarás után a blokkokat rögtön megöntöztük. A takaratlan blokkok felületéről is levágtuk a fóliát. A kísérlet beállítását az *M.2.6. melléklet M.2.6.1. és M.2.6.2. ábrái* szemléltetik.

A kísérleti időszakban naponta, ugyanabban az időpontban, különböző helyeken mértük a szubsztrátum maghőmérsékletét, a levegő maximum és minimum hőmérsékletét, továbbá a páratartalmat. A termőidőszakban a szükségesnek ítélt páratartalmat automata párasítóval biztosítottuk. A különböző takaróanyagoknál és takaróanyag-keverékeknél a takarás után alapos öntözést végeztünk, kis víznyomással és szakaszosan, hogy az egész takaróanyag-réteg alaposan átnedvesedjen. A továbbiakban már nem öntöztünk, mert az automata párasítót úgy állítottuk be, hogy a 90% körüli relatív páratartalom folyamatosan biztosítva legyen. A „hagyományos” takaróanyaggal és a takaróanyag-keverékkel takart blokkok felét, minden takaróanyag-vastagságnál, a csiperkegombánál megismert gyakorlat szerint, az alapos öntözés után letakartuk újságpapírral, amelyet csak akkor távolítottunk el, amikor a takaróanyag felületén megkezdődött a „sodródás” (primordium-képződés). A takarástól számított 6. napon a blokkok felét a csiperkegomba

termesztésében bevált módszer szerint, valamennyi kezelésnél borzoltuk. Erre való irodalmi hivatkozást eddig nem találtunk, de bízunk abban, hogy a csiperkegombánál már megismert módszer ennél a gombafajnál is sikeres lehet: nevezetesen, hogy a borzolt felületen a termőtestek majd kevésbé csokrosan fejlődnek. A csokrosodás a fajra jellemző sajátság, de termesztési szempontból nem kedvező. A termőtestek képződéséhez az üvegházba besütő nap biztosította a megfelelő fényt. Erőteljes napsütés mellett árnyékolunk. A takarást követő 14. napon kezdtük el a szedést. A termőidőszak 5 hétig tartott, ez alatt az idő alatt mindegyik kezelésből 3 hullámot szedtünk le. Minden kezelésnél külön-külön mértük a termésmennyiséget. Valamennyi kezelésnél följegyeztük a terméshullámok idejét, a hullámvölgyek napjait, továbbá mindegyik kezelésnél kiszámoltuk, hogy melyik hullámban hány százaléka termett az összes mennyiségnek, illetve hogyan alakult az egyes kezeléseknél a terméshullám napjainak száma.

4.8. MIKROELEM-DÚSULÁS VIZSGÁLATA A TERMŐTESTEKBEN

A vizsgálatok során a lignocellulóz szubsztrátumhoz adagolt Zn, Mn és Se esszenciális mikroelemek dúsulásának mértékét vizsgáltuk a faj termőtestjeiben. A munka során három kérdésre kerestük a választ:

- Képes-e a faj (pontosabban a kísérletbe bevont törzs) az elemeket termőtestjeiben jelentős mértékben fölhalmozni vagy akkumulálni?
- Az elemdúsulás vagy akkumuláció eredményeképpen van-e lehetőség gomba alapú funkcionális élelmiszer előállítására?
- A dúsulás mértéke – az alkalmazott koncentrációk függvényében – rejthet-e magában humán toxicitási veszélyeket?

Törzs és csíra

Kísérleteinkben a PES jelű törzset használtuk, így ebből a törzsből készítettünk gombacsírárt, a „takarásra vonatkozó termesztéstechnológiai kísérletek” (4.7.) részben leírtaknak megfelelően.

Szubsztrátum összeállítása

A szubsztrátum aprított búzaszalmát, kocsánytalan tölgy fűrészport, főtt rozst és gipszet tartalmazott. A rozst megfőztük, a forgácsot, fűrészport és szalmát két-három órán át előáztattuk, majd használat előtt rácson lecsöpögtettük. Az alapanyagok és adalékanyagok mennyisége a következő volt: fűrészpor-forgács keverék 37,6%; szalma 11,28%; főzött rozs 48,9%; gipsz 2,25%.

Az alapanyagokat keverőben homogenizáltuk, majd halmokba öntöttük le (*M.2.8. melléklet M.2.8.1. ábra*). Az alapanyag-keveréket 15 literes, filterekkel rendelkező, polipropilén (Mycelia, SACO₂, Belgium) zsákokba töltöttük, pontosan 4-4 kg mennyiségben (*M.2.8. melléklet M.2.8.2. ábra*). Adott kezelésre 3 zsákkal számoltunk, ami összesen 12 kg szubsztrátum mennyiséget jelentett. Ezt követően a három zsák tartalmát egy tiszta felületre öntöttük le, majd szórófejes flakonnal, folyamatos átkeverés mellett, egyenletesen rávittük az adott mikroelem megfelelő mennyiségét.

A kísérletben a cink, mangán és szelén következő vegyületeit használtuk föl: cink-klorid (ZnCl₂), mangán-klorid (MnCl₂) és nátrium-szelenit (Na₂SeO₃). Az alapanyagok elemtartalmát 50, 150, 300 és 600 ppm mennyiségre kívántuk beállítani. Minden elemből 150 ppm-es törzsoldatot készítettünk úgy, hogy az összes kezelésre megfelelő mennyiségben álljon a rendelkezésünkre. Meghatároztuk, hogy a törzsoldatból hány ml-t kell kivenni, hogy a blokkokra megfelelő mennyiséget juttassuk ki. A törzsoldatból pipettával kivettük a kezeléshez szükséges térfogatokat, és egy tiszta főzőpohárba vittük át. A kimért törzsoldatokat desztillált vízzel 200 ml-re töltöttük föl. A megállapított mennyiségek a törzsoldatból a következők voltak:

- 50 ppm-es kezelések esetén 4 kg (1 zsák) alapanyagra: 1,33 ml/ 150 ppm törzsoldat.
- 150 ppm-es kezelések esetén 4 kg (1 zsák) alapanyagra: 4 ml/ 150 ppm törzsoldat.
- 300 ppm-es kezelések esetén 4 kg (1 zsák) alapanyagra: 8 ml/ 150 ppm törzsoldat.
- 600 ppm-es kezelések esetén 4 kg (1 zsák) alapanyagra: 16 ml/ 150 ppm törzsoldat.

A gyakorlatban, a párhuzamosoknak megfelelően, 3×4 kg-ra juttattuk ki, a fenti mennyiségek háromszorosát. Az oldatokat folyamatos átkeverés mellett, egyenletesen permetezzük rá a 12 kg szubsztrátumra, míg a kontroll zsákok esetében 200 ml vizet juttattunk az alapanyagra (*M.2.8. melléklet M.2.8.3. és M.2.8.4. ábra*). Minden alapanyagból 300 g mintát vettünk zárható fóliatasakokba, és hűtve laboratóriumba szállítottuk, további alapvető kémiai vizsgálatok céljából (*M.2.8. melléklet M.2.8.5. ábra*).

Homogenizálást követően az alapanyagot három zsákba töltöttük vissza. Mindhárom zsákba - mikroelem tartalom és összetétel szempontjából - teljesen homogén keverék került betöltésre. A zsákokat a kezeléseknél megfelelően adminisztráltuk, majd autoklávozó kocsikon helyeztük el. A sterilizálást autoklávban végeztük 126 °C-on 2 órán keresztül.

Szubsztrátumok oltása

Az alapanyagok beoltását - lehűlést követően - nagy tisztaságú térben végeztük el. 4 kg alapanyagot tartalmazó zsákokra 0,4 l csíra mennyiséget vittünk tisztatéri körülmények között (*M.2.8. melléklet M.2.8.6. ábra*). A beoltott blokkokat hegesztéssel zártuk, majd homogenizáltuk. Az oltott zsákokat „tornyokba” állítottuk, és 25 °C-os átszövető helyiségben helyeztük el (*M.2.8. melléklet M.2.8.7. és M.2.8.8. ábra*). Az átszövetés 8. napján a zsákokat fölráztuk, blokkokká formáztuk, és 20 °C-ra helyeztük teljes átszövődésig. Az átszövetést követően minden zsák 5 napig 10 °C-ra, majd a termesztésig 2 °C-os tárolási hőmérsékletre került.

Termesztés

Az egyenletesen átszőtt blokkokat üvegházban helyeztük el. Egy-egy átszőtt blokk felülete $28 \times 32 \text{ cm} = 896 \text{ cm}^2$ (kb. 900 cm^2), tömege 4 kg volt. Az átszövetett blokkok hűtőkocsiban érkeztek a Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, „A” épülete előtti üvegházba.

A blokkokat véletlen elrendezésben telepítettük az üvegházba. Takarást nem alkalmaztunk, ugyanis el szeretnénk volna kerülni a takaróföldből eredő, mikroelem méréseknél jelentkező hibákat. A polipropilén zsákok tetejét levágtuk, a blokkok felszínét pedig permetszerűen öntöztük. Minden blokknál jól láthatóan jelöltük az egyes kezeléseket (*M.2.8. melléklet M.2.8.9. ábra*). Az üvegházban a termőidőszak alatt 15-18 °C-t és 80-90% körüli relatív páratartalmat biztosítottunk. A szedési időszakban, a fémanalitikai mérésekhez, adott kezelés minden blokkjáról külön-külön szedtük a termőtesteket, majd a lemért termés mennyiségét kezelésenként összesítettük, és 100 kg alapanyagra vonatkoztatva adtuk meg.

Termőtestek mikroelem-tartalmának mérése

Egy fém egy adott koncentrációjából 3 blokk állt rendelkezésre. A három párhuzamosról külön szedtük le a termést. A termőtesteket kézzel kisebb darabokra törtük és műanyag tálcába helyeztük, majd 50 °C-on szárítottuk (*M.2.8. melléklet M.2.8.10. ábra*). Szárítást követően dörzsmozsárban, illetve műanyag borítású golyós malomban végeztük a minták porítását. A porokat 50 ml-es feliratozott Greiner-csövekben tároltuk a vizsgálatokig.

Roncsolás céljára 400 mg száraz, homogenizált gombapor mintát mértünk be két párhuzamosban. Minden mintához 5 ml desztillált vizet és 5 ml koncentrált salétromsavat adtunk. (H_2O_2 -ot nem használtunk, mivel a minta feltáráshoz a salétromsav önmagában is elegendő volt). A mintát mikrohullámú roncsolóban készítettük elő a méréshez, majd 50 ml-es centrifugacsőbe mostuk át. A roncsolt oldatot 50 ml-re töltöttük desztillált-vízzel, majd Perkin Elmer Elan DRC II.

(Dynamic Reaction Cell) ICP-MS műszerrel vizsgáltuk argon gázáramban. A detektálás tömegszelektív detektorral történt. A három termőblokkról származó termés, 2-2 mérési párhuzamosának átlagértékeit grafikusan ábrázoltuk. Az eredmények részben a Zn, Mn és Se mennyiségeket mg/kg gomba szárazanyagra adtuk meg.

Az elem meghatározásokat követően EMF („*factor of element mobilization*”) értékeket határoztunk meg abból a célból, hogy számszerűen ki tudjuk fejezni az elemek táptalajból történő dúsulását a termőtestekben. Az $EMF = \frac{\text{a gomba elemtartalma a kísérleti kezelésből/a gomba elemtartalma a kontroll kezelésből}}{\text{a gomba elemtartalma az adott kezelésből/a gomba elemtartalma a megelőző kezelésből}}$ értéket is. EMF* = a gomba elemtartalma az adott kezelésből/a gomba elemtartalma a megelőző kezelésből (RÁCZ et al., 1996; RÁCZ & OLDAL, 2000).

Alapanyagok vizsgálata

A kiindulási szubsztrátumok esetében több pontmintát vettünk, amelyeket vizsgálatok előtt, kezelésenként keveréssel átlagoltunk. A letermett blokkokból, a blokk keresztmetszetének megfelelően nyertünk pontmintákat. A három, azonos kezelésből származó mintát egyesítettük, így jutottunk el az adott koncentrációjú kezelésekből származó átlagmintákhoz. Laboratóriumba kerülve a szárazanyag-tartalom meghatározást azonnal elvégeztük, majd a száraz alapanyagot golyós malomban porítottuk, és a fentebb leírt paraméterekre megvizsgáltuk.

A kísérlet során a kiindulási és a letermett alapanyagból egyaránt vettünk mintákat. Az alapanyag fontosabb kémiai paramétereit: szárazanyag tartalom, hamutartalom, összes széntartalom, összes nitrogéntartalom, C/N egyaránt meghatároztuk.

Az alapanyag szárazanyag-tartalmának meghatározásához 100 g mintát mértünk be, és 105 °C-on (kb. 12 órán keresztül) tömegállandóságig szárítottuk. A nedvességtartalmat a következő képlet segítségével számoltuk ki: $\text{nedvességtartalom}\% = \frac{E - Sz}{m} \times 100$ [E = a minta és a szárítóedény tömege szárítás előtt (g); Sz = a minta és a szárítóedény tömege szárítás után (g); m = szárításra bemért minta tömege (g)]. A minták nedvességtartalmát két párhuzamos mérés középértékeként, három tizedes pontossággal adtuk meg.

Az alapanyag nyers-hamutartalmának meghatározásakor a száraz alapanyagmintából izzító tégelybe 2 g mintát mértünk be, és izzítókemencében 700 °C-on 4 órán keresztül izzítottuk. A nyershamu-tartalmat a következő képlettel határoztuk meg: $\text{nyershamu}\% = \frac{m_1 - m_2}{m_0} \times 100$ [m_0 = a vizsgálathoz bemért minta tömege (g); m_1 = a tégely és a minta tömege hamvasztás után (g); m_2 = a tégely tömege (g)]. A minták nyershamu-tartalmát két, párhuzamos mérés középértékeként, két tizedes pontossággal adtuk meg. Az összes széntartalom becslése esetén a hamvasztási tömegvesztést 0,5 szorzóval szoroztuk meg.

Összes nitrogén meghatározása során 1 g száraz mintát 20 ml tömény kénsavban 1 db Kjeldahl tablettával (5 g K_2SO_4 ; 0,15 $CuSO_4 \times 5H_2O$; TiO_2) 420 °C-on roncsoltuk a folyadék feltisztulásáig (kb. 1-2 órán keresztül). A minták tömény kénsavval történő „roncsoláskor” vízre, szén-dioxidra oxidálódtak, a bennük lévő nitrogén ammónia formájában hasadt le, és a jelen levő kénsavval nem illékony ammónium-szulfátot képzett. Ezt követően az ammónium-szulfátból nátronlúggal szabadítottuk föl az ammóniát, majd vízgőz-desztillációval bórsavba vittük. A bórsav és az ammónia reakciójában erősen disszociáló ammónium-borát keletkezik. A desztillátum ammóniatartalmát savas titrálással határoztuk meg a következők szerint:

Kihűlés után a roncsolt minták desztillációját Büchi B-324 készülékben (néhány esetben zárt rendszerű Parnass-Wagner-készülékben) végeztük. A roncsoló-csőben leroncsolt mintát behelyeztük a desztilláló készülékbe. A készülék 60 ml bórsavat adagol egy felfogó edénybe, amelyhez csatlakozik egy pH mérő, illetve egy keverő motor. A roncsolmányba 60 ml vizet és 110 ml NaOH-ot adagol, majd vízgőz desztillációval a bórsavas edényben felfogja az ammóniát. Ezt ismert faktorú kénsavval (0,5 N H_2SO_4) titrálja. Így pH ekvivalencia pontot keresve a hozzá adagolt kénsav mennyiségből határozza meg a nitrogén tartalmat. A műszer tehát automatikusan elvégzi a desztillációt és a titrálást, így a végeredményt leolvastuk a kijelzőről. (A minták nyersfehérje-tartalma a nitrogéntartalomból 6,25-ös konverziós faktorral történő szorzással becsülhető.)

4.9. A SZUBSZTRÁTUM MINŐSÉGÉNEK HATÁSA AZ ÁSVÁNYI ELEM ÖSSZETÉTELRE

A faj esetében, még ma sem ismerjük, hogy a takarásnak mi a pontos funkciója. Egyesek szerint a hatása pusztán a vízvesztés, pontosabban a szubsztrátum kiszáradásának megakadályozása. Annak ellenére, hogy a szubsztrátum felszínéről szabadon is fejlődhetnek termőtestek, véleményem szerint nem szűkíthető le a takaróföld szerepe pusztán arra, hogy a rosszabb klímatechnikai lehetőségekkel rendelkező házakban megakadályozza a blokkok kiszáradását. Természetesen ez a funkció is rendkívül fontos, azonban a takaróföldnek ezen felül szerepe lehet az ásványi táplálkozásban és a vízfelvételben is, ha nem is olyan mértékben, mint a kétspórás csiperkegomba (*Agaricus bisporus*) esetében.

A kísérletben tehát három fő kérdésre kerestük a választ:

- Van-e hatása a takarásnak a termőtestek ásványi anyag tartalmára, azaz a takaróföldből történik-e ásványi anyag transzport a termőtestekbe, vagy a takaróanyag szerepe pusztán a szubsztrátum vízvesztésének megakadályozásában merül ki?
- Történik-e a takaróanyagból vízfelvétel a termőtestekbe, azaz a takaróföldnek van-e szerepe a gomba vízforgalmában?
- A termesztési alapanyagok megválasztásának és a takarásnak van-e hatása a termőtestek beltartalmi értékeire, azaz a termesztés szintjén képesek vagyunk-e fokozni a gomba táplálkozási értékeit a szubsztrátum megválasztásával?

Az első kérdésre keresve a választ, azonos összetételű lignocellulóz alapanyag-keveréket használtunk föl, azonban az egyik alapanyag felszínéről szabadon fejlődtek a termőtestek, míg a másikat tőzeg alapú anyagkeverékkel takartuk le. Abból indultunk ki, hogy amennyiben a takart termőblokkokról származó termésből magasabb ásványianyag-mennyiségeket tudunk visszamérni, akkor a takaróföldnek szerepe van a faj ásványos táplálkozásában. Amennyiben a takart blokkoknál az ásványi elemek mennyisége megemelkedne, az egyben bizonyítaná a takaróanyag víztranszportban betöltött szerepét is, ugyanis a gombák ásványi táplálkozása – a növényekéhez hasonlóan – vízmozgással párosul. A szubsztrátum előállításakor törekedtünk arra, hogy azonos minőségű alapanyagokat használjunk föl, pontosan meghatározott mennyiségben. Szintén fontosnak tartottuk, hogy a takarásra használt takaróanyag is homogén legyen.

Amennyiben sikerülne is igazolni, hogy víz- és ásványianyag-transzportban szerepe van a takaróföldnek, a kísérlet eredményeiből sajnos nem kapunk választ arra kérdésre, hogy az adott termőhullámok során milyen arányban veszik föl a termőtestek az ásványi anyagokat és a vizet a lignocellulóz alapanyagból és milyen arányban a takaróföldből.

Törzs és csíra

A munkához a PES jelű izolátum szaporítóanyagát (rozs alapú szemcsíra formájában) használtuk föl a „Takarásra vonatkozó termesztéstechnológiai kísérletek” (4.7.) részben leírtaknak megfelelően.

Szubsztrátum összeállítása

A vizsgálat során három alapanyagról származó termőtestek elemtartalmát vizsgálatuk:

1. *alapanyag*: kizárólag szecskázott búzaszalmát tartalmazó alapanyag (adalékanyagként gipsz és kőpor 1:1 arányú keverékét alkalmaztuk 3 % mennyiségben);
2. *alapanyag*: a 4.7. pontban leírt összetételű alapanyag takarás nélkül (fűrészpor forgács keverék 37,6%; szalma 11,28%; főzött rozs 48,9%; gipsz 2,25%);
3. *alapanyag*: azonos a 2. alapanyaggal, azonban átszövetés után, a csiperketermesztésben használt, fertőtlenített tőzeg alapú takarófölddel takartuk.

Az alapanyagokat nedvesítést, bekeverést követően 15 literes, filterekkel rendelkező, polipropilén Mycelia (SACO₂) zsákokba töltöttük. Adott vizsgálathoz három párhuzamost állítottunk be 3-3 blokkal. Az alapanyagot autoklávozó kocsikon helyeztük el, és üzemi autoklávban megtörtént a blokkok sterilizálása 126 °C-on 2,5 órán keresztül.

Lehűlés után tisztatérben 5%-os szaporítóanyag mennyiséggel oltottuk, majd 25 °C-on átszöveltük, formáztuk a zsákokat. Átszövetést követően 10 napig 10 °C-on, majd a kísérlet megkezdéséig 2 °C-on tároltuk az átszövetett alapanyagokat. A termesztést, az előző kísérletben leírtaknak megfelelően, a Budapesti Corvinus Egyetem üvegházában folytattuk le.

Adott kezelés 3 blokkjáról származó termést leszedtük. A három blokkról származó mintát azonos tömegben kevertük, így az adott kezelésből kaptunk egy átlagmintát. A termést kézzel szedtük le, és daraboltuk föl. A száraz gombamintákat műanyag tálcákban 50 °C-on szárítottuk. Szárítást követően a gombát dörzsmozsárban porítottuk és 50 ml-es műanyag csövekben tároltuk a mérésekig. A minta-előkészítést és a méréseket a korábban (4.8. pont) leírtaknak megfelelően, Perkin Elmer Elan DRC II. (Dynamic Reaction Cell) ICP-MS műszerrel vizsgáltuk a következő fémekre: Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Se, Sr, Ti, V, Zn. Az elemek mennyiségét mg/kg szárazanyagra adtuk meg.

A termőtestek összes ásványi elem tartalmát a 700 °C-on történő hamvasztás utáni összes maradékból (hamu) állapítottuk meg az előző pontban (4.8.) leírtak alapján. A kapott nyershamu-tartalmat a szárazanyag százalékában adtuk meg.

A termőtestek fehérjetartalmát az előző pontban (4.8.) leírt, mérhető összes nitrogén tartalomból 4,38 konverziós faktorral történő szorzással határoztuk meg, ezzel megkaptuk a termőtest-minták korrigált nyersfehérje tartalmát, száraz tömegre vetítve, százalékban.

4.10. TERMESZTÉS SORÁN MEGJELENŐ KÓROKOZÓ SZERVEZETEK

A munka során összegyűjtöttük azokat a kórokozókat (baktériumok, mikoparazita és kompetitor penészek), amelyekkel a disszertációban szereplő egyéb féléves kísérleteinkben találkoztunk.

A gombák baktériumos foltosságát leggyakrabban a *Pseudomonas*-fajok okozzák. Az ördögszekér laskagomba termesztésben, szórványosan megfigyelhetők voltak a kalapon a sötét, nedves, zsíros tapintású foltok (M.2.7.1. ábra). Ezekből a területekből oltókaccsal *Pseudomonas* agarra (Merck) és párhuzamosan Nutrient agarra (Merck) végeztünk szélesztéseket. Az inkubálást 35 °C-on végeztük 2-5 napon keresztül. A különálló, gyanús telepekből oltótűvel OF magas agart (M.2.7.11.) szűrve inokuláltunk az oxidatív cukorbontás (nem fermentálás) kimutatására. Ugyanazon teleppel elvégeztük az oxidáz-reakciót. Oxidáz-reagenst (M.2.7.12.) tárgylemezre helyezett szűrőpapír-csíkra csepegtettünk, és tárgylemez sarkával kis mennyiségű baktériumot a reagenssel átitatott papírcsíkra húztunk. A 20 másodpercen belüli piros elszíneződés pozitivitást jelez. A két reakció segítségével próbáltuk behatárolni, hogy az általunk izolált baktérium *Pseudomonas* faj vagy sem. Faji szintű identifikációt nem végeztünk az oxidatív cukorbontást és a pozitív oxidáz-tesztet mutató törzsek esetében.

A termőtestek gombabetegségekre utaló tüneteiből közvetlen izolálással, vagy nedves kamra utáni inkubációt követően oltottunk kloramfenikol tartalmú PDA lemezekre (Merck). 25 °C-os inkubációt követően elvégeztük a tisztításokat, és a tiszta tenyészeteket laktofenolos gyapotkékkel festve, konzerválva vizsgáltuk fénymikroszkóp segítségével.

(Megjegyzés: Kártevők identifikációját nem végeztük el, azonban az ördögszekér laskagomba termesztésben találkozhatunk *Diptera* lárvákkal és imágókkal /*Phoridae*, *Lycoridae*, *Mycetophilidae* stb./, valamint atkákkal. A legyek apod lárvái az átszövetett szubsztrátum anyagaiból, és a termőtestekből táplálkoztak. Atkákkal az alapanyagon és a termőtesten is egyaránt találkoztunk.)

5. EREDMÉNYEK

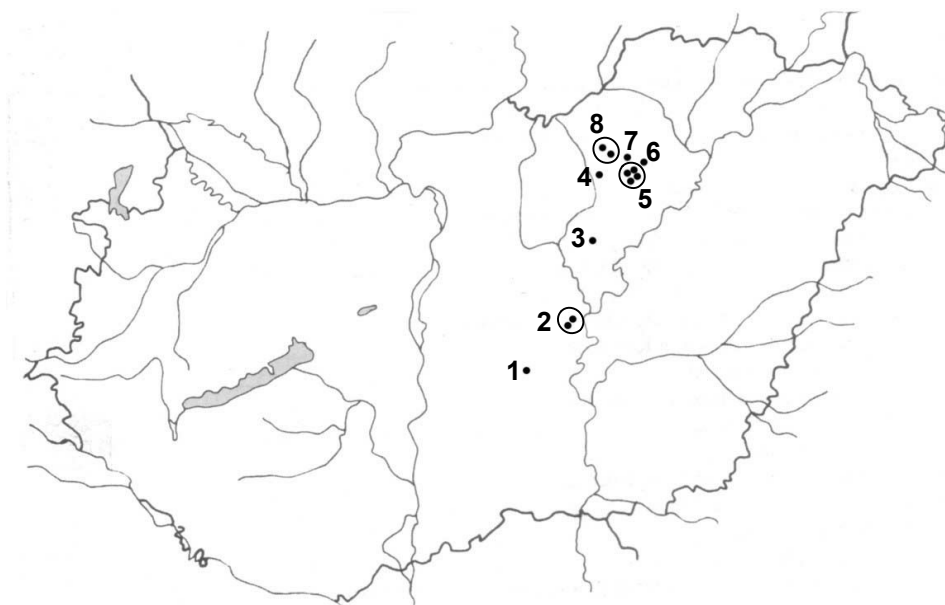
5.1. IZOLÁLÁSOK EREDMÉNYEI

A gyűjtések eredményeképpen hazai területekről 12 db *P. eryngii* törzset tudunk izolálni, amelyek vegetatív micélium formában álltak a rendelkezésünkre. Az izolátumok sorszámai, kódjai és származási helyei a 6. táblázatban és a 3. ábrán található. A törzsgyűjteményi anyagból származó PE-SZM, PEL, PES törzsekről nem állt rendelkezésünkre bővebb információ.

6. táblázat. Izolátumok kódjai és származásuk.

<i>Sorszám</i>	<i>Kód</i>	<i>Származási hely</i>	<i>Gyűjtők</i>
1.	PEA	Tószeg (Magyarország)	Szarvas J.
2.	PEC	Eger, Pásztorvölgy (Magyarország)	Szarvas J., Bujdosó L.
3.	PEF	Kecskemét (Magyarország)	Szarvas J.
4.	PEF-i	Demjén, Vas-tanya (Magyarország)	Szarvas J.
5.	PEG	Tószeg (Magyarország)	Szarvas J.
6.	PEL	Észak-Olaszország	törzsgyűjtemény
7.	PEP	Eger, Pásztorvölgy (Magyarország)	Szarvas J., Bujdosó L.
8.	PES	Hollandia	törzsgyűjtemény
9.	PE-SZM	Malajzia	törzsgyűjtemény
10.	PLE-1V	Novaj, 2007 (Magyarország)	Szarvas J., Villás G.
11.	PLE-2V	Novaj, 2007 (Magyarország)	Szarvas J., Villás G.
12.	PLE-3V	Bogács (Magyarország)	Szarvas J., Soltész B.
13.	PLE-4V	Hevesi Fűves Puszta (Magyarország)	Szarvas J.
14.	PLE-5V	Novaj (2007) (Magyarország)	Szarvas J., Villás G.
15.	PLE-6V	Novaj (2008) (Magyarország)	Szarvas J., Villás G.
16.	P.o.*	Síkfőkút (Magyarország)	Szarvas J.

(* *P. ostreatus*)



3. ábra. A Magyarországról származó törzsek: 1: Kecskemét; 2: Tószeg (két izolátum); 3: Hevesi Füves Puszta; 4: Demjén; 5: Novaj (négy izolátum); 6: Bogács; 7: Síkfőkút (*P. ostreatus*); 8: Eger, Pásztortölgy (két izolátum).

A vizsgálatokat összesen 15 db *P. eryngii* törzssel tudtuk megkezdeni. A kísérleti munka idején további egy, kínai termesztésből származó törzssel bővült a gyűjteményünk, azonban ezt az izolátumot már csak a későbbi munkába tudtuk bevonni. A kínai termesztésből származó törzset „PEK” jelzéssel láttuk el. Az ördögszekér laskagomba izolátumok mellett, *P. ostreatus* törzset is gyűjtöttünk Síkfőkút területéről, amelyet a RAPD-PCR vizsgálatok során kulcsoportként használtunk föl.

Spórafelvételek eredményei

A spórafelvételek hasznosnak bizonyultak, ugyanis egyes termőtestekből nem sikerült antibiotikum használatával sem tiszta tenyészetet előállítani. A spórákból multispór módszerrel, heterokariotikus vegetatív micéliumtenyészeteket állítottunk elő. Ezeket fénymikroszkóp segítségével ellenőriztük csatok jelenlétére vizes preparátumban.

A törzsfenntartási módszerek közül a bükkfa pálcikán történő fenntartás adta a legkevesbé megbízható eredményeket, ugyanis a micélium növekedése nagyon gyakran bizonyos telepátmérőnél leállt (*M.2.1. melléklet M.2.1.7. és M.2.1.8. ábra*). Ennek pontos okát nem ismerjük. A kései laskagomba (*P. ostreatus*) fenntartására alkalmazott pálcikás fenntartási módszer a *P. eryngii* faj esetében nem ad megbízható eredményt, így kizártuk a fenntartási módszerek közül. A perlites és folyékony nitrogénes tárolás egyaránt alkalmas volt az izolátumok prezervációjára (*M.2.1. melléklet M.2.1.9., M.2.1.10., M.2.1.11. és M.2.1.12. ábra*). Perlites törzsfenntartást használtunk folyékony nitrogénben történő fenntartás replikájaként.

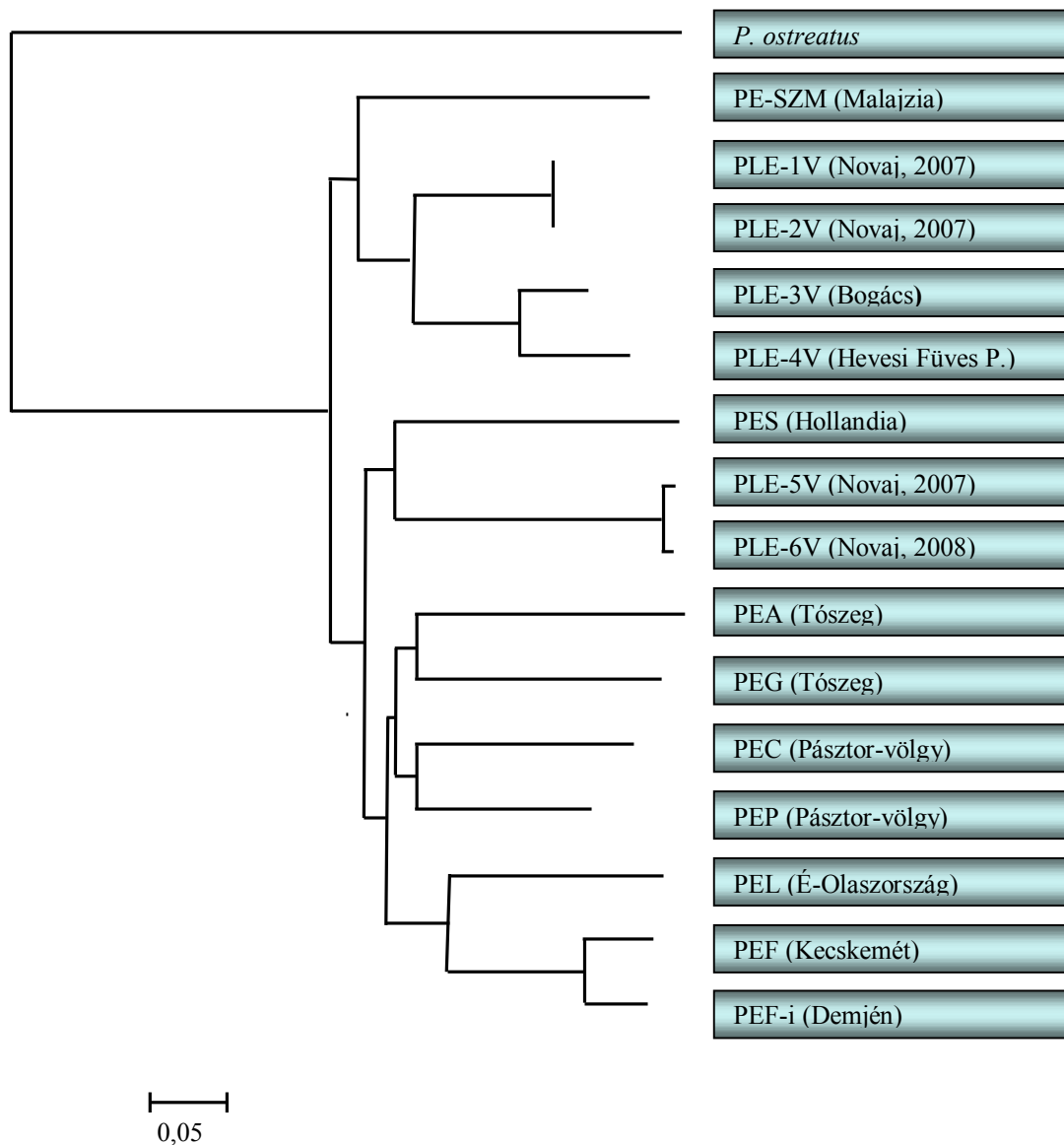
5.2. IZOLÁTUMOK ROKONSÁGI VIZSGÁLATAINAK EREDMÉNYEI

Az általunk továbbfejlesztett kivonási módszerrel nagy mennyiségű, jó minőségű fehérjétől, szerves oldószertől mentes kivonatot kaptunk. A RAPD-PCR reakciókat követően hat olyan primert választottunk ki, amelyekkel a törzsek relatíve jól detektálható és értékelhető, ugyanakkor több törzs esetében megfelelő differenciáló mintázatot adtak. A következő primereket szelektáltuk az általunk tesztelt dekamerek közül: OpA 05 (AGG GGT CTT G), OpA 07 (GAA ACG GTT G), OpA 10 (GTG ATC GCA G), OpA 13 (CAG CAC CCA C), OpA 18 (AGG TGA CCG T) és OpB 10 (CTG CTG GGA C). Az amplikonok gélelektroforézisét követő RAPD-fingerprint-ek az *M.2.2. mellékletben (M.2.2.1. – M.2.2.6. ábrák)* láthatóak.

Azokat a dekamereket választottuk ki a munkára, amelyek egyedi differenciáló fragmentumok megjelenésével, akár adott törzsre jellemző RAPD mintázatot biztosítottak. A három ismétlés mintázata képezte az alapját a bináris kódolásnak (*M.2.2.7. melléklet*), a távolságmátrix (*M.2.2.8. melléklet*) elkészítésének és végeredményben a neighbor-joining fa megszerkesztésének.

Az OpA05 és OpA13 dekamerek a legtöbb törzs között jól differenciáltak, azonban nagyfokú hasonlóság mutatkozott a Ple-1V/Ple-2V és Ple-3V/Ple-4V izolátumok között. A Ple-1V és Ple-2V törzseket ugyanazon, míg a Ple-3V és Ple-4V különböző élőhelyről izoláltuk. Egy másik érdekes eredmény, hogy az OpA05 használatával nem volt különbség a Ple-5V és a Ple-6V izolátumok között, azonban az OpA13 esetében igen, holott a két törzset két egymást követő évben gyűjtöttük be ugyanazon területről. Egyes primerek törzsre jellemző mintázatot adtak, így adott törzs jellemzésére is alkalmasak lehetnek. A differenciáló band-ek izolálását, klónozását, majd szekvenálását követően, lehetőség kínálkozik adott törzsre specifikus primerek tervezésére. Ezeket az eredményeket a jövőben hasznosíthatják a nemesítők, csíragyártók törzs- vagy fajtavédelem céljaira.

A 4. ábrán látható, RAPD mintázatra szerkesztett neighbor-joining fa jól szemlélteti a főként hazai eredetű, termesztethető *P. eryngii* törzsek rokonsági kapcsolatait, valamint a gyűjtési helyeket. Látható, hogy a törzsek két nagy csoportba tartoznak, a malajziai törzsszel rokonítható, és a nyugat-európai törzsekkel rokonítható hazai törzsek. Figyelemreméltó adat, hogy két egymást követő évben történő begyűjtés során, valószínűleg ugyanazt a törzset sikerült izolálnunk ugyanarról a területről. Országon belül érdekes, hogy Kecskemét és Demjén egymástól 140 km-re található, és mégis közeli a rokonság a területeken begyűjtött törzsek között.



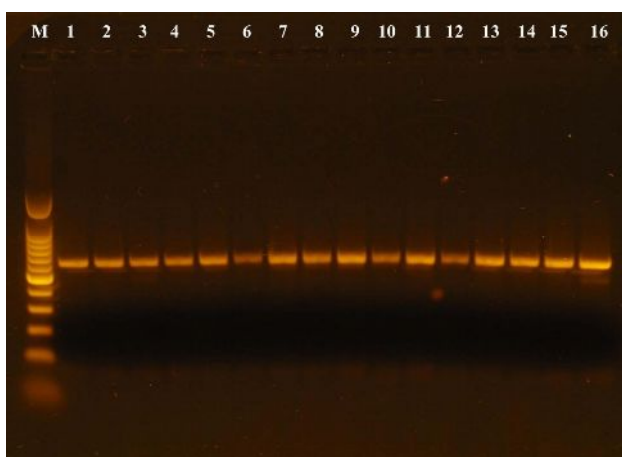
4. ábra. A RAPD analízis eredményein alapuló, Neighbor-Joining program (NEI & LI, 1979) segítségével készített dendrogram. A skála a törzsek közötti genetikai távolságot reprezentálja.

5.3. *P. ERYNGII* IZOLÁTUMOK *TEF1 α* , *RPB2* RÉGIÓK SZEKVENCIAANALÍZISÉNEK EREDMÉNYEI

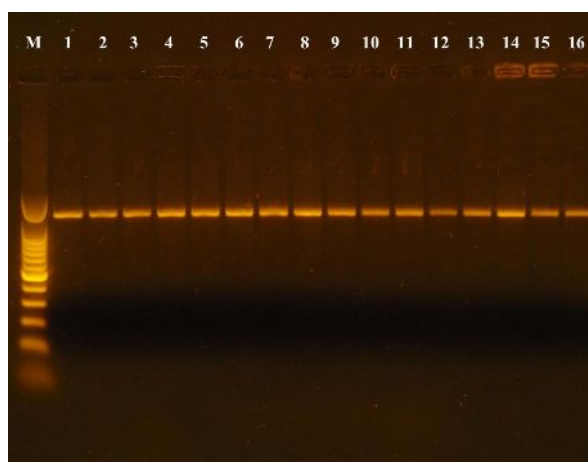
A PCR eredményei

A PCR programot mindkét primerpár esetében optimalizálnunk kellett. Ehhez hőmérséklet gradiens PCR-t használtunk, és azt a primertapadási hőmérsékletet választottuk ki, amelynél a várt termék jól látható, és téves amplikon nem, vagy alig detektálható. A PCR eredményeit az 5-6. ábrák mutatják.

A *tef1 α* régió részleges amplifikálását követően a kívánt, ~550 bp méretben, egy diszkrét sávot kaptunk (5. ábra). A *rpb2* régió részleges amplifikálását követően a gélen a primerek degeneráltságából adódóan az ~1000 bp fő termék mellett, a nem optimalizált reakcióban más termék is jelen volt. Ez utóbbiak a tisztítást követően már nem voltak láthatóak a gélen (6. ábra).



5. ábra. A 16 *P. eryngii* törzs *tef1 α* régió amplifikációjának eredményei, tisztítást követően.



6. ábra. A 16 *P. eryngii* törzs *rpb2* régió amplifikációjának eredményei, tisztítást követően.

M: méret marker, 1. PEP, 2. PEC, 3. PES, 4. PEL, 5. PEF, 6. PEA, 7. PE-SZM, 8. PEG, 9. PEF-i, 10. PLE-1V, 11. PLE-2V, 12. PLE-3V, 13. PLE-4V, 14. PLE-5V, 15. PLE-6V, 16. PEK
(M: 1500, 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100 bp).

Szekvenálást, majd a szekvenciaadatok javítását követően a transzláció elongációs faktor (*tef1 α*) 553 bp hosszú szakaszának, az RNS-polimeráz II (*rpb2*) lókuszt 1031 bp hosszú régiójának szekvenciaadatai álltak rendelkezésünkre.

A szekvenálás és szekvencia-keresés eredményei

A *tefl* α génjének szekvenciaanalízisének eredményeként a törzsek között teljes azonosságot tapasztaltunk, azaz a rendelkezésünkre álló törzsek ezen lókuszában szekvencia-adatokban eltérések nem tapasztalhatók (M.2.3.1. melléklet). A szekvencia-vizsgálatokról közölt legújabb publikációban (RODRIGUEZ ESTRADA et al., 2010) azt állapították meg, hogy a *tefl* α részleges szekvencia-analízise alkalmas a var. *nebrodensis* és a var. *eryngii* változatok elkülönítésére. Ezek alapján biztos, hogy nem rendelkezünk *nebrodensis* változattal.

RODRIGUEZ ESTRADA és munkatársai (2010) egy további megállapítása szerint az *rpb2* gén szekvenciáinak különbségei lehetőséget teremtenek az *eryngii*, *elaeoselini* és *ferulae* változatok elkülönítésére. A saját szekvencia-eredményekben csak néhány nukleotidcserét állapítottunk meg: a 21. pozícióban a Ple-1V és Ple-2V esetében C nukleotid, míg a többi törzs esetében T nukleotid található; a Ple-1V, Ple-2V, PEG, Ple-3V és Ple-4V 372. pozíciójában G nukleotid áll, a többi törzs esetében A; a Ple-1V, Ple-2V, Ple-3V, Ple-4V, PEG, PES 957. pozícióban G nukleotid található, míg a többi törzs esetében A nukleotid. A szekvenálások eredményei, valamint az illesztett szekvenciák BoxShade programmal ábrázolva a M.2.3. mellékletben (M.2.3.1. és M.2.3.2.) láthatók. A nukleotidcserék általunk nem ismert módon jelölhetnek akár változatok közötti különbségeket is, ennek érdekében a GenBank adatbázisban rendelkezésre álló szekvenciákra próbáltunk BLAST keresést végezni.

A transzláció elongációs faktor BLAST eredményeit tekintve, mind a 16 törzs, 0 e-érték mellett, 100%-ban *P. fossulatus*-nak tekinthető és 94 %-ban *P. eryngii* var. *eryngii*. Az *rpb2* esetében a nukleotid szubsztitúciókat tartalmazó Ple-1V, Ple-2V, Ple-3V, Ple-4V, PEG, PES törzsek, sőt a többi törzs vonatkozásában is azt az eredményt kaptuk, miszerint a törzsek 100 %-ban 0 e-érték mellett *P. ostreatus* fajt takarnak. 70%-os valószínűséggel a *P. eryngii* var. *eryngii* változatot listázta, de ilyen valószínűség mellett találunk var. *elaeoselini* és var. *ferulae* eredményeket is.

A meglepő BLAST eredményeket követően az NCBI adatbank (GenBank) oldalára mások által feltöltött adatokat behatóbban is megvizsgáltuk, és azt tapasztaltuk, hogy a szekvenciák jelentős része minden korrekció nélkül, és számos hiánnyal került föl az egyik legmegbízhatóbb adatbázis oldalára, így ezekre az adatokra alapozva megbízható eredményeket nem lehet megadni.

Összefoglalva a szekvenálási eredményeket megállapíthatjuk, hogy a törzseknél csak az *rpb2* lókuszc szekvencia-adataiban találtunk nukleotid szubsztitúciókat. A két vizsgált lókuszc szekvencia-eredményei alapján látható, hogy a saját törzsek között csak kismértékű nukleotid polimorfizmus tapasztalható. Jelen formájukban az NCBI adatbankban (GenBank) archivált

fragmentek nem nyújtanak megbízható összehasonlítási-azonosítási alapot az izolátumok identifikációjához, a vizsgált két lókuszra vonatkozóan. A változatok elkülönítésére, a riboszomális régiók, valamint *teflα*, *rpb2* gének vizsgálata mellett újabb lókuszok vizsgálatát kell bevonni a faj változatainak differenciálása céljából. Látható, hogy a fajjal és változataival kapcsolatos molekuláris biológiai munkának ma is komoly korlátai vannak, és még ma sem alkalmas nagy bizonyossággal a változatok molekuláris identifikációjára.

Az RFLP módszer eredményei

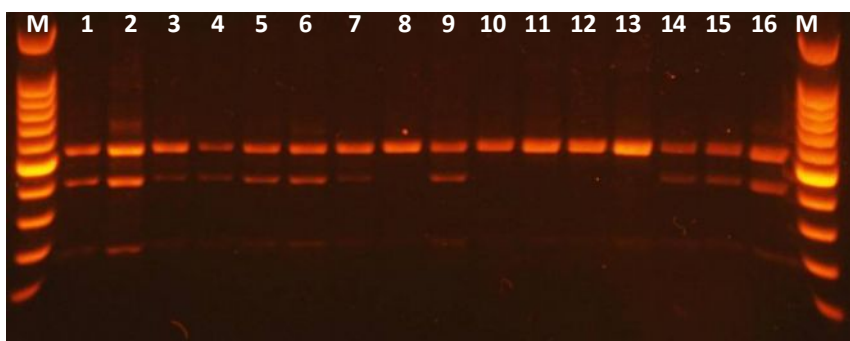
Az *in silico* hasítás eredményeképpen várt fragmentek méretei alapján mindkét enzim esetében két csoportra oszthatóak a törzsek.

BsmAI

1. csoport: 504 bp, 456 bp, 71 bp (Ple-5V, Ple-6V, PEF-i, PE-SZM, PEA, PEF, PEL, PEK, PEC, PEP, PES)

2. csoport: 504 bp, 373 bp, 83 bp, 71 bp (Ple-1V, Ple-2V, Ple-3V, Ple-4V, PEG)

A BsmAI enzimmel történő hasítás eredményei megegyeznek az *in silico* hasításával annyi eltéréssel, hogy az agaróz gélen nem látható minden fragment. A 2. csoportba tartozó törzseknél (Ple-1V, Ple-2V, Ple-3V, Ple-4V és PEG) nem látható a 456 bp-os fragment, amely a többi törzsnél jól látható, vagyis az enzim alkalmas eme két csoport elkülönítésére (7. ábra). Az *in silico* hasítás során eredményül kapott fragmentek mérete kisebb, mint a valós hasításkor keletkezetteké, mivel a számítógépes szekvenciaanalízishez csonkolt fragmenteket használtunk.



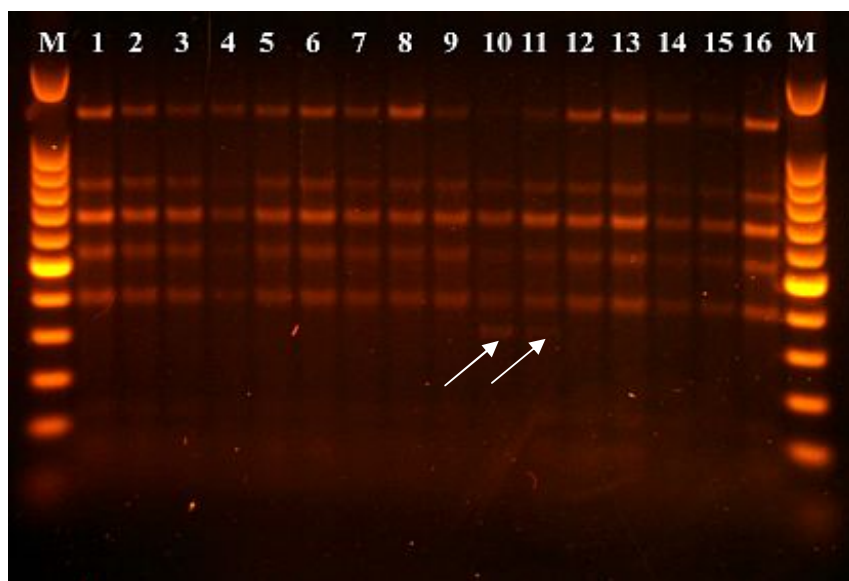
7. ábra. BsmAI enzimmel végzett hasítás eredménye. (M: méret marker, 1. PEP; 2. PEC; 3. PES; 4. PEL; 5. PEF; 6. PEA; 7. PE-SZM; 8. PEG; 9. PEF-i; 10. PLE-1V; 11. PLE-2V; 12. PLE-3V; 13. Ple-4V; 14. PLE-5V; 15. PLE-6V; 16. PEK).
(M: 1500, 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100 bp)

A TspDTI enzimmel elvégzett emésztés eredménye (8. ábra) az általunk használt agaróz technikával nem teszi jól elkülöníthetővé az egyes törzseket, ellentétben az *in silico* emésztéssel. Az emésztés során a 313 bp-os fragmentből hasítódik le egy 9 bp-os darab, amely eltérés a hagyományos agaróz gélen nem detektálható, ezért vagy poliakrilamid gélelektroforézis, vagy kapilláris gélelektroforézis alkalmazását javasoljuk.

TspDTI

1. csoport: 586 bp, 304 bp, 132 bp, 9 bp (Ple-1V, Ple-2V)

2. csoport: 586 bp, 313 bp, 132 bp (Ple-3V, Ple-4V, Ple-5V, Ple-6V, PEF-i, PE-SZM, PEA, PEF, PEL, PEK, PEC, PEP, PES, PEG)



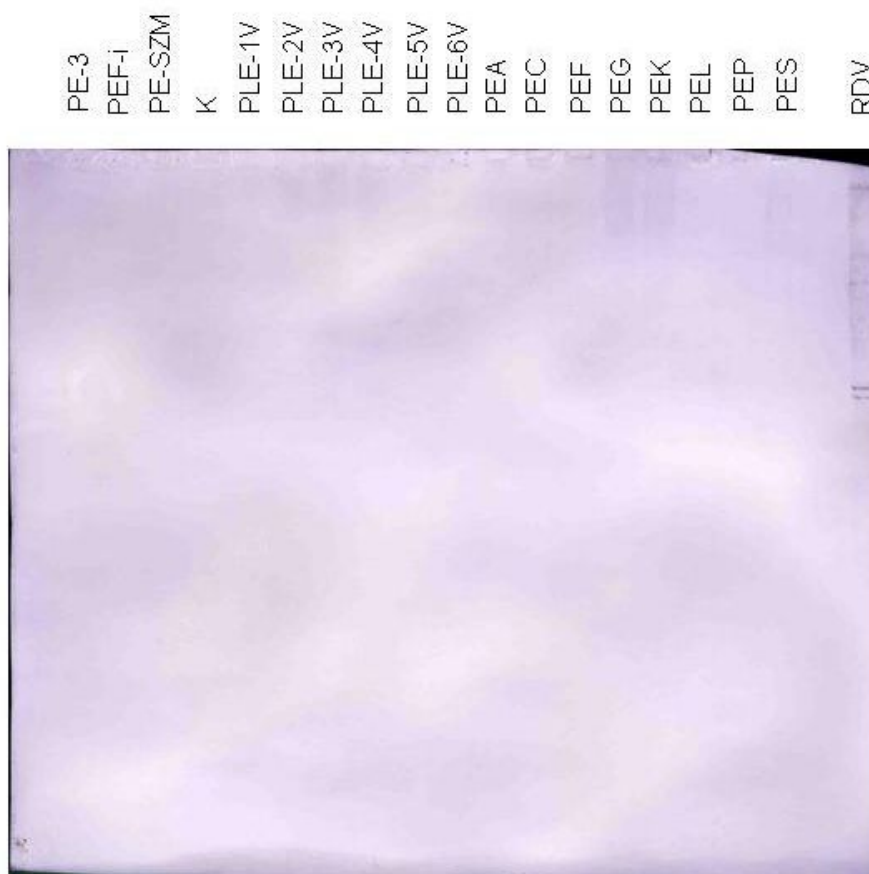
8. ábra. TspDTI enzimmel végzett hasítás eredménye.

(M: méret marker, 1. PEP; 2. PEC; 3. PES; 4. PEL; 5. PEF; 6. PEA; 7. PE-SZM; 8. PEG; 9. PEF-i; 10. PLE-1V; 11. PLE-2V; 12. PLE-3V; 13. Ple-4V; 14. PLE-5V; 15. PLE-6V; 16. PEK).

(M: 1500, 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100 bp)

5.4. DSRNS MIKOVÍRUS VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI

A dsRNS speciestek kimutatására szolgáló immunoblot eljárással három ismétlést követően sem tudtunk dupla-szálú RNS mikovírusokra utaló RNS-eket kimutatni. Így megállapítható, hogy a rendelkezésünkre álló 16 törzs egyike sem volt dsRNS mikovírusokkal fertőzött. A gyenge növekedési ütemű PEP, a vattásodásra hajlamos PEC, a gyenge termőképességgel rendelkező PEL és PEG törzsek esetében sem találtunk dsRNS jelenlétére utaló sávokat. Természetesen ez az eredmény nem zárja ki, hogy más gyűjtési területről, esetleg termesztésből származó mintákban ne fordulhatnának elő dsRNS vírusok. A 9. ábra az immunoblot eredményét mutatja. Az utolsó pályán a RDV (*Rice Dwarf Virus*; *Reoviridae*) sávjai láthatók, amelyet pozitív kontrollként használtunk föl a munka során.

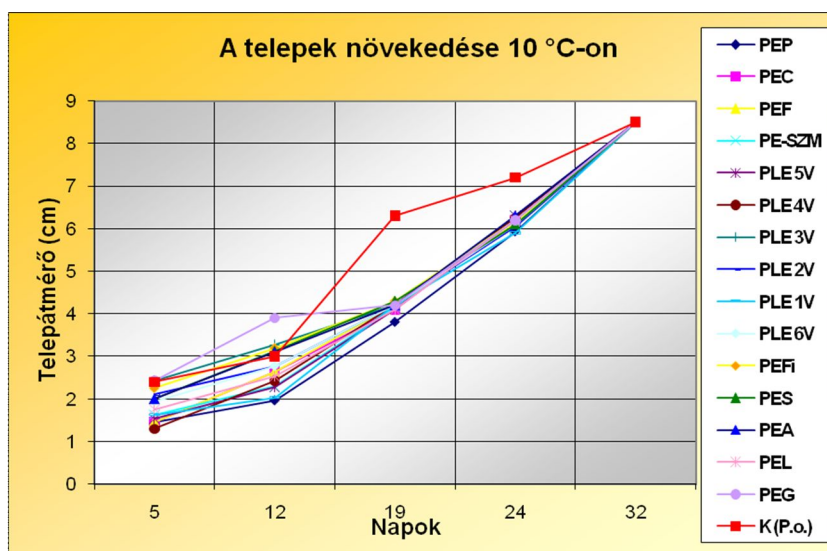


9. ábra. *P. eryngii* törzsek immunoblot eredményei.

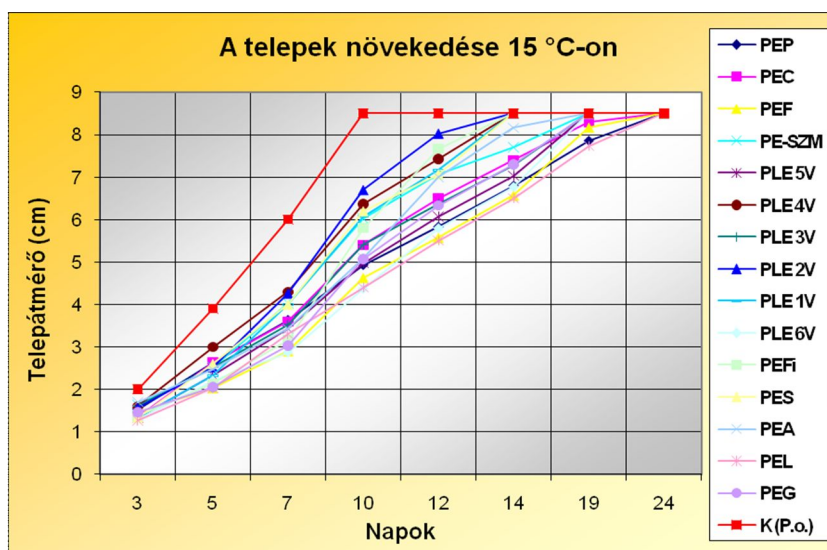
5.5. A *P. ERYNGII* TÖRZSEK VEGETATÍV NÖVEKEDÉSI TESZTJEINEK EREDMÉNYEI

A törzsek vegetatív micéliumának növekedési üteme különböző hőmérsékleten

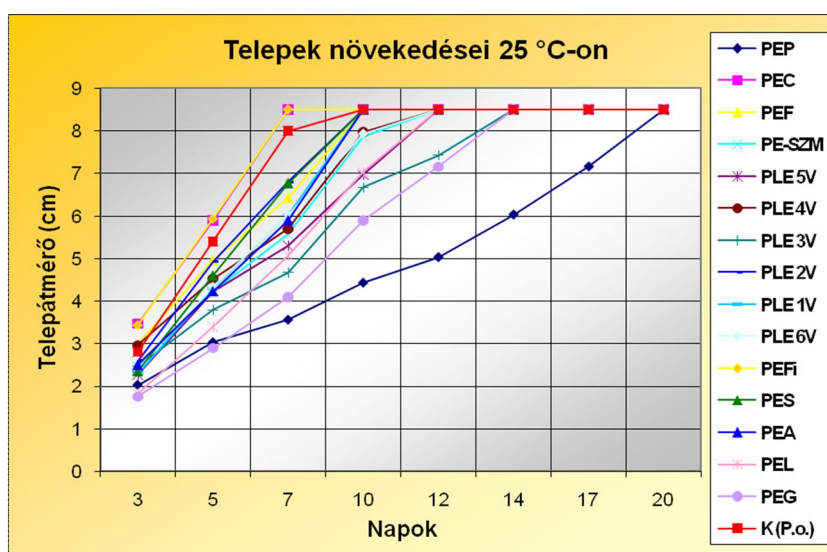
A törzsek az alacsonyabb és a magasabb hőmérsékleti tartományokban nagyon hasonló növekedési ütemet mutattak. Ezzel szemben az optimális és optimálishoz közeli hőmérsékleti tartományban a növekedési ütemben már jelentős különbségek mutatkoztak a törzsek között. Mivel a termesztés vegetatív szakaszában ez utóbbi jelenti az átszövetési hőmérsékleti tartományt, így adott törzsek (esetleg hibridek) üzemi szintű termesztésbe vonása esetén nem közömbös a vegetatív növekedés erélyének és idejének a felmérése. A legtöbb törzs a maximális telepátmérőt 5 °C-on a 41. nap körül, 10 °C-on a 32. napon érte el. A 15 °C-os növekedés esetében egyre kifejezettebbek a törzsek közötti különbségek, de a K 357 (*P. ostreatus*) kontroll két nappal korábban éri el maximális telepátmérőt, mint a leggyorsabb növekedésű *P. eryngii* törzs. A legtöbb törzs számára a 25 és 30 °C közötti hőmérséklet volt optimális. A törzsek 25 °C-on napi 2,35 – 12 mm közötti növekedési ütemet mutattak. A legintenzívebb növekedést a PEC és PEFi törzsek mutatták, míg a leglassabbat a PEP törzs. 20-25 és még 30 °C-on is előtűnnek a törzsek különbségei, ahol az ördögszekér laskagomba törzsek (pl. PEC, PEFi, PEA) hasonlóan növekedtek, mint a K 357 kontroll. Figyelemreméltó eredmény, hogy több törzs hasonló növekedést mutatott 25 °C-on, mint 30°C-on. 35 °C-on a törzsek növekedése minimális ütemű volt (17 nap alatt 1 cm), majd növekedésbeli leállást tapasztaltunk. Ezen a hőmérsékleten a micélium már károsodik. Ennek jelentősége lehet a csíragyártás során, a lignocellulóz alapanyag beoltása idején és a termesztés során egyaránt. A leggyengébb növekedést mutató törzs a PEP, PEG voltak, amelyek később a termesztési kísérletekben is, a leggyengébb termésmennyiséget és minőséget produkálták (PEP - BE=56,31%; PEG - BE=37,82%). Ez alapján lehet összefüggés a vegetatív micélium növekedési üteme és a termőképesség között. A dolgozat ezen részében néhány hőmérsékleti értéket kiragadva (10-15-25 °C) mutatjuk be az eredményeket (10., 11. és 12. ábra). A további hőmérsékleten mutatott növekedési ütemeket az M.2.4.1. melléklet (M.2.4.1.1. - M.2.4.1.7. ábra) tartalmazza.



10. ábra. Törzsek növekedése 10 °C-on.



11. ábra. Törzsek növekedése 15 °C-on.



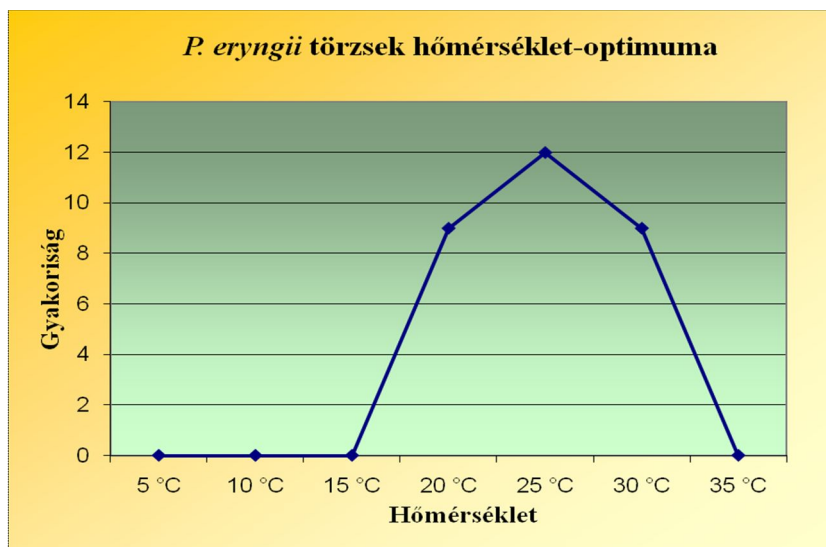
12. ábra. Törzsek növekedése 25 °C-on.

Az 7. táblázatban látható, hogy a törzsek hányadik napon érték el az adott hőmérsékleten a maximális 8,5 cm-es telepátmérőt. A táblázatban foglalt számok a napokat jelölik. (A *P. ostreatus* Korona 357-es üzemi hibrid a grafikonokban „*P.o.*” jelzéssel szerepel.)

Megvizsgáltuk, hogy a törzsek mikor érik el leghamarabb a maximális telepátmérőt (szürkével kiemelve), majd ezt követően a táblázat utolsó sorában összesítettük, hogy hány törzs érte el leggyorsabban a maximális telepátmérőt. A kapott eredményeket a 13. ábra szemlélteti, amelyben az általunk vizsgált 25 °C-os hőmérséklet jelentette a legtöbb törzs számára a vegetatív növekedés szempontjából az optimális hőmérsékletet.

7. táblázat. Összesítő táblázat a maximális telepátmérő (8,5 cm) elérésének idejéről (nap) a hőmérséklet függvényében.

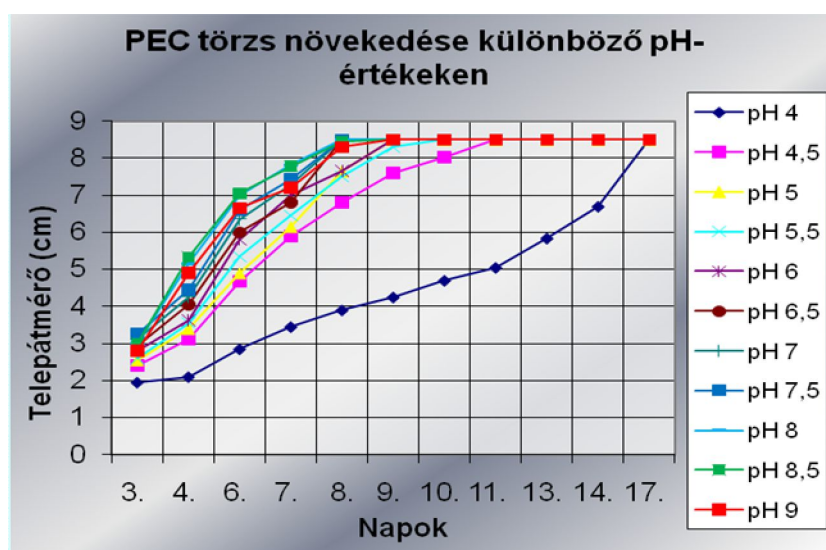
Törzs/Hőm.	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C
PEP	41	32	24	20	20	23	-
PEC	41	32	24	10	7	10	-
PEF	41	32	24	12	10	10	-
PE-SZM	-	32	19	12	12	12	-
Ple-5V	41	32	19	12	12	12	-
Ple-4V	41	32	14	10	12	12	-
Ple-3V	41	32	19	17	14	10	-
Ple-2V	41	32	14	10	10	10	-
Ple-1V	41	32	14	10	10	10	-
Ple-6V	41	32	19	12	12	12	-
PEFi	41	32	14	12	7	10	-
PES	41	32	14	12	10	10	-
PEA	41	32	19	12	10	10	-
PEL	-	32	24	12	12	17	-
PEG	41	32	19	12	14	14	-
K (<i>P.o.</i>)	41	32	10	7	10	10	-
Átlag	41,00	32,00	18,67	12,33	11,47	12,13	-
Szórás	0,000	0,000	3,994	2,717	3,137	3,603	-
Gyakoriság	0	0	0	9	12	9	0



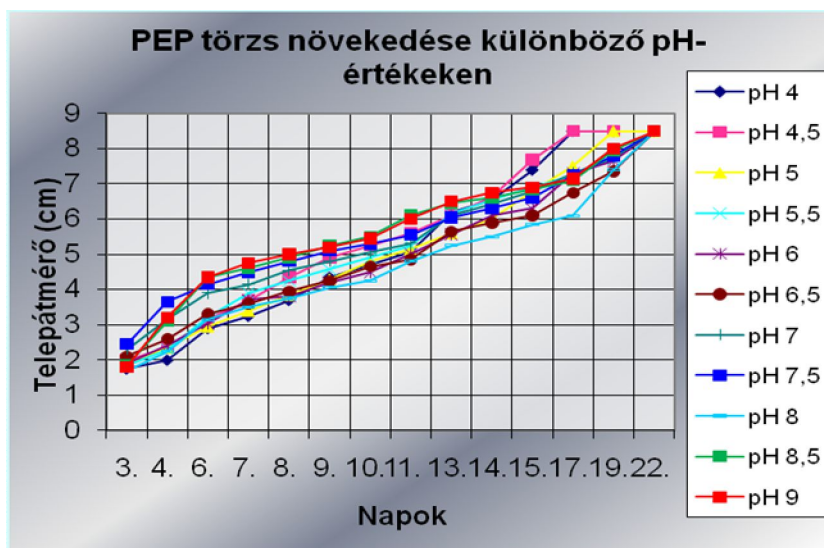
13. ábra. *P. eryngii* törzsek hőmérséklet-optimuma.

A törzsek vegetatív micéliumának növekedési üteme különböző kémhatásokon

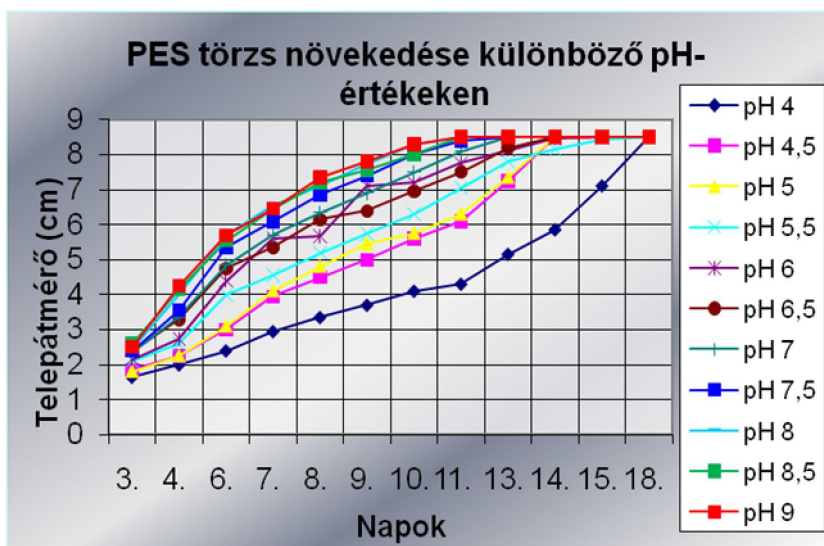
A kémhatás vonatkozásában a tag tűrőképesség jellemzi a fajt, mivel viszonylag a pH tartományban képes relatíve gyors növekedésre. A törzsek közötti különbségek a különböző kémhatású táptalajokon már nem annyira kifejezettek, mint a különböző hőmérsékletek esetén, de néhány esetben tapasztalunk jelentős különbségeket is. Az alábbi ábrákon (14., 15. és 16. ábra) három törzs (PEC, PEP, PES) különböző pH értéken mutatott növekedési különbségeit mutatjuk be. Az ábrákon látható, hogy a tag tűrőképesség ellenére a törzsek között vannak pH-tól függő növekedési különbségek, amelyek főképp a szélsőséges (pH=4-4,5-5) tartományban jelentkeznek.



14. ábra. A PEC törzs növekedése különböző pH-értékeken.



15. ábra. A PEP törzs növekedése különböző pH-értékeken.



16. ábra. A PES törzs növekedése különböző pH-értékeken.

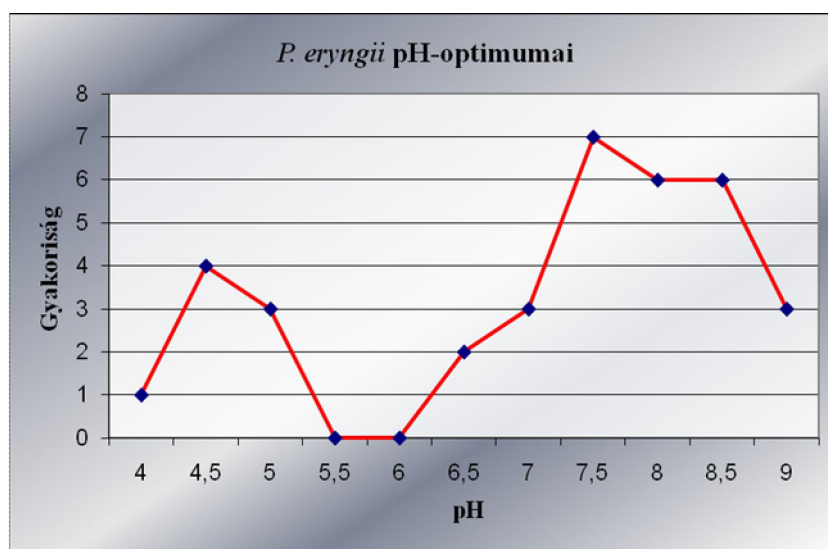
Több törzs esetében a pH=4 kémhatás erősen limitál, de vannak olyan törzsek, amelyek ezen az értéken sem mutatnak lényeges növekedésbeli lassulást. Meglepőnek találtuk néhány törzsnél, hogy alkalikus kémhatáson (pH=8-9) relatíve gyors növekedést mutatnak. Ez a tulajdonság felvetheti a lehetőségét a termesztésben a kompetitor és mikoparazita szervezetek elleni védekezésnek, a peszticidmentes termesztésnek, amennyiben a szubsztrátum kémhatását ezekhez az értékekhez közelítjük. A faj esetében ennek jelentősége lehet, ugyanis a termesztésben nitrogénnel dúsított alapanyagon kell dolgoznunk, ami kedvez a különféle kompetitor és mikoparazita penészek megjelenésének. Természetesen mindezt lignocellulóz alapanyagokon, termesztési kísérletekben kell igazolni. Amennyiben az *in vitro* megállapítások a termesztés vegetatív szakaszában igazolást

is nyerne, előfordulhat, hogy a reprodukív életszakasz számára ez a szélsőséges kémhatás nem optimális. A 14., 15. és 16. számú ábrákkal szemben, az M.2.4.2. mellékletben (M.2.4.2.1. – M.2.4.2.6. ábra) a különböző törzsek növekedését, adott pH értékeken mutatjuk be.

Amikor azt vizsgáltuk, hogy a törzsek hány nap alatt érik el a maximális telepátmérőt, és ezt gyakorisági táblázatban foglaltuk össze (8. táblázat), azt tapasztaltuk, hogy két pH tartományban mutattak intenzívebb szaporodást. Az egyik optimum a savas pH=4,5, a másik a lúgos pH=7,5-8,5 tartományban volt tapasztalható (17. ábra). Mivel ez az eredmény 15 törzs átlagát jelenti, így inkább jellemzőek ezek az optimum értékek általánosságban a fajra, mint annak a különböző törzseire. A két pH-optimum feltételezhetően jobb alkalmazkodást vagy túlélést biztosít a fajnak az eredeti élőhelyén.

8. táblázat. Összesítő táblázat a maximális telepátmérő (8,5 cm) elérésének idejéről (nap) a táptalaj kémhatásának függvényében.

Törzs/pH	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7	7,5	8	8,5	9
PEA	14	14	14	13	13	13	11	8	11	10	11
PEC	17	11	9	10	9	8	8	8	8	9	9
PEG	14	13	14	14	14	17	14	14	14	14	14
PEF	17	14	14	14	13	13	12	11	14	11	11
PEFi	11	11	10	10	10	10	8	8	8	9	9
PEL	14	14	14	14	14	13	14	14	14	17	16
PEP	17	17	19	22	22	22	22	22	22	22	22
PES	18	17	17	17	15	14	13	13	11	11	11
PE-SZM	14	14	11	14	13	13	13	13	13	13	14
Ple-1V	14	11	10	10	10	10	10	9	11	10	10
Ple-2V	11	9	9	10	11	13	10	10	9	9	11
Ple-3V	14	11	11	13	13	14	11	11	11	11	11
Ple-4V	14	11	11	13	11	13	11	11	11	10	11
Ple-5V	14	14	14	13	13	13	13	16	16	11	17
Ple-6V	14	14	14	13	14	13	13	11	11	13	14
K (P.o.)	9	9	9	9	9	9	8	8	8	8	9
Átlag	14,47	13,00	12,73	13,33	13,00	13,27	12,40	11,93	12,27	12,00	12,73
Szórás	2,031	2,299	2,915	3,109	3,047	3,173	3,397	3,693	3,535	3,525	3,515
Gyakoriság	1	4	3	0	0	2	3	7	6	6	3

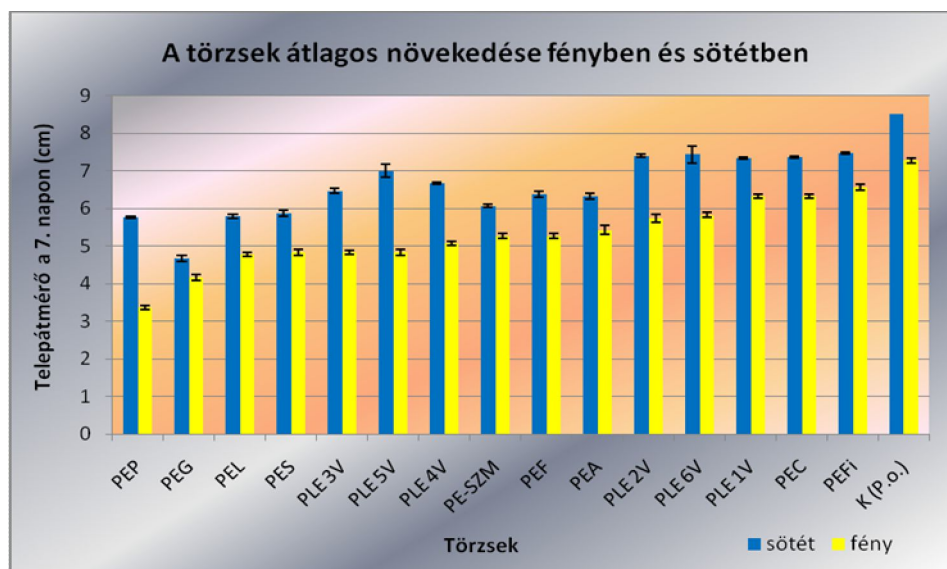


17. ábra. A *P. eryngii* fajra vonatkoztatott pH-optimumok.

A törzsek vegetatív micéliumának növekedési üteme fényben és sötétben

A fény/sötét vizsgálatokban megállapítható volt, hogy a sötét inkubáció fokozta a vegetatív micélium növekedését minden törzs esetében. A törzsek között lényeges különbségeket tapasztaltunk. Ezek az eredmények a termesztésben is hasznosíthatók lehetnek, például a fekete zsákokban vagy sötétben történő átszövetés csökkentheti a tenyészdőt. Természetesen ennek igazolására termesztési kísérletek beállítására van szükség. A legnagyobb különbség a legvontatottabb növekedésű PEP törzsnél volt szembeutó (18. ábra).

A termőidőszakban, a reprodukív fázisban ez a faj is fényt igényel, amelyről már 1960-ban KALMÁR adataiból is következtethetünk. Az általa pincében termesztett *P. eryngii* kísérletekben nem kapott kielégítő eredményeket, ugyanis a termőtestek fejletlenek és torzok voltak. A termőtest indukcióban és termésfejlődésben szerepet játszó fény pontos hullámhosszáról azonban ma sem rendelkezünk információval.



18. ábra. *P. eryngii* törzsek növekedése fényben és sötétben.

Sötétben a telepek növekedése átlagosan 6,53 cm volt, míg fényben csupán 5,24 cm. A növekedésselbeli eltérés a szélsőséges értékek esetén is látszik, hiszen a legkisebb méret sötétben 4,67 cm, míg fényben 3,37 cm. A legnagyobb növekedést produkáló törzsek sötétben 7,47 cm-re nőttek, míg fényben csupán 6,57 cm-re. Az egyes telepek növekedéseinek szórása között az eltérő fényviszonyok tekintetében jelentős különbséget nem tapasztaltunk, csupán 0,03 eltérés volt mérhető (9. táblázat).

9. táblázat. Összefoglaló táblázat a telepek növekedéséről fényben és sötétben.

<i>Törzsek növekedése alapján a fajra vonatkoztatott jellemzők</i>	<i>Növekedés sötétben (cm)</i>	<i>Növekedés fényben (cm)</i>
Átlagos nagyság	6,53	5,24
Legkisebb méret	4,67	3,37
Legnagyobb méret	7,47	6,57
Standard deviancia	0,82	0,85

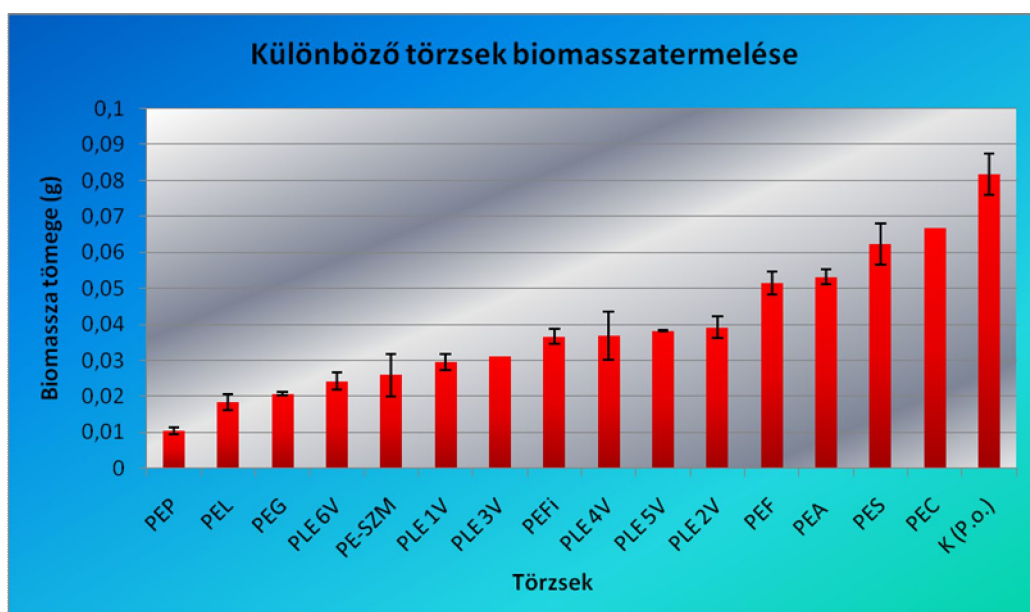
A Spearman-féle rangkorrelációs együttható értéke 0,842, amely azt mutatja, hogy a 15 törzs fényben és sötétben mért növekedése között nagyfokú hasonlóság tapasztalható. A kétféle növekedés között ugyan van eltérés, de nem jelentős, az együttváltozás erősen hasonló, szignifikáns, mely legalább 0,01 szignifikancia-szint mellett elfogadható (10. táblázat).

10. táblázat. Korreláció a fényben és sötétben mutatott növekedés között.

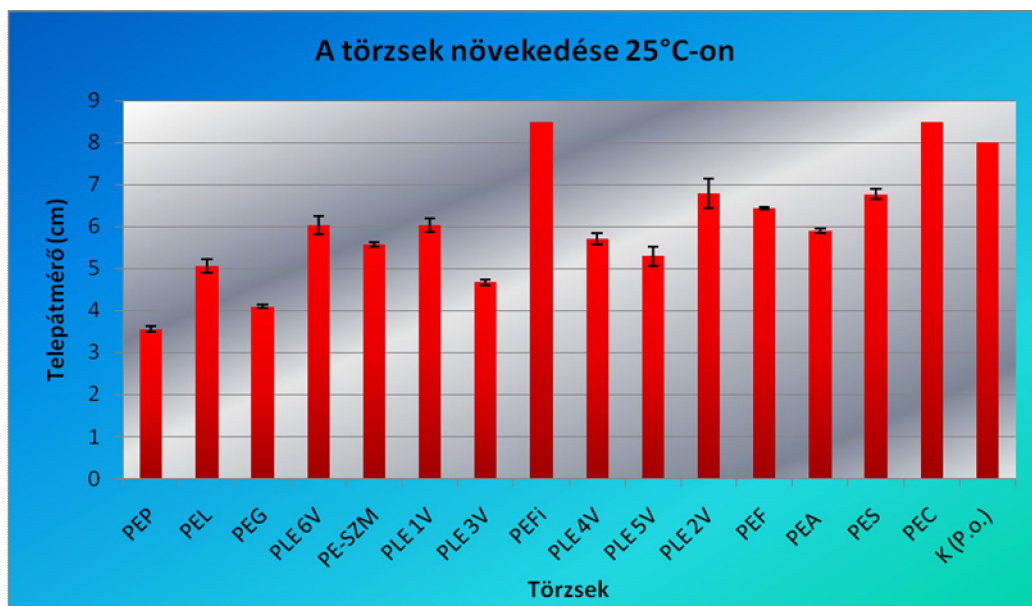
Spearman-féle korrelációs együttható			Sötét	Fény
	Sötét	Korrelációs együttható	-	0,842
		Mintaszám (n)	15	15
		Szignifikanciaszint	p < 0,01	

A törzsek vegetatív micéliumának gyarapodása

A celofántesztek száraz micéliumtömegének eredményei közepes korrelációt mutattak a 14. napon mért, 25 °C-on inkubált micéliumnövekedési tesztekben mért telepátmérőkkel (19-20. ábra és 11-13. táblázat). Az eltérésre magyarázatot jelenthet, hogy a különböző törzsek légmicéliuma, valamint a micélium sűrűsége különbözik. Ez azt jelentheti, hogy termesztésbe vonási kísérleteket megelőzően, a telepátmérők alapján történő törzsszelekció sem minden esetben ad megbízható eredményt.



19. ábra. Különböző törzsek biomassza-termelése a 7. napon, 25 °C-on.



20. ábra. A törzsek telepátmérőinek alakulása a 7. napon, 25 °C-on.

11. táblázat. Törzsek növekedése alapján a fajra vonatkoztatott jellemzők a biomassa tömeg tekintetében.

<i>Törzsek növekedése alapján a fajra vonatkoztatott jellemzők</i>	<i>Biomassa tömege 25 °C-on (g)</i>
Átlagos nagyság	0,0363
Legkisebb méret	0,0104
Legnagyobb méret	0,0669
Standard deviancia	0,0162

12. táblázat. Törzsek növekedése alapján a fajra vonatkoztatott jellemzők a telepátmérők alakulásáról.

<i>Törzsek növekedése alapján a fajra vonatkoztatott jellemzők</i>	<i>Telepátmérő 25 °C-on (cm)</i>
Átlagos nagyság	5,93
Legkisebb méret	3,56
Legnagyobb méret	8,5
Standard deviancia	1,38

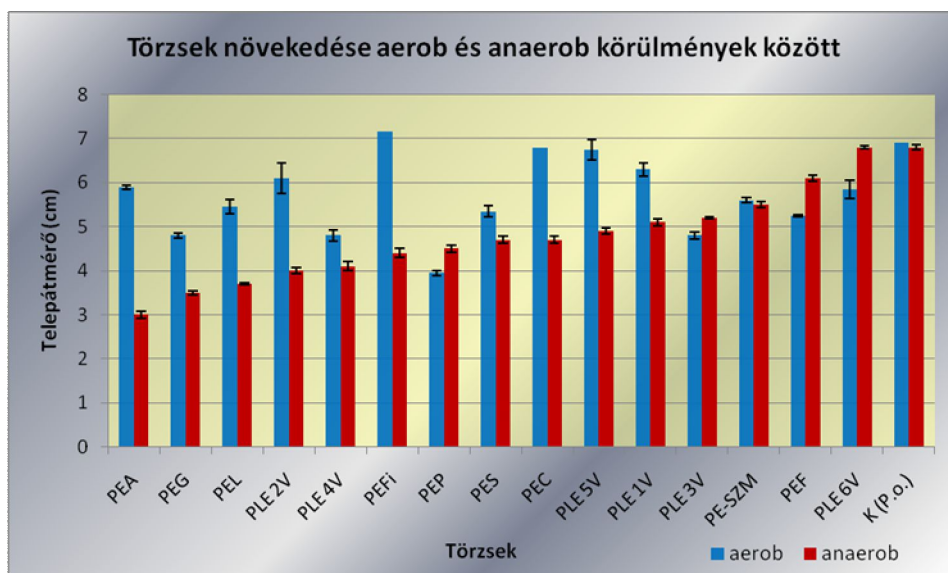
13. táblázat. Korreláció a biomassa-tömeg és a telepátmérők között.

Spearman-féle korrelációs együttható			Biomassa	Növekedés
	Biomassa	Korrelációs együttható	-	0,696
		Mintaszám (n)	15	15
		Szignifikancia-szint	p < 0,01	

Anaerobitás tolerancia vizsgálatok eredményei

Az anaerobitás tolerancia vonatkozásában megállapítható, hogy - annak ellenére, hogy a gombák aerob, fakultatív anaerob szervezetek – a törzsek az egy hetes teljes oxigénmentes gázösszetételben is viszonylag jól növekedtek megtartva életképességüket és a törzsekre jellemző növekedési ütemeiket. A növekedés üteme azonban fokozatosan csökkent az inkubáció ideje alatt. A jó anaerobitás tolerancia lehetővé teszi a termesztésben a levegőtlen, kompaktabb alapanyagok sikeres átszövetését (21. ábra).

A törzsek többsége aerob körülmények között jobb növekedést mutatott, de három törzs (PEP, PEF és Ple-6V) anaerob körülmények között mutatott gyorsabb növekedést, ebből kettő (PEP és Ple-6V) szignifikánsan nagyobb telepátmérőt produkált.



21. ábra. Törzsek növekedése aerob és anaerob körülmények között.

Aerob körülmények között a telepek növekedése átlagosan 5,75 cm volt, míg anaerob körülmények között csupán 4,7 cm. A növekedésbeli eltérés nem jelentős a szélsőséges értékek esetén sem, hiszen a legkisebb méret aerob feltételek mellett 3,71 cm, míg anaerob feltételek mellett 3,17 cm. A legnagyobb növekedést produkáló törzsek aerob és anaerob körülmények között egyaránt 6,8 cm körüli értéket értek el. Az egyes telepek növekedéseinek szórása között az eltérő aerobitás/anaerobitás tekintetében jelentős különbséget nem tapasztaltunk, csupán 0,07 eltérés volt mérhető (14. táblázat).

14. táblázat. Összefoglaló táblázat a telepek növekedéséről aerob és anaerob körülmények között.

<i>Törzsek növekedése alapján a fajra vonatkoztatott jellemzők</i>	<i>Aerob növekedés (cm)</i>	<i>Anaerob növekedés (cm)</i>
Átlagos nagyság	5,75	4,7
Legkisebb méret	3,71	3,17
Legnagyobb méret	6,8	6,87
Standard deviancia	0,92	0,99

A Spearman-féle korreláció szerint az aerob és anaerob körülmények között laza az összefüggés (0,322), tehát a két körülmény nem determinálja a növekedés mértékét a vizsgálat körülményei között (15. táblázat). Egyes törzsek aerob, míg más törzsek anaerob körülmények között növekednek jobban (pH=6 érték mellett).

15. táblázat. Korreláció az aerob és anaerob növekedés között.

Spearman-féle korrelációs együttható			Aerob	Anaerob
	Aerob	Korrelációs együttható	-	0,322
		Mintaszám (n)	15	15
		Szignifikancia-szint	p < 0,01	

Ozmotikumok növekedésre gyakorolt hatásának vizsgálata

A NaCl alkalmazása esetében, az 1%-os koncentráció a törzsek növekedését csak kis mértékben befolyásolta. A NaCl-ot nem tartalmazó kontrollok a 10-12. napon érték el a maximális telepátmérőt, míg az 1%-os NaCl koncentrációnál a növekedés a 13-14. napra tevődött át a törzsek többsége esetében. Két százalékos koncentráció mellett a maximális telepátmérő elérése már átlagosan 23. nap után következett be. A 3%-os koncentráció mellett a törzsek növekedése különböző telepátmérőnél egy platóba ment át, csak egy törzs (PEC) érte el a 23-25. napon a közel maximális telepátmérőt. A 4%-os NaCl koncentráció mellett még a legjobban növekedő törzsek is alig érték el a 3 cm-es telepátmérőt, további növekedés nem történt. Öt százalékos koncentráció mellett egyáltalán nem tapasztaltunk növekedést. A törzsek fejlődési ütemét a különböző só koncentrációkon az *M.2.4.3. számú melléklet (M.2.4.3.1. – M.2.4.3.4. ábra)* szemlélteti.

A glükóz koncentrációk vonatkozásában PDA kontrollok mellett a PEP, Ple-6V kivételével minden törzs elérte a maximális telepátmérőt a 15. napon. A 7,5%-os koncentrációnál az inkubáció 23. napján csak a K 357 (*P. ostreatus*) és a *P. eryngii* PEC törzse érte el a maximális telepátmérőt a 17. napon. Tíz százalékos glükóz koncentráció mellett kizárólag a K 357 (*P. ostreatus*) kontroll érte

el a 23. napon a maximális telepátmérőt. Az ördögszekér laskagomba törzsek egyike sem volt képes az inkubáció ideje alatt a lemezeket kolonizálni. A PEA törzs ezen a koncentráción alig érte el a 7 cm telepátmérőt, azonban ezzel a növekedéssel az általában leggyorsabb, PEC törzset felülmúlta. A 12,5%-os koncentráció, jelentős különbséget nem okozott a növekedésben, azonban a 15%-os koncentrációnál a legjobb növekedésű törzs telepátmérője is alig haladta meg a 3 cm-t a 23. napi inkubáció végére. Az összes törzs növekedése a 17,5%-os koncentrációnál állt le. A PEA ezen a koncentráción is elérte a 4 cm-es telepátmérőt, a PEC a 3,6 cm-t, a kontroll növekedése szinte teljesen gátolt volt. A növekedés felső határának ez utóbbi koncentráció szab határt, mindamellett, hogy a glükóz fontos szénforrás is egyben. A törzsek növekedési ütemét a különböző glükóz koncentrációkon az *M.2.4.4. melléklet (M.2.4.4.1. – M.2.4.4.4. ábra)* szemlélteti.

5.6. TÖRZS-ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI

Szaporítóanyag

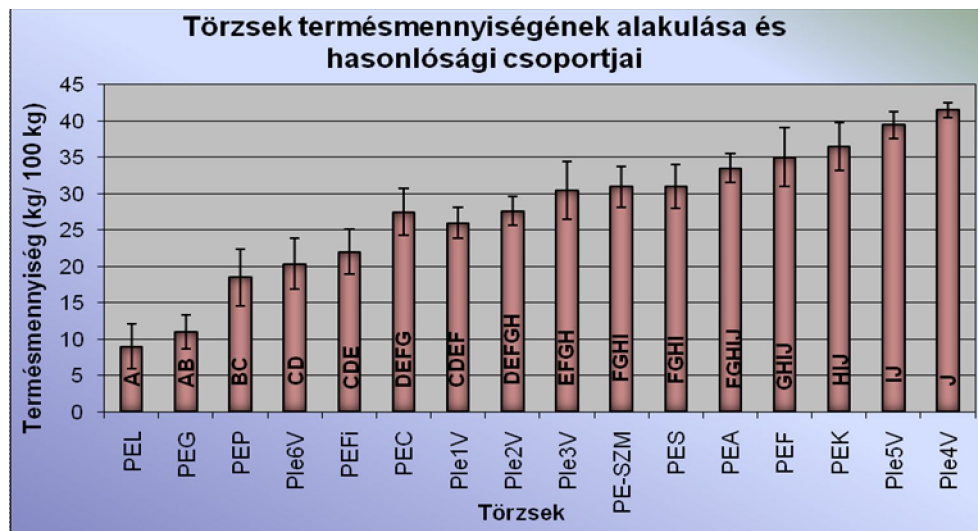
A lombikokban a telepátmérő a 10. napon érte el a kívánt 8-10 cm átmérőt, így ezen a napon ráztuk föl a tartalmukat. A 14. napra az összes lombik tartalma egyenletesen átszövődött. Ezt követően felhasználásig hűtőszekrénybe, 5 °C-ra helyeztük őket.

Alapanyag

A kiindulási alapanyag főbb kémiai paraméterei a következők voltak: nedvességtartalom: 62,02%; szárazanyag: 37,98%; szerves anyag: 96,27%; hamu: 3,73%; összes szén ($\times 0,5$): 48,13; összN: 0,98% (csírával oltást követően: $\sim 1\%$); fehérje ($\times 6,25$): 6,125.

Termésmennyiség

A legmagasabb termésátlagot a Ple-4V (41,5 kg/100 kg), majd a Ple-5V (39,5 kg/100 kg) törzsek, a legkevesebb termést pedig a PEL (9 kg/100 kg) és a PEG (11 kg/100 kg) törzsek adták. A faj vonatkozásában, 100 kg alapanyagra kalkulálva 27,53 kg átlagtermést lehetett betakarítani. A termőtestek száma 1488 db, a termőtestek átlagos tömege pedig a fajra vonatkoztatva 19,95 g volt. A törzsenkénti termésmennyiségről a 22. ábra nyújt áttekintést. Az ábrán látható továbbá, hogy Tukey-féle klaszter analízist követően csak két törzs volt egy adott csoportba sorolható (PE-SZM és PES), a többi törzs a kisebb terméseredményektől a magasabb termésmennyiségek felé folyamatos átmenetet mutattak.



22. ábra. A törzsek 100 kg alapanyagra vonatkoztatott termésmennyiségei (kg), valamint a törzsek közötti hasonlóság, különbség mértéke. (A különböző törzseknél, a betűkben történő egyezés nagyobb hasonlóságra, míg az eltérés nagyobb különbségre utal).

Véleményünk szerint a viszonylag magas termésátlagban, a törzsek genetikailag meghatározott tulajdonságai mellett, a következő tényezők játszottak szerepet. A takarás alkalmazása a kis tömegű szubsztrátumon megakadályozta a lignocellulóz alapanyag kiszáradását, a gomba számára egyenletesebb vízfelvételt, a termőfelszín felett egyenletes páratartalmat biztosított, és tompította a klimatizálásból eredő hibákat. Jelentős szerepe volt az egyes termesztési fázisok során megválasztott klimatikus (T, CO₂, RH, légáramlás) feltételeknek. A következő kulcsfaktor az alapanyag emelt nitrogéntartalma volt, amelyet magas nitrogéntartalmú, szója alapú dúsítóval (Promycel 480) értünk el. A termésmennyiségek alakulásában fontos szerepe volt a steril termesztéstechnológiának, az alapanyag kis tömegének, tömörségének, valamint a 60 nap alatt bevárt, átlagosan több (törzsektől függő számú) termőhullámnak.

A STAMETS (2000) által megadott 12-16 napos átszövetési idő esetünkben 8-10 napra rövidült, ugyanis magas (10%) csírázási rátával dolgoztunk. A rövidebb átszövetési idő ellenére, a STAMETS (2000) által megjelölt 20-29. napra várható első terméshullámot, a leggyorsabb termőtestképző törzseinknél sem tudtuk a 27-28. napnál hamarabb szedni. Megjegyezzük azonban, hogy más irodalmak szerint a 38. napon (RODRIGUEZ ESTRADA et al., 2009a), illetve a 37-54. napon tudták a gomba első hullámát betakarítani a különböző összetételű alapanyagokról (KIRBAG & AKYÜZ, 2008).

Biológiai hatékonyság és produktivitás

A biológiai hatékonyság szempontjából elmondható, hogy amennyiben a letermett alapanyag tömegével számolunk, viszonylag magas biológiai hatékonysági értékeket kapunk a törzsek jelentős részénél. Különösen magas érték tapasztalható a Ple-4V (156,18%), Ple-5V (140,03%) estében. A legkisebb hatékonyság a PEL (28,52%) és PEG (37,82%) törzsek esetén volt megfigyelhető. A fajra vonatkoztatva (törzsek átlaga) a letermett alapanyagok tömegviszonyaival számolt biológiai hatékonyság 98,41% és produktivitás 44,36% volt. Amennyiben a kiindulási alapanyagokkal számolunk mindkét mutató (BE% és P%) kisebb értéket eredményez, az alapanyagok tömegének termesztés ideje alatti változása miatt. A kiindulási alapanyagok esetén az átlagos biológiai hatékonyság 25,9%, a produktivitás 16,83%. Azért tartottuk fontosnak, mind a kiindulási, mind a letermett alapanyagok esetében is meghatározni a két paramétert, mert az irodalmak nem térnek ki arra, hogy a biológiai hatékonyság és produktivitás számításánál a termesztés előtti vagy a termesztés utáni alapanyag-tömeggel kell-e számolni? Ez is állhat az irodalmi részben szereplő nagy biológiai hatékonysági értékek különbségének hátterében. A kísérletbe bevont törzsek 100 kg szubsztrátumra kalkulált termésmennyiségeiről, a termőtestek számáról és átlagos tömegeiről, valamint a biológiai hatékonyságról és produktivitásról a 16. táblázat nyújt áttekintést. Látható, hogy attól függően, hogy a kiindulási vagy a letermett alapanyagok különbségeivel számolunk jelentős különbség tapasztalható a BE és P értékekben.

16. táblázat. A törzs-összehasonlító termesztési kísérlet fontosabb adatai, 100 kg alapanyagra kalkulálva.

Törzsek	Termés mennyisége (kg/100 kg)	^a Tt. száma összesen (db/100 kg)	^a Tt. átlagos tömege (g)	BE% (L)	P% (L)	BE% (F)	P% (F)	BE% (K)	P% (K)
<i>PEL</i>	9	1050	8,6	28,52	11,11	23,7	9	4,8	2,11
<i>PEG</i>	11	1500	7,3	37,82	14,29	29	11	8,9	3,29
<i>PEP</i>	18,5	550	33,6	56,31	20,56	48,7	18,5	7,6	2,06
<i>Ple-6V</i>	20,35	1050	19,4	74,35	32,82	53,6	20,35	20,8	12,47
<i>PEFi</i>	22	1100	20	72,29	31,65	57,9	22	14,4	9,65
<i>Ple-1V</i>	26	1400	18,6	97,33	44,83	68,5	26	28,9	18,83
<i>PEC</i>	27,5	1600	17,2	100,28	45,45	72,4	27,5	27,9	17,95
<i>Ple-2V</i>	27,6	1400	19,7	104,38	45,62	72,7	27,6	31,7	18,02
<i>Ple-3V</i>	30,5	2450	12,4	109,43	58,65	80,3	30,5	29,1	28,15
<i>PES</i>	31	1500	20,7	111,2	43,06	81,6	31	29,6	12,06
<i>PE-SZM</i>	31	2150	14,4	120	55,36	81,6	31	38,4	24,36
<i>PEA</i>	33,5	1700	19,7	118,44	45,58	88,2	33,5	30,2	12,08
<i>PEF</i>	35	1400	25	119,7	53,44	92,2	35	27,5	18,44
<i>PEK</i>	36,5	950	38,4	128,26	65,18	96,1	36,5	32,2	28,68
<i>Ple-5V</i>	39,5	1400	28,2	140,03	65,29	104	39,5	36	25,79
<i>Ple-4V</i>	41,5	2600	16	156,18	76,85	109,3	41,5	46,9	35,35
<i>Átlag (faj)</i>	27,53	1488	19,95	98,41	44,36	72,48	27,53	25,9	16,83
<i>Szórás</i>	9,401	541,14	8,258	35,773	18,64	24,75	9,4	11,713	9,973

^aTt: termőtest.

BE% (L) – BE% a letermett alapanyaggal számolva.

P% (L) – P% a letermett alapanyaggal számolva.

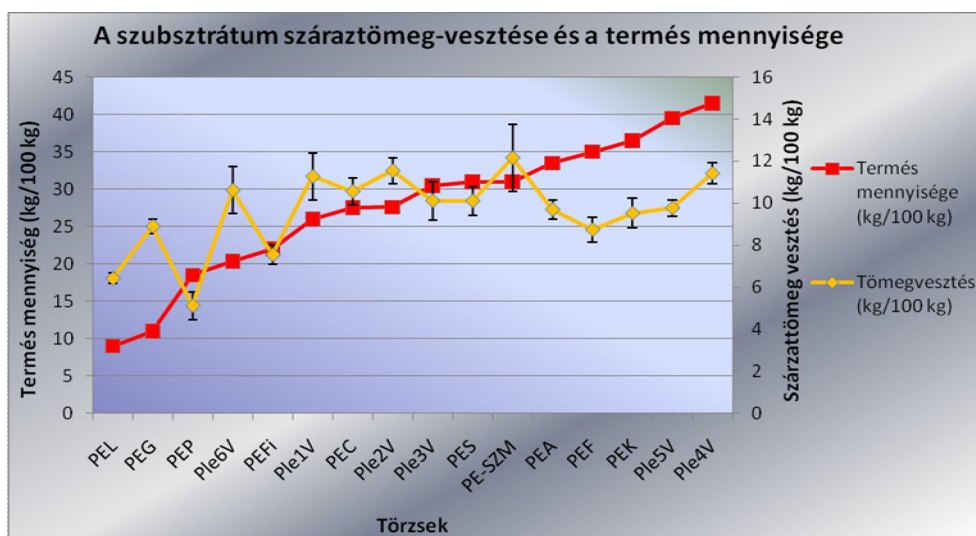
BE% (F) – BE% a friss alapanyaggal számolva.

P% (F) – P% a friss alapanyaggal számolva.

BE% (K) – BE% a letermett alapanyaggal számolva - BE% a friss alapanyaggal számolva (K-különbség).

P% (K) – P% a letermett alapanyaggal számolva - P% a friss alapanyaggal számolva (K-különbség).

A 23. ábrán látható, hogy a szubsztrátum tömegvesztése főként azoknál a törzseknél jelentős, ahol a termés mennyisége is magasabb volt. Ez azt jelenti, hogy a magasabb termésátlagot produkáló törzsek, egy bizonyos határig, enzimszubsztrátumukkal hatékonyabban képesek a szubsztrátum lebontására, hasznosítására. A száraz alapanyag tömegvesztésének legvalószínűbb magyarázata, hogy egyrészt a gomba beépíti saját (termő)testébe a szubsztrátum anyagait, amelyet a szedéssel kivonunk a rendszerből, másrészt eloxidálja azokat, és ennek során, az elsődlegesen a szubsztrátumból származó szerves vegyületek széntartalma, szén-dioxid formájában távozik, ami az alapanyag szárazanyag tömegének veszteséhez vezet. A termesztési beállítás mellett a tömegvesztés a faj átlagában 9,6 kg/100 kg (min.: PEP – 5,126 kg/100 kg; max.: PE-SZM – 12,15 kg/100 kg). A jobb termőképességű törzsek egy bizonyos határ után nem képesek az alapanyag intenzívebb bontására, hasznosítására, független attól, hogy termés mennyisége ezeknél a törzseknél még változott (emelkedett). Ebben az esetben már a törzsek közötti egyéb genetikai jellemzőknek köszönhető a termésmennyiségbeli különbség.

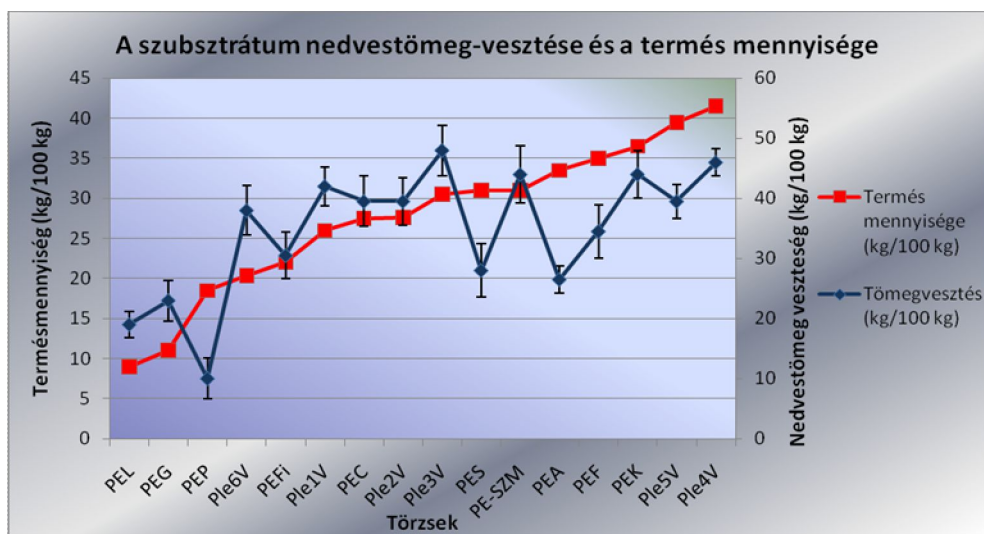


23. ábra. A kiindulási és letermett alapanyag száraz tömegeinek különbsége (szubsztrátum száraztömeg-vesztése) és a termés mennyiségének alakulása.

A szubsztrátum száraz tömegének vesztesége és a termésmennyiség közötti összefüggést Pearson-féle korreláció vizsgálatnak is alávetettük. A 16 mintára a Pearson-féle korrelációs együtthatót vizsgálva megállapíthatjuk, hogy a tömegvesztés és az összes termés között közepesnél erősebb, pozitív korreláció áll fenn ($r = 0,542$), amely 5%-os szignifikancia-szinten teljesül, azaz a korreláció szignifikáns ($\alpha = 3\%$). A tömegvesztés lineárisan összefügg a termésmennyiséggel.

Amennyiben azt vizsgáljuk, hogy a termés mennyisége hogyan függ össze az alapanyag nedves tömegének termesztés előtti és termesztést követő különbségével, akkor a grafikus ábrázolás

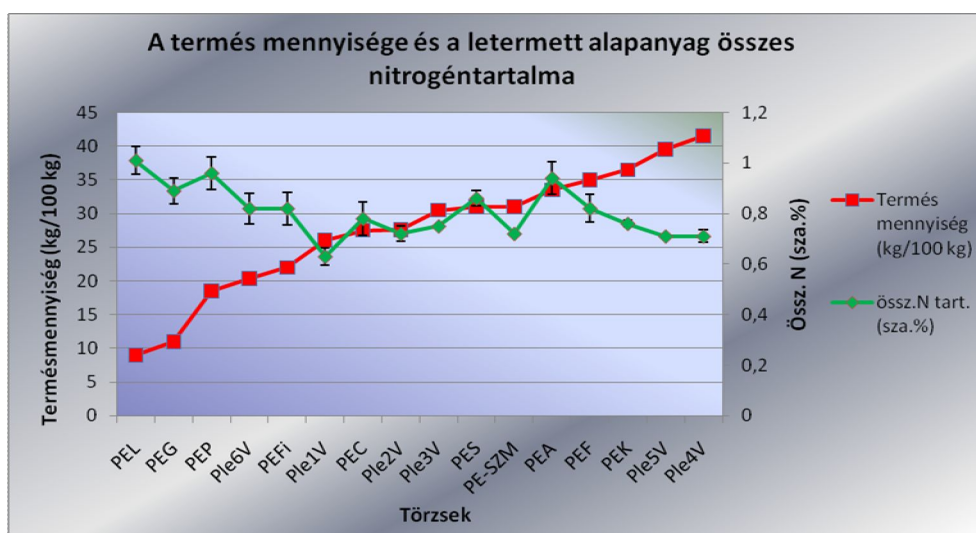
eredményeként az előző összefüggéshez hasonló képet kapunk (24. ábra). A nedves alapanyag tömegvesztését, a leszedett termés mellett még számos tényező befolyásolhatja: a) az evaporáció mértéke, összefüggésben a termesztőház klimatikus viszonyaival (elsősorban relatív páratartalom, légáramlás mértéke); b) a takarás vastagsága; c) a takaróföld nedvességtartalma; d) a takaróföldből a termőtestekbe irányuló vízmozgás és a termőtestek párologtatásának mértéke. A faj esetében még nem ismeretes, hogy a kétspórás csiperkegombához hasonlóan a takaróföldből történik-e víztranszport a termőtestekbe, és ha igen, ez milyen mértékű? Szintén nem ismerjük, hogy a törzsek párologtató képessége (növények analógiájára: transzspirációja) között milyen különbségek lehetnek?



24. ábra. A kiindulási és letermett nedves alapanyag tömegeinek különbsége (nedves szubsztrátum tömegvesztése) és a termés mennyiségének alakulása.

A grafikus kiértékelés mellett megvizsgáltuk, hogy összefügg-e a szubsztrátum nedves tömegének vesztesége a termésmennyiséggel? A kiértékelés során itt is Pearson-féle korreláció vizsgálatot végeztünk. A 16 mintára a Pearson-féle korrelációs együtthatót vizsgálva megállapíthatjuk, hogy a két jelenség között a közepesnél erősebb pozitív korreláció ($r = 0,655$) áll fenn, amely kevesebb, mint 1% szignifikancia-szinten teljesül ($\alpha = 0,6\%$).

Mivel a faj dúsított alapanyagban képes megfelelő mennyiségű és minőségű termést képezni, így kíváncsiak voltunk arra, hogy a letermett alapanyag összes nitrogéntartalma és a termésmennyiség között van-e összefüggés. Az eredmények grafikus szemléltetése a 25. ábrán látható.



25. ábra. A letermett alapanyagok összes nitrogéntartalmának és a termés mennyiségének összefüggései.

A törzsek esetében a Pearson-féle korrelációs együtthatót vizsgálva megállapíthatjuk, hogy a termésmennyiség és a nitrogéntartalom között szintén szignifikáns a korreláció, amely negatív irányú, a közepesnél erősebb szintű ($r = -0,593$), és legalább 5%-os szignifikancia-szinten teljesül ($\alpha = 1,5\%$). Összességében látható, hogy a kisebb termésmennyiséget produkáló törzsek esetében a letermett szubsztrátum nitrogéntartalma magasabb, a nagyobb termésmennyiséget biztosító törzsek esetében pedig alacsonyabb maradt.

Minőségi és egyéb paraméterek értékelése

A fenti megállapítások zömében a termés mennyiségére vonatkozóan és élettani tekintetben adtak felvilágosítást a törzsek, illetve a faj jellemzőiről. A morfológiai, minőségi kiértékeléshez fotódokumentációval ellátott, részletes termesztési leírást állítottunk össze (M.2.5. melléklet), amelyekből összefoglalóan a következőket emelnénk ki. Az első termőhullám megjelenésének ideje alapján megállapítható, hogy a leggyorsabb termőtestképző törzsek a Ple-3V, Ple-4V, Ple-5V, PES, PEA törzsek voltak. E törzsek első hullámának érett termése már a 27-28. napon betakarítható volt. A 30-31. napon lehetett szedni a PEP, PEC, PE-SZM, Ple-1V, Ple-2V, Ple-6V törzsek első termőhullámát. A 32-34. napon a PEK, PEF, PEF-i, majd a 37. napon a PEL, PEG törzsek első hullámát tudtuk betakarítani.

A termőtestek konzisztenciája tekintetében optimálisnak tekintettük a PEA, PES, PEF, PEK, PE-SZM, PEP, Ple-6V törzsek termőtesteit, míg a Ple-5V esetében nagy, vaskos tönkű, szivacsos, puha állagú termőtestek fejlődtek. A többi (PEG, PEL, PEC, zömében a fentebb nem említett Ple_V

kóddal rendelkező) törzs esetében erősebb, rostosabb, keményebb termőtestek fejlődtek, ami fogyasztói szempontból nem biztos, hogy preferált tulajdonság.

A vegetatív szakaszban a legintenzívebben fejlődő törzs a PEC volt, azonban micéliuma hajlamos a vattaszerű kifutásra. Ennek ellenére a sztróma-jellegű részen is számos primordium tudott kialakulni, és arról termőtestek is képződtek. Kis számban megjelenő torz termőtestekkel a Ple-1V és Ple-2V törzsek esetében találkoztunk.

Termésminőség és -mennyiség tekintetében is a két leggyengébben szereplő törzs a PEL és a PEG voltak. A PEL szabályos, de nagyon apró termőtesteket fejlesztett, jelentéktelen mennyiségben, míg a PEG ceruza vastagságú, görbült, kalap nélküli termőtesteket képezett. Utóbbiak még nemesítési alapanyag tekintetében sem jöhetnek számításba.

Mivel a faj termőtesteinek fogyasztói preferenciái országonként eltérnek, és hazánkban még nem is beszélhetünk erről, így ennek kiértékelését nem tudjuk megvalósítani.

A steril technológiával beállított termesztési kísérleteinkben, a tenyésztőszak alatt a maximális higiénés feltételek betartása mellett nem találkoztunk mikoparazita, és kompetitor penészekkel és kártevőkkel sem. Egy esetben a Ple-5V törzs egy termőtestének kalapján figyeltünk meg, a magas relatív páratartalomból eredően baktériumos (*Pseudomonas* sp.) foltosodást.

A törzs-összehasonlító termesztési kísérlet eredményeképpen jelen esetben kettő - nem kizárólag a termésmennyiség alapján kiválasztott - perspektivikus törzs főbb paramétereit mutatjuk be. Más perspektivikus törzsek fényképes dokumentációi, adatai az *M.2.5. mellékletben* olvashatók.

PES jelű törzs jellemzése:

A 23. napon kizárólag a zsák pereménél, kevésbé csokros megjelenésű, szép borsó nagyságú termőtestek voltak láthatóak, néhol egy-két dió nagyságú termőtesttel. A 26. és 27. napon gömb alakú, begöngyölt szélű, barnás-szürkés színű, kissé márványos kalapú termőtestek jelentek meg. A törzs első hulláma már a 28. napon szedésérett volt. A *kalap* a fiatal termőtesteknél félgömb alakú, széle sokáig begöngyölt, később kiterül, kissé tölcséressé válik, de a középpontja kissé púpos marad. Színe barnásszürke, gyenge lilás árnyalattal, felszíne benőtten sugarasan szálás, nemezes lehet, szárazon matt. Idővel a kalap széle kevésbé színeződik (sárgul). A *tönk* zömében központi helyzetű. A *lemezek* közepesen sűrűn állók, fiatalon fehéresek, majd szürkés színűek, a tönk harmadáig lefutók. A tönkön erek, szálak formájában folytatódnak. Spórapora fehér. Kereskedelmi forgalmazásra ajánlható törzs (26. és 27. ábra). Szedési napok: 28., 30., 32., 37., 47., 56., 60. nap. Egyéb termesztési jellemzők: BE (%) = 111,2; P (%) = 43,06; átlagos termésmennyiség: 31 kg/100 kg; átlagos termőtest-szám: 1500 db/100 kg; átlagos termőtest tömeg: 20,7 g.



26. ábra. A PES jelű törzs fotója a termesztésben.



27. ábra. Termesztés számára ajánlható PES jelű törzs termőtestei.

PEF jelű törzs jellemzése:

A vegetatív micélium a 18. napon futott föl a zsákok peremén. A 23. napon már jól látható volt a sodródás. A 27. napon sok „tűfej” (primordium) mellett, már több borsó és néhány dió nagyságú, kis termőtest is látható. A 30. napon a zsákokon már szabályos formájú, világosbarna kalapszínű termőtestek figyelhetők meg. A lemezek még nem vagy alig láthatóak. A tönk még lefelé kissé szélesedő. Az első hullám szedése a 34. napon történt meg. A *kalap* eleinte domború, majd kiterül és tölcséressé válik, gyakran tompán púpos, az idősebb termőtesteknél jól megfigyelhető a kalapszél szabálytalan, hullámos megjelenése és a tölcséresedés. Színe barnás, szürke árnyalattal, a szélén kissé világosabb. Felszíne benőtten sugarasan szálas, matt. A *tönk* fehér színű, központi vagy kissé excentrikusan illeszkedik a kalaphoz, néha oldalról lapított. A *lemezek* fiatalon fehéresek, majd később szürkés árnyalatúak lesznek. A tönkre mélyen lefutók, közepesen sűrűn állnak. *Spórakör* fehér. Csoportos megjelenésű, időnként igen nagyméretű csokrokat képez, mind a termőtestek méretét, mind a számát tekintve (28. és 29. ábra). Szép törzs, termesztési célokra kiváló, de néhány nappal hosszabb a tenyészideje. Szedési napok: 34., 47., 56. nap. Egyéb termesztési jellemzők: BE (%) = 119,7; P (%) = 53,44; átlagos termésmennyiség: 35 kg/100 kg; átlagos termőtest-szám: 1400 db/100 kg; átlagos termőtest tömeg: 25 g.



28. ábra. A PEF jelű törzs fotója a termesztésben.



29. ábra. Termesztés számára ajánlható PEF jelű törzs termőtestei.

5.7. TAKARÁSRA VONATKOZÓ TERMESZTÉSTECHNOLÓGIAI FEJLESZTÉSEK EREDMÉNYEI

A papírral lefedett blokkokon 2-3 nappal korábban jelent meg a micélium, mint a takaratlanoknál. A relatív páratartalom a termőidőszak alatt 85-93% volt, ami az eddig ismert irodalmi adatok szerint igen nagy, ennek ellenére a baktériumos foltosodás csak a 3. hullámban jelent meg, akkor is csekély mértékben. A maximum-minimum hőmérséklet naponkénti változásait alapvetően befolyásolta a külső hőmérséklet és a központi fűtés mértéke. Termőidőszakban a legmagasabb léghőmérséklet 23,3 °C, míg a legalacsonyabb 11,1 °C, a legtöbb napon 16-17 °C volt. A különböző helyeken, az alapanyagban mért maghőmérsékletek változásai csekélyebb mértékben követték a léghőmérséklet ingadozásait. Takarás után a 14. napon kezdtük el a szedést, vagyis a kétszórás csiperkegombától eltérően az első termőtestek a takart blokkokon nem kb. 3 hét múlva jelentek meg, hanem már két hét múlva.

A kísérlet eredményeiből kiderült, hogy a különböző takaróanyagokkal, különféle vastagságban takart blokkok több termést adtak, mint a takaratlanok (17. táblázat). A 100% őrölt mészkőporral takart blokkoknál az 1 cm vastagon takart blokkok adták a legtöbb termést. A „hagyományos takaróanyagnál” a 3 cm vastagságban takart blokkok teremtek a legtöbbet, és ugyanez a kezelés adta valamennyi kezelés közül a legtöbb termést is. A termésmennyiséget nézve az 50% takaróanyag és 50% mészkőpor keverékeknél volt a legnagyobb szórás, amelyre nem találtunk magyarázatot. Az 1 cm vastagságú keverékkel takart blokkok, a másik két vastagságú keveréknél többet teremtek, s csaknem ugyanannyi volt a hozam, mint az 1 cm vastagságban csak kőporral takart blokkoké. A különböző kezeléseket és a termés hozamok 100 kg szubsztrátumra kalkulált eredményeit a 17. táblázat tartalmazza.

17. táblázat. Különböző vastagságban és különböző takaróanyagokkal takart és takaratlan blokkokon 100 kg szubsztrátumra vetített hozamai (kg).

Takarás vastagsága (cm)	100% „hagyományos takaróanyag”	50% mészkőpor és 50% takaróanyag	100% őrlött mészkőpor*	Takaratlan
1 cm	25,03	30,10	30,15	22,70
2 cm	25,48	23,88	27,80	
3 cm	31,05	25,90	- ¹	

*Mészkőpor = a szemcse nagyság átlagosan 1 mm volt;

„hagyományos” takaróanyag= 90% tőzeg és 10% őrlött mészkőpor.

Tőzeges takaróanyaggal történő kezelések terméseredményei

Összehasonlítva az összes kezeléssel, a hagyományos takaróanyaggal különböző rétegvastagságban takart blokkok adták a legkiegyenlítettebb terméseket, mert a három terméshullámot nézve ezeknél a kezeléseknél még a III. hullámban is az összes termés körülbelül 20%-a került leszedésre, amint az a 18. és 19. táblázatban látható.

18. táblázat. Hagyományos takaróanyaggal különböző vastagságban takart blokkok terméshullámonkénti, százalékos megoszlása és a terméshullám napjai.

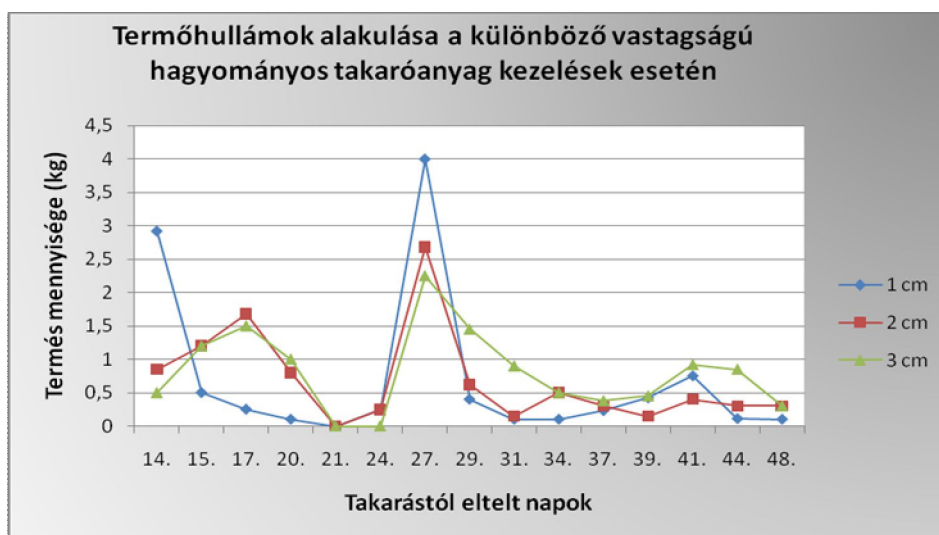
Hagyományos takaróanyaggal takart blokkok						
	1 cm vastagságú takarás		2 cm vastagságú takarás		3 cm vastagságú takarás	
	Össz.term.%	Hullám napjai	Össz.term.%	Hullám napjai	Össz.term.%	Hullám napjai
I. hullám	37	4	46,1	7	33,9	7
II. hullám	44,5	7	34,8	7	43,5	8
III. hullám	18,5	15	19,1	15	22,6	12

19. táblázat. Hagyományos takaróanyaggal különböző vastagságban takart blokkok terméshullámonkénti termésmennyiségei (kg/100 kg) és a terméshullám napjai.

Hagyományos takaróanyaggal takart blokkok						
	1 cm vastagságú takarás		2 cm vastagságú takarás		3 cm vastagságú takarás	
	kg/ 100 kg szubsztrátum	Hullám napjai	kg/ 100 kg szubsztrátum	Hullám napjai	kg/ 100 kg szubsztrátum	Hullám napjai
I. hullám	9,26	4	11,74	7	10,52	7
II. hullám	11,14	7	8,88	7	13,51	8
III. hullám	4,63	15	4,86	15	7,02	12
Összesen	25,03		25,48		31,05	

¹ A 100 % őrlött mészkőport nem vittük fel 3 cm vastagon, mert túl kicsinek ítéltük a szemcseméretét. A kísérlet beállítása előtt „próbaöntözést” végeztünk, s kiderült, hogy az öntözések miatt a kőpor összeáll, kemény „záróréteget” képez, ami a termőidőszakban az 1 és 2 cm vastagon takart blokkoknál be is következett.

A termőidőszak összesen 34 napon át tartott. Az I. és a II. terméshullám között 5-8 nap telt el, mialatt csak kevés mennyiségű „köztes” gombát szedtünk. A hagyományos takaróanyag különböző vastagságban takart blokkjainak a terméslefutását a 30. ábra szemlélteti. A görbék alakulása jól mutatja, hogy mindegyik rétegvastagságnál 2 kiemelkedő csúcs alakult, vagyis a két hullámban termett le az összes gomba jelentős része, míg a III. terméshullám időszaka már mindegyik kezelésnél meglehetősen elhúzódott.



30. ábra. 1, 2 és 3 cm vastagon „hagyományos” takaróanyaggal takart blokkok terméshullámjainak alakulása (8 blokk, azaz 32 kg szubsztrátumra megadva).

Takaróanyag-keverék kezelések terméseredményei

A 20. és 21. táblázat adataiból látható, hogy a keverék takaróanyaggal takart valamennyi rétegvastagságnál két terméshullám alatt az összes termés megközelítőleg 90%-át szedtük le. Az 1 cm és a 2 cm vastagságban takart blokkoknál az I. hullám 9 napja alatt az összes termés több mint 50%-a termett le. A 3 cm vastagon takart blokkok 3 nappal később fordultak termőre, mint az 1 és 2 cm vastagon takartak. Az 1 cm és a 2 cm vastagon takart blokkoknál az I. és a II. terméshullám között 3-7 nap telt el (31. ábra).

20. táblázat. 50% hagyományos takaróanyaggal + 50% kőpor keverékével különböző vastagságban takart blokkok terméshullámonkénti százalékos megoszlása és a terméshullám napjai.

50% hagyományos takaróanyaggal + 50% kőpor keverékével takart blokkok						
	1 cm vastagságú takarás		2 cm vastagságú takarás		3 cm vastagságú takarás	
	Össz.term.%	Hullám napjai	Össz.term.%	Hullám napjai	Össz.term.%	Hullám napjai
I. hullám	54,5	9	55,2	9	42,6	9
II. hullám	35,2	11	32,0	8	45,5	12
III.hullám	10,3	8	12,8	8	11,9	8

21. táblázat. 50% hagyományos takaróanyaggal + 50% kőpor keverékével különböző vastagságban takart blokkok terméshullámonkénti termésmennyiségei (kg/100 kg) és a terméshullám napjai.

50% hagyományos takaróanyaggal + 50% kőpor keverékével takart blokkok						
	1 cm vastagságú takarás		2 cm vastagságú takarás		3 cm vastagságú takarás	
	kg/ 100 kg szubsztrátum	Hullám napjai	kg/ 100 kg szubsztrátum	Hullám napjai	kg/ 100 kg szubsztrátum	Hullám napjai
I. hullám	16,40	9	13,18	9	11,03	9
II. hullám	10,60	11	7,64	8	11,79	12
III.hullám	3,10	8	3,06	8	3,08	8
Összesen	30,10		23,88		25,90	



31. ábra. 50% hagyományos takaróanyaggal + 50% kőpor keverékével különböző vastagságban takart blokkok terméslefutása (8 blokk, azaz 32 kg szubsztrátumra megadva).

Kőporral takart blokkok terméseredményei

A csak kizárólag kőporral (1 cm és 2 cm vastagságban) takart blokkokon nehezen tudott a micélium áttörni, de a hozam mindkét rétegvastagságnál ígéretes. A kőporos takarás nemcsak a termésmennyiség, hanem a termőtestek „tisztán” szedése miatt is kívánatos lenne.

22. táblázat. Kőporral takart és takaratlan blokkok terméshullámonkénti százalékos megoszlása és a terméshullám napjai.

	Kőporral takart blokkok				Takaratlan blokkok	
	1 cm vastagságú takarás		2 cm vastagságú takarás		Össz.term.%	Hullám napjai
	Össz.term.%	Hullám napjai	Össz.term.%	Hullám napjai		
I. hullám	66,8	9	56,6	7	56,7	8
II. hullám	31,7	11	42,0	22	33,8	9
III.hullám	1,5	8	1,4	3	9,5	11

23. táblázat. Kőporral takart és takaratlan blokkok terméshullámonkénti termésmennyiségei (kg/100 kg) és a terméshullám napjai.

	Kőporral takart blokkok				Takaratlan blokkok	
	1 cm vastagságú takarás		2 cm vastagságú takarás		kg/ 100 kg szubsztrátum	Hullám napjai
	kg/ 100 kg szubsztrátum	Hullám napjai	kg/ 100 kg szubsztrátum	Hullám napjai		
I. hullám	20,14	9	15,73	7	12,87	8
II. hullám	9,56	11	11,67	22	7,67	9
III. hullám	0,45	8	0,39	3	2,16	11
Összesen	30,15		27,8		22,7	

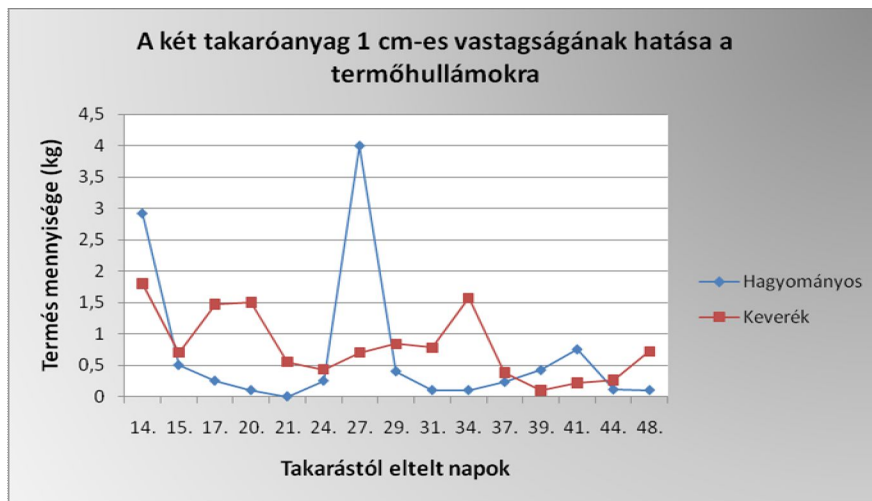
A kőporral 1 cm és 2 cm vastagon takart blokkok hozamainál megállapítható, hogy a III. terméshullám megvárása teljes mértékben gazdaságtalan (22. és 23. táblázat), az összes termés alig 1,5%-a termett, ugyanakkor ez a csekély mennyiség is 8 nap alatt. Ugyanez a következtetés vonható le a takaratlan blokkoknál is. Két terméshullámban elérhetjük az összes termés több mint 90%-át.

Takaratlan blokkok eredményei

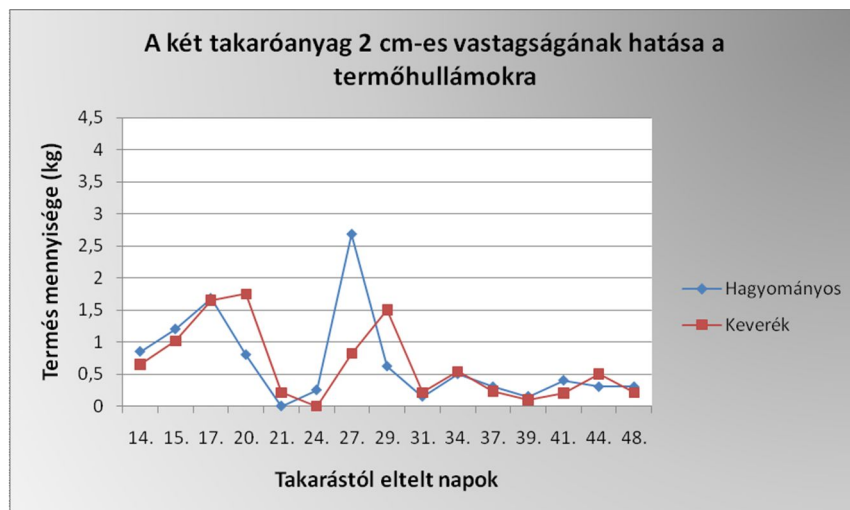
A takaratlan blokkok kevesebbet teremtek, mint a takartak (23. táblázat). A termőidőszakban a leszedett termőtestek minőségét is figyelemmel kísértük, s megállapítottuk, hogy a takaratlan blokkokon a termőtestek minősége is rosszabb volt. A termőtestek elsősorban a blokkok széleinél fejlődtek, lényegesen kisebb számban és méretben, mint a takart kezeléseknél, és a primordiumok hajlamosabbak voltak az elhalásra.

Termőhullámok lefutása a hagyományos és a keverék takaróanyag-kezelések esetén

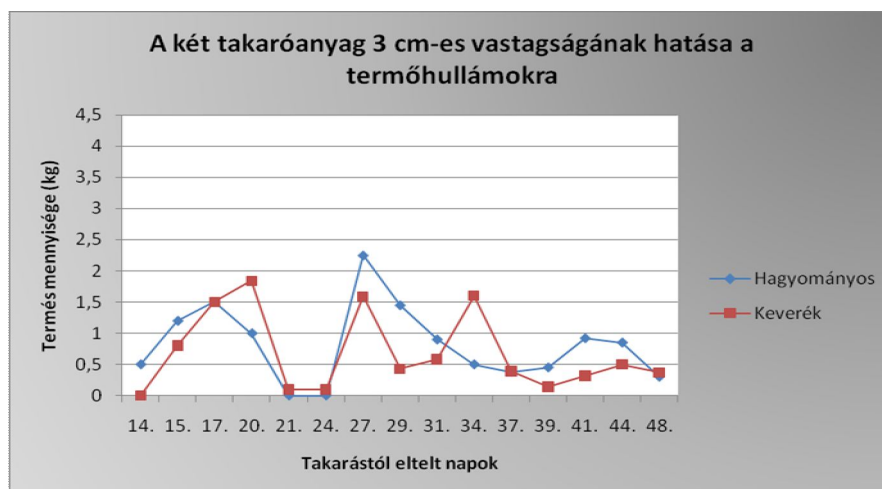
A 32. ábra az 1 cm vastagon, „hagyományos” takaróanyaggal és keverékkel takart blokkok termés-alakulását, a 33. ábra a 2 cm vastagon, „hagyományos” takaróanyaggal és kőpor keverékkel, míg a 34. ábra a 3 cm vastagon, ugyancsak a „hagyományos” és a kevert takaróanyaggal takart blokkok termésmennyiségét és terméslefutását ábrázolja.



32. ábra. 1 cm vastagon, „hagyományos” takaróanyaggal és keverékkel takart blokkok termés-
alakulása.



33. ábra. 2 cm vastagon, „hagyományos” takaróanyaggal és keverékkel takart blokkok termés-
alakulása.



34. ábra. 3 cm vastagon, „hagyományos” takaróanyaggal és keverékkel takart blokkok termés-
alakulása.

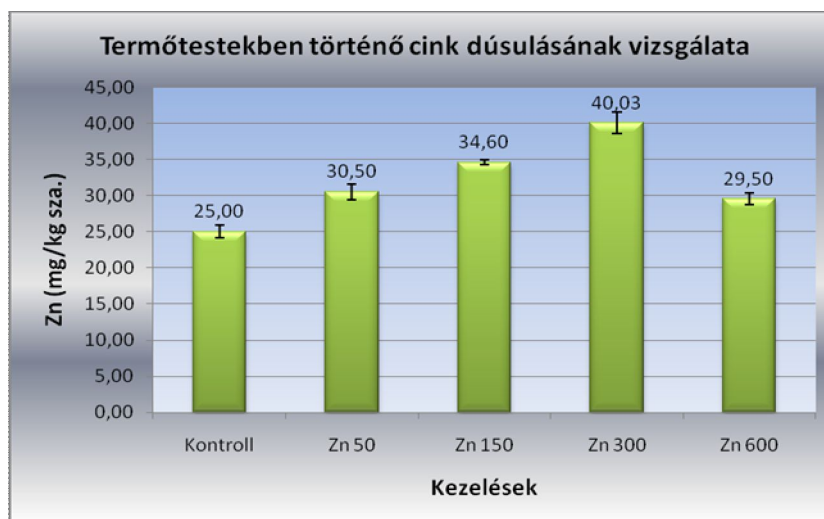
Mindhárom rétegvastagságnál két erőteljes hullámot kaptunk, a 3. hullámban már nemcsak kevés volt a termés, hanem a hullám is elhúzódott. Termesztéstechnológiai megfigyelés, hogy a különböző takaróanyaggal takart blokkokat az átszövetési időszak kezdetén célszerű papírral takarni, mert ezáltal a takarórétegben jobban képesek vagyunk biztosítani a megfelelő nedvességet és az optimális mikroklimát, s ezzel 2-3 nappal előbb kezdődik az 1. terméshullám, mint a nem takart felületeken. Érdekes tapasztalat, hogy amennyiben a csiperketermesztésben használt, „hagyományos” takaróanyaggal takarunk, akkor feltételezhetően célszerű borzolni, mert így az erőteljes csokrosodás csökkenthető, ami a termőidőszakban megfigyelhető volt. Kísérleteink alapján alkalmazását még nem tudjuk egyértelműen javasolni. A borzolás és a csokrosodás összefüggéseinek feltárására további kísérletek beállítása szükséges. Szintén célszerűnek tartanánk a frissen tarkart blokkok esetében a takaró föld-csira bekeverésének a kipróbálását. A kísérletben termesztett két törzset az *M.2.6. mellékletben (M.2.6.3. – M.2.6.8. ábra)* mutatjuk be.

5.8. MIKROELEM-DÚSULÁS VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI

A cink dúsulásának vizsgálata

A termőtestekben mért cinkmennyiségek alakulása

A PES jelű törzs vizsgálata során a kezeletlen kontroll termőtestekben 25 mg/kg sz.a. cinkmennyiséget mértünk. Ehhez képest a Zn50 (azaz 50 ppm Zn került az alapanyagba) kezelésből származó termőtestekben 5,5 mg/kg mennyiséggel, a Zn150 kezelésben 9,6 mg/kg mennyiséggel, míg a Zn300 kezelésből származó termőtestekben 15,03 mg/kg mennyiséggel magasabb cinktartalmat mértünk a kontrollhoz képest. A Zn600-as kezelésben a cinktartalom a termőtestekben a Zn50 kezelés körüli értékre esett vissza. A termőtestek kezelésenkénti cinktartalmát a 35. ábra mutatja.



35. ábra. A termőtestekben mért cink mennyiségek alakulása kezelésenként (mg/kg sz.a.).

Az EMF értékek a következőképpen alakultak: Zn50 – 1,220; Zn150 – 1,384; Zn300 – 1,601 és a Zn600 esetében 1,180. Az EMF értékek alakulását a 36. ábra szemlélteti. A termőtestekből visszamérhető Zn mennyiségeit (mg/kg sz.a.), valamint az EMF és az EMF* értékeket a 24. táblázat mutatja be. A kísérlet eredményeképpen megállapítható, hogy számottevő cinkdúsulás nem történt egyik kezelés esetében sem. A legmagasabb, 1,6 EMF érték a Zn300 esetében volt tapasztalható.



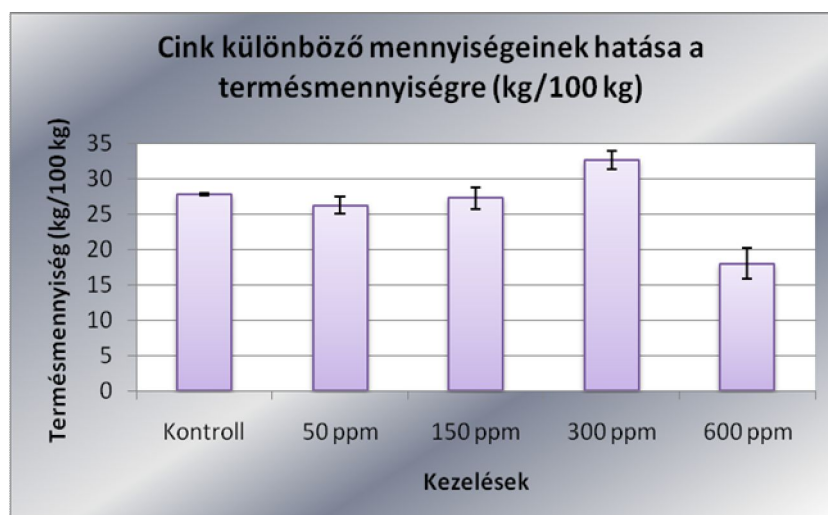
36. ábra. Az EMF értékek alakulása a különböző cink kezelések során.

24. táblázat. A cink dúsulási vizsgálataival kapcsolatos adatok.

	<i>Zn mennyiség</i>	<i>EMF</i>	<i>EMF*</i>
<i>Kontroll</i>	25,00	-	-
<i>Zn 50</i>	30,50	1,220	-
<i>Zn 150</i>	34,60	1,384	1,134
<i>Zn 300</i>	40,03	1,601	1,157
<i>Zn 600</i>	29,50	1,180	0,737

A termésmennyiség alakulása a cinkkezelésekben

A cink kezelések esetében a kontrollhoz képest az 50, 150 ppm-es kezelések termésmennyiségeiben nem tapasztaltunk lényeges különbségeket. A 300 ppm-es mennyiség esetében 100 kg alapanyagra vonatkoztatva 30 kg fölötti termésmennyiséget tudtunk betakarítani, ami lényegesen magasabb, mint a kontrollé. A legmagasabb, 600 ppm-es kezelés esetében a termés mennyisége jelentősen visszaesett 20 kg/100 kg alapanyag alá. A termésmennyiség alakulását a 37. ábra mutatja.

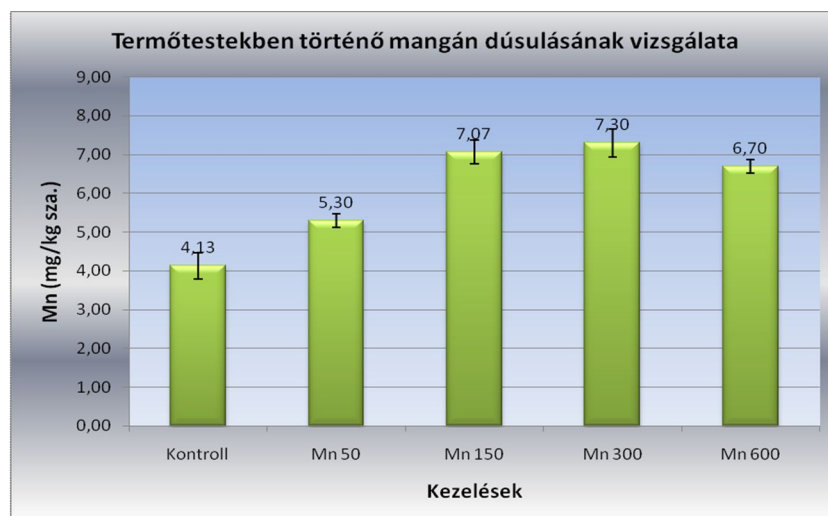


37. ábra. A PES törzs termésmennyiségének alakulása a cink különböző koncentrációinak a jelenlétében.

A mangán dúsulásának vizsgálata

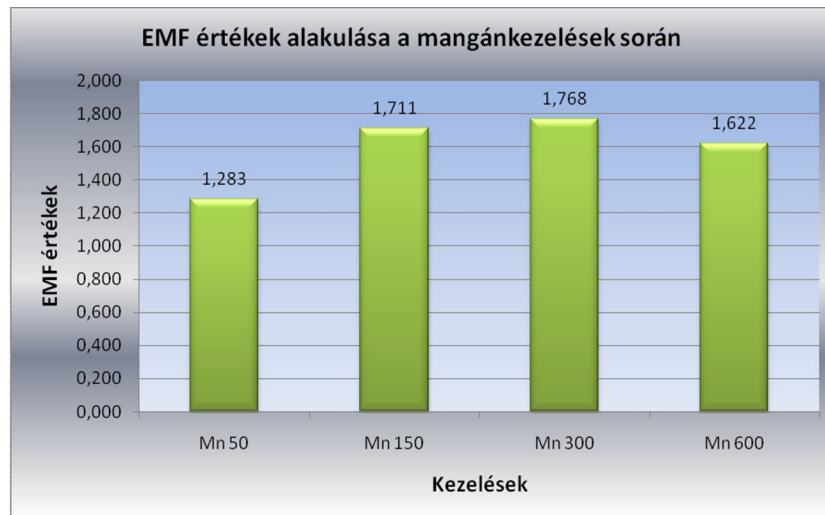
A termőtestekben mért mangánmennyiségek alakulása

A PES törzs vizsgálata során a kezeletlen kontroll termőtestekben 4,13 mg/kg sz.a. mangánmennyiséget mértünk. Ehhez képest a Mn50 kezelésből származó termőtestekben 5,30 mg/kg-mal, a Mn150 kezelésben 7,07 mg/kg-mal, míg a Mn300 kezelésből származó termőtestekben 7,30 mg/kg mennyiséggel magasabb mangántartalmat mértünk a kontrollhoz képest. Látható, hogy a Mn150 és a Mn300 kezelések mangántartalma között nincs lényeges különbség. A Mn600-as kezelésben a mangántartalom a termőtestekben 6,70 mg/kg értékre esett vissza. A termőtestek kezelésenkénti mangántartalmát a 38. ábra mutatja.



38. ábra. A termőtestekben mért mangánmennyiségek alakulása kezelésenként (mg/kg sz.a.).

Az EMF értékek a következőképpen alakultak: Mn50 – 1,283; Mn150 – 1,711; Mn300 – 1,768 és a Mn600 esetében 1,622. Az EMF értékek alakulását a 39. ábra szemlélteti. A termőtestekből visszamérhető Mn mennyiségét (mg/kg sz.a.), az EMF és az EMF* értékeket a 25. táblázat mutatja be. A kísérlet eredményeképpen megállapítható, hogy számottevő mangándúsulás nem történt egyik kezelés esetében sem. A legmagasabb 1,76 EMF értéket a Mn300-as kezelésnél mértünk.



39. ábra Az EMF értékek alakulása a különböző mangán kezelések során.

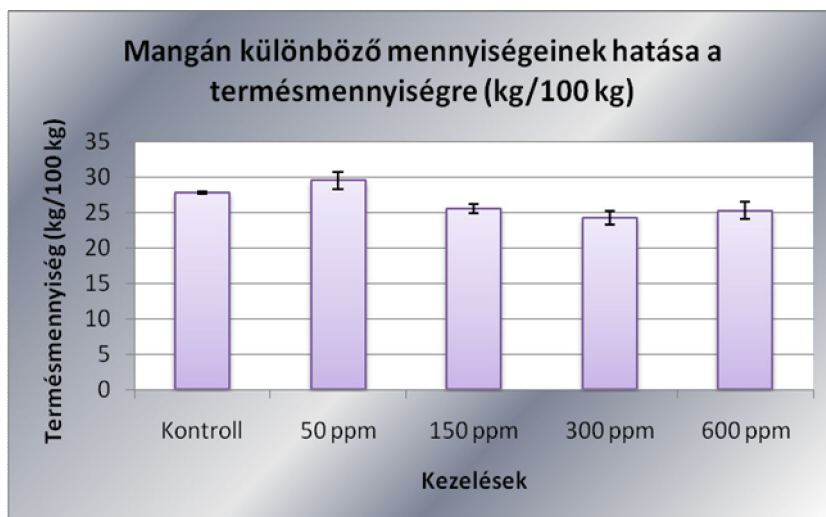
25. táblázat. A mangán dúsulási vizsgálataival kapcsolatos adatok.

	<i>Mn mennyiség</i>	<i>EMF</i>	<i>EMF*</i>
Kontroll	4,13	-	-
Mn 50	5,30	1,283	-
Mn 150	7,07	1,711	1,333
Mn 300	7,30	1,768	1,033
Mn 600	6,70	1,622	0,917

A termésmennyiség alakulása a mangánkezelésekben

A mangánkezelések esetében elmondható, hogy az 50 ppm-es koncentráció közel 30 kg-os termést biztosított 100 kg mennyiségű alapanyagra vonatkoztatva, ami magasabb volt, mint a kontroll. A 150, 300 és 600 ppm-es mennyiségek terméseredményei közel azonosak, de a kontrolltól lényegesen kevesebb (25 kg/100 kg körüli mennyiség). Ez a termésmennyiség-csökkenés nem éri el a cink ugyanilyen koncentrációjánál tapasztaltakat. A mangánkezelések termésmennyiségeinek alakulását a 40. ábra mutatja. A mangánnak fontos szerepe lehet a lignin bontásában ugyanis a mangán-peroxidáz enzim nem nélkülözheti a mangán jelenlétét. Az

alapanyagok főbb kémiai paraméterei (28. táblázat) azonban nem mutattak lényeges különbséget a különböző mangánkoncentrációk esetében. Ennek oka lehet, hogy ezek az alapanyag-mérések nem alkalmasak a finomabb enzimatikus folyamatok tanulmányozására, de ok lehet, hogy dúsított alapanyagon a ligninbontás represszált.



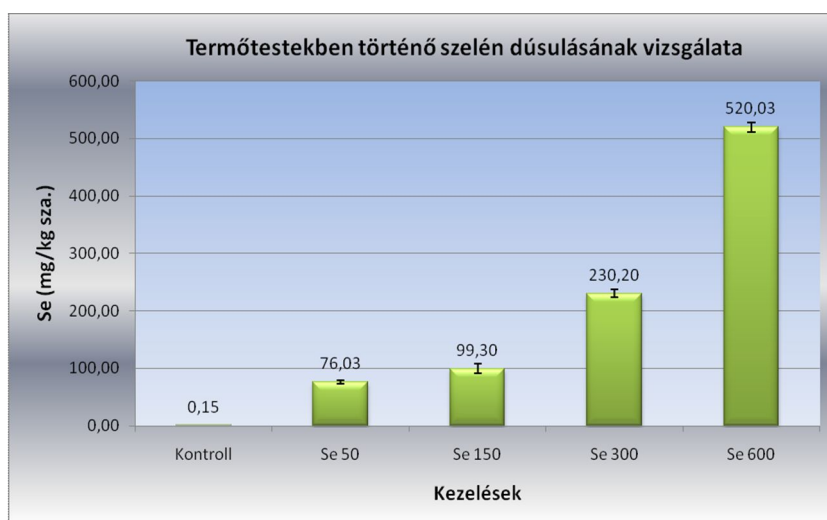
40. ábra. A PES törzs termésmennyiségének alakulása a mangán különböző koncentrációinak a jelenlétében.

A szelén dúsulásának vizsgálata

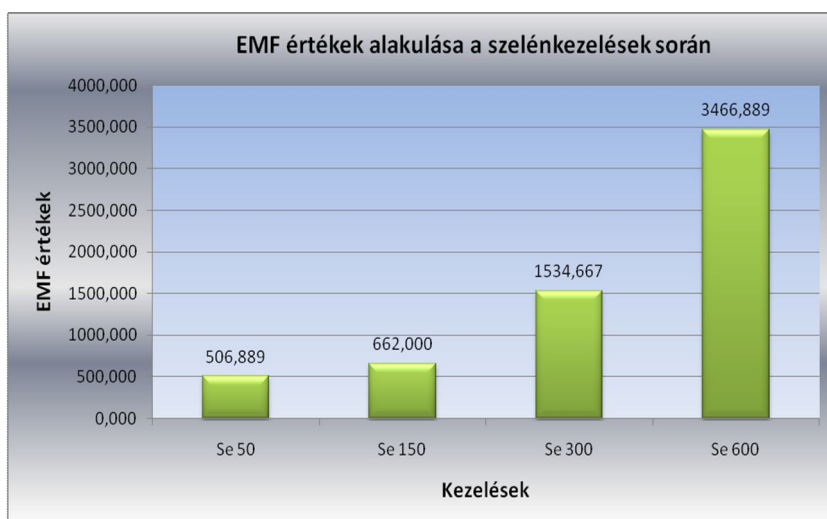
A termőtestekben mért szelénmennyiségek alakulása

A PES törzs vizsgálata során a kezeletlen kontroll termőtestekben 0,15 mg/kg sz.a. szelénmennyiséget mértünk. Ehhez képest a Se50 kezelésből származó termőtestekben 75,88 mg/kg-mal, a Se150 kezelésben 99,15 mg/kg-mal, míg a Se300 kezelésből származó termőtestekben 230,05 mg/kg mennyiséggel magasabb szeléntartalmat mértünk a kontrollhoz képest. A Se600-as kezelésben a szeléntartalom a kontrollhoz képest 519,88 mg/kg mennyiséggel volt több, így a gomba termőteste 520,03 mg/kg szelént tartalmazott, ami jelentős mértékű dúsulást jelent. A kezelésenkénti, termőtestekben mérhető szelénmennyiségeket az 41. ábra mutatja.

Az EMF értékek a következőképpen alakultak: Se50 – 506,889; Se150 – 662; Se300 – 1534,667 és a Se600 esetében 3466,889. Ez utóbbi mindenképpen figyelemreméltó eredmény. Az EMF értékek alakulását a 42. ábra, a Se mennyiségét (mg/kg), az EMF és az EMF* értékeket a 26. táblázat foglalja össze.



41. ábra. A termőtestekben mért szelénmennyiségek alakulása kezelésenként (mg/kg sz.a.).



42. ábra. Az EMF értékek alakulása a különböző szelén kezelések során.

26. táblázat. A szelén dúsulási vizsgálataival kapcsolatos adatok.

	<i>Se mennyiség</i>	<i>EMF</i>	<i>EMF*</i>
Kontroll	0,15	-	-
Se 50	76,03	506,889	-
Se 150	99,30	662	1,306
Se 300	230,20	1534,667	2,318
Se 600	520,03	3466,889	2,259

A kísérlet eredményeképpen megállapítható, hogy jelentős szeléndúsulás volt megfigyelhető a termőtestekben. Azáltal, hogy mérsékelt mennyiségű szelént adagolunk a szubsztrátumhoz, lehetőség nyílik emelt szeléntartalmú gombatermék előállítására. Egyrészt lényegesnek tartjuk, hogy a szubsztrátumhoz adagolt szelén mennyisége olyan mennyiségben kerüljön az alapanyagba,

hogy a termesztés során jelentős termésvesztést ne okozzon, másrészt pedig a fogyasztók vonatkozásában kizárható legyen a toxicitás lehetősége. Az eredményekből megállapítható, hogy nem lehet olyan mennyiségű szelént az alapanyagba keverni, amely a termésmennyiség csökkenését okozná, ugyanis az a koncentráció, a dúsulás mértékéből kifolyólag, már humán toxicitási veszélyeket hordozna magában (27. táblázat).

A jelenlegi kísérletben a PES jelű törzzsel dolgoztunk, azonban az sem kizárt, hogy a különféle törzsek között a szelén dúsulásának a mértéke ettől eltérhet. Nem ismerjük azt sem, hogy az alapanyag összetételének milyen hatása van a törzs szelénhalmozására. Mindezek ellenére a dúsulás eredménye tehát nem kétséges.

A szelénben dúsított gomba, mint élelmiszer újabb kérdéseket vethet fel. Mivel a gombák a nehezen emészthető táplálékaink közé tartoznak, jelenleg nem tudjuk megbecsülni, hogy ilyen élelmiszer-mátrixból a szelén milyen mennyiségben abszorbeálódik, és milyen fizikai, kémiai és egyéb hatások okozhatnak csökkent vagy fokozott felszívódást. A szelénnek, gombából történő felszívódását emésztési modellben, állatetetés kísérletekben tartanám célszerűnek megvizsgálni. Amennyiben 100 g nyers gomba elfogyasztását, valamint 100%-os abszorpciót tételezünk föl, azt tapasztaljuk, hogy a dúsulás az RDA közel százszorosa is lehet a szelén esetében, ami mérgezést válthat ki a fogyasztók körében. A kezelések függvényében a 100 g nyers gomba elfogyasztásához kapcsolódó szelén mennyiségeket a 27. táblázat foglalja össze.

27. táblázat. A kezelésből származó 100 g friss gomba elfogyasztásával szervezetbe jutó szelén mennyisége, amennyiben a biológiai hasznosulást 100%-nak vesszük.

	<i>Kontroll</i>	<i>50 ppm</i>	<i>150 ppm</i>	<i>300 ppm</i>	<i>600 ppm</i>
100 g friss gombában található szelénmennyiség*	1,5 µg	760 µg	990 µg	2300 µg	5200 µg
100 g friss gomba fogyasztása az RDA Se ₅₅ µg értéket mennyivel haladja meg	nem fedezi	13,8 ×	18 ×	41,8 ×	94,5 ×
100 g friss gomba fogyasztása a táplálék-kiegészítőkben található Se ₇₀ µg mennyiséget mennyivel haladja meg	nem fedezi	10,9 ×	14,1 ×	32,9 ×	74,3 ×
100 g friss gomba fogyasztása a rövid ideig használható maximális napi Se ₆₀₀ µg mennyiséget mennyivel haladja meg	nem éri el	1,3 ×	1,65 ×	3,8 ×	8,6 ×
A már toxikusnak számító napi Se mennyiséget (900 µg) 100 g nedves gomba fogyasztása mennyivel haladja meg?	nem éri el	(nem éri el 0,84 ×)	1,1 ×	2,5 ×	5,7 ×

*A gomba nedvességtartalmát 90%-nak vettük.

A táblázat eredményeiből látható, hogy az RDA értéket, valamint a táplálék-kiegészítőkben található szelénmennyiséget már az 50 ppm-es kezelésből származó 100 g friss gomba elfogyasztásával is elérjük, sőt meg is haladjuk. Ez a mennyiség a magas dózishoz számító 600 µg mennyiséget 1,3-szorosával haladja meg, azonban még nem éri el a toxikusnak tartott 900 µg mennyiséget.

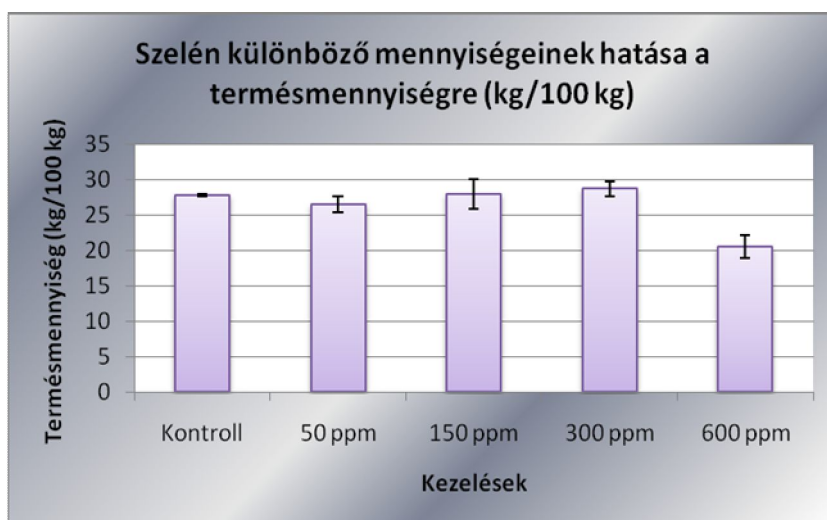
A 150 ppm-es kezelésből származó termőtestek szeléntartalma a toxikus dózis értékét már túllépi. Ez azt jelenti, hogy a termőblokkok szelénrel történő kezelése 50 ppm mennyiség erejéig, a kísérletben használt törzs esetében biztonságos (nem rendszeres fogyasztás esetén).

Termesztői szempontból fontos lehet, hogy az ilyen vagy ez alatti szelénmennyiség nem zavarja a termőblokkok átszövődését, termőre fordulását, sőt a termés mennyiségére sincs jelentős hatással (43. ábra).

A dúsulás vonatkozásában nem minden esetben szükséges pusztán a friss gomba fogyasztásából kiindulni, mivel a szelénrel dúsított termőtestek porát élelmiszeradalékként, táplálék kiegészítőként is lehetőség van használni. A gomba pora részét képezheti egy-egy bio-szelénben gazdag funkcionális élelmiszerfejlesztésnek.

A termésmennyiség alakulása a szelénkezelésekben

A különböző szelénvegyület mennyiségekkel kezelt zsákokról az 50, 150, 300 ppm-nél a kontrollhoz hasonló termésmennyiségeket lehetett leszedni, azonban a 600 ppm-es koncentráció, jelentős termésmennyiségbeli csökkenést okozott. A termésmennyiségek kezelésenkénti alakulását a 43. ábra mutatja.



43. ábra. A termésmennyiség alakulása a különböző szelénkoncentrációk mellett.

28. táblázat. A Zn, Mn és Se kezelésekől származó alapanyagok alapvető kémiai paraméterei.

PES törzs	Termés mennyiség (kg/100 kg)	Szárazanyag (%)	Nedvesség (%)	Hamu (%)	Szén	Nitrogén	C/N sz.a.-ra vonatkoztatva
K	27,75	58,492	41,508	30,00	35,000	1,149	30,461
Zn 50	26,25	51,087	48,913	27,93	36,036	1,131	31,862
Zn 150	27,25	55,644	44,356	31,82	34,091	0,892	38,219
Zn 300	32,58	53,946	46,054	27,71	36,145	1,044	34,621
Zn 600	18,00	53,705	46,295	23,30	38,350	1,190	32,226
Se 50	26,5	64,072	35,928	25,26	37,368	1,138	32,837
Se 150	28,00	51,414	48,586	29,92	35,039	1,138	30,790
Se 300	28,75	62,393	37,607	24,82	37,589	1,257	29,903
Se 600	20,5	57,269	42,731	24,07	37,963	1,204	31,531
Mn 50	29,55	57,274	42,726	27,40	36,301	1,345	26,990
Mn 150	25,5	57,456	42,544	28,29	35,855	1,145	31,315
Mn 300	24,25	54,277	45,723	27,13	36,436	1,008	36,147
Mn 600	25,25	44,427	55,573	25,53	37,234	1,217	30,595

A szubsztrátum-mérések adataiból messzemenő következtetéseket nem tudunk megállapítani (28. táblázat).

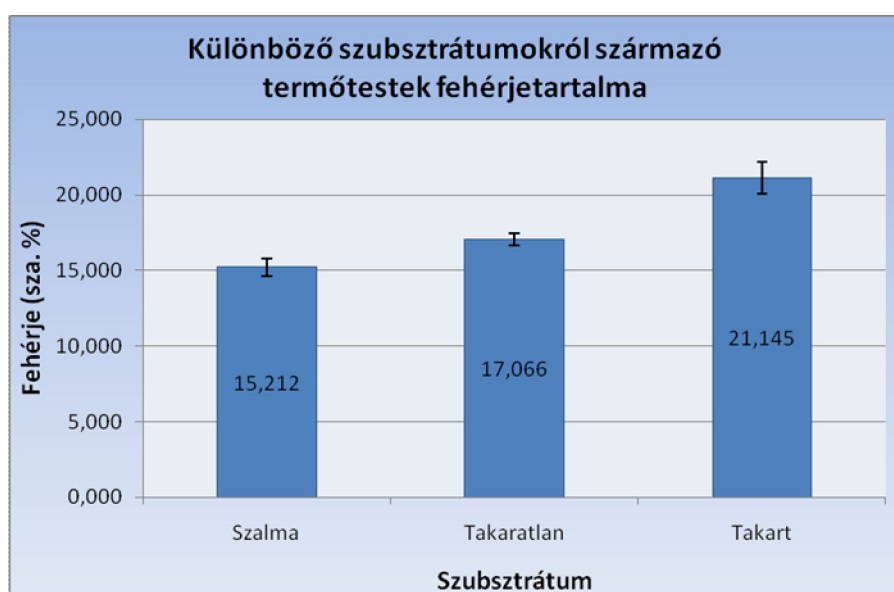
Összefoglalva tehát megállapítható, hogy jelentős mértékű cink és mangán felhalmozásra nem képes a faj, a szelén dúsulása a termőtestekben azonban jelentős. Ez utóbbi elem dúsulása lehetőséget teremt - a szubsztrátumba bevitt alacsonyabb szelénkoncentráció mellett - funkcionális gombatermék előállítására. További lehetőség kínálkozik élelmiszer-adalékként, táplálék kiegészítőként történő felhasználásra is. A gomba, része lehet bio-szelénben gazdag funkcionális élelmiszerfejlesztésnek. A humán toxicitás vonatkozásában kellő elővigyázatossággal kell eljárni, ugyanis a faj, az emberi szervezet számára toxikus mértékben képes a szelént főlhalmozni.

5.9. A SZUBSZTRÁTUM HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA AZ ÁSVÁNYI ELEM ÖSSZETÉTELRE

Gomba nyersfehérje-tartalmának szubsztrátumfüggése

A gomba össznitrogén-tartalmából 4,38-as konverziós számmal meghatározott fehérjetartalmát a 44. ábra mutatja be. Ebben látható, hogy a szalma alapanyagról fejlődő első hullámokból származó termőtestek fehérjetartalma a legalacsonyabb (15,212%). A takaratlan, dúsított lignocellulóz alapanyagról származó termőtestek nitrogéntartalma már magasabb (17,066%), míg a legmagasabb értéket a takart, dúsított lignocellulóz alapanyagról származó termőtestekben mértünk (21,145%). Amennyiben azt vizsgáljuk, hogy a takart vagy a takaratlan blokkokról származó termés fehérjetartalma magasabb-e, látható, hogy a takart szubsztrátumon

termett gombákban lényegesen magasabb fehérjetartalom mérhető. Valószínűleg a takarással együtt járó kiegyensúlyozottabb víz és ásványi táplálkozás hozzájárulhat a gomba hatékonyabb nitrogén asszimilációjához. Ez alapján állíthatjuk, hogy a gomba termőtestek fehérjetartalma jelentős mértékben függ a szubsztrátum összetételétől, nitrogéntartalmától. Megállapítható, hogy termesztői szinten lehet bizonyos mértékben a gombák fehérjetartalmát növelni, így a fogyasztók számára fehérjék vonatkozásában gazdagabb élelmiszert előállítani. Természetesen a gombák beltartalmi értékei növelésének más lehetőségei is lehetnek. Ilyen lehetőség például a nemesítés, ahol a gomba minősége és mennyisége mellett, a beltartalmi érték is fontos szelekciós tényező lehetne. A lehetőségek additív hatásának eredményeként ténylegesen magasabb beltartalmi értékekkel rendelkező gombaterméket is elő lehetne állítani, természetesen a faj biológiai korlátai mellett.

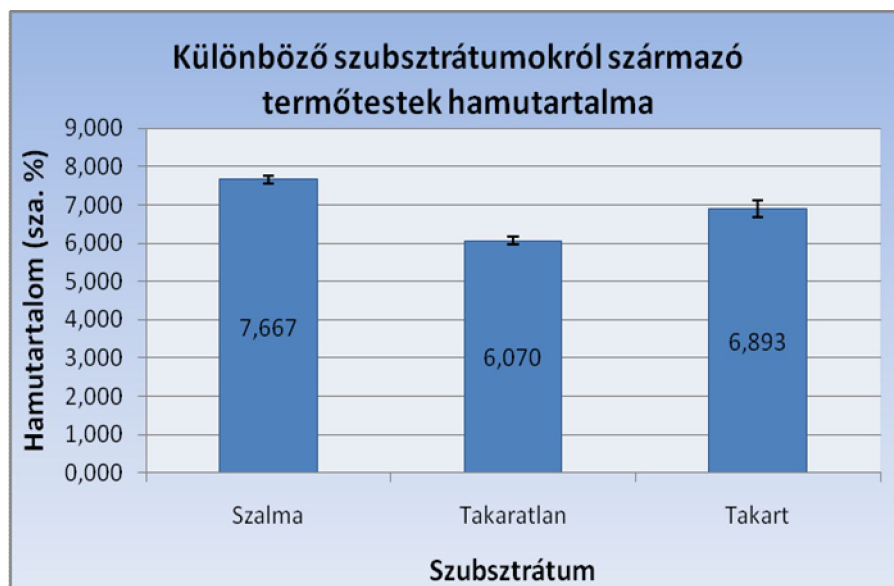


44. ábra. A faj különböző alapanyagokról származó termőtestjeinek fehérjetartalma.

Gomba hamutartalmának szubsztrátumfüggése

A legmagasabb hamutartalmat a szalma alapanyagról fejlődő termőtestekben, míg a legalacsonyabbat a takaratlan, lignocellulóz alapanyag termésének esetében mértük (45. ábra). Amennyiben ugyanazon alapanyag takart vagy takaratlan blokkjáról származó termőtestek hamutartalmát vizsgáljuk meg, látható, hogy a takart blokkról származó termőtestek hamutartalma lényegesen magasabb. A hamutartalom különbsége egyértelműen az ásványi elemek összmenyiségének különbségére vezethető vissza. Feltételezzük, hogy a víz és ásványi táplálkozásban szerepe van a takaróföldnek, melyet a következőkben, e feltételezés okán, az egyes elemek vonatkozásában részletesebben is megvizsgálunk.

Összefoglalva megállapíthatjuk tehát, hogy a gomba termőtestek fehérjetartalma és ásványi alkotói egyrészt függenek a lignocellulóz alapanyag összetételétől, másrészt pedig a takarás alkalmazásától.



45. ábra. A különböző alapanyagokról származó termés hamutartalmának alakulása.

Gomba ásványi elem spektrumának alakulása a három alapanyagon

Mivel nem azonos szubsztrátumot (szalma és lignocellulóz alapanyag) használtunk a termesztés során, így azok eredményei csak érdekességképpen vethetők össze. Mindhárom alapanyagot összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a szalma alapanyagról származó termésben 12 elem (B, Ca, Cd, Cu, K, Mg, Mo, Na, P, Se, Sr, Zn) mennyisége volt a legmagasabb (29. táblázat). Ezek között találjuk a legtöbb makroelemet.

Amennyiben a két lignocellulóz alapanyagon fejlődő termés elemösszetételét hasonlítjuk össze a takart és nem takart blokkokon, megállapítható, hogy a 23 vizsgált elemből 19 elem (Al, As, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, P, Se, Sr, Ti, V, Zn) esetében mértünk nagyobb mennyiséget a takart blokkok gombáiban. A Mo esetében teljesen azonos eredményt kaptunk, míg a Ni eredményeit kizártuk a vizsgálatból, ugyanis a minta valószínűleg fém laboratóriumi eszközzel érintkezhetett. Csak három elem (B, Cd és Ni) mennyisége volt magasabb a takaratlan blokkokról származó termésben. A kalcium eredmények meglepőek, ugyanis a CaCO_3 -ot is tartalmazó szalma alapanyagról származó termőtestekből magas, 1960 ppm mennyiséget lehetett visszamérni. A takaratlan lignocellulóz alapanyag gombái esetében mért, közel 200 ppm mennyiség meglehetősen alacsony, a takart szubsztrátumról származó 706 ppm-hez képest. Nagy a valószínűsége, hogy a szubsztrátumhoz adagolt kalcium, valamint a takarás alkalmazása a gomba kalciumtartalmának emelkedését vonja maga után. A különböző alapanyagokról származó termőtestek fémtartalmának

alakulását a 29. táblázat mutatja be. A táblázatban a lignocellulóz takaratlan és a lignocellulóz takart alapanyagokról származó eredmények vethetők össze.

29. táblázat. A különböző szubsztrátumról származó termőtestek fémtartalmának alakulása (a számtani középérték és a szórás /p < 0,05/; valamennyi adat mg/kg száraztömeg értékben).

<i>Elem</i>	<i>Szalma</i>	<i>Lignocellulóz takaratlan</i>	<i>Lignocellulóz takart</i>	<i>Mennyiség növekedésének szorzófaktor</i>
<i>Al</i>	15,0 (±2,21)	18,8 (±0,96)	128 (±3,26)	6,81
<i>As</i>	0,09 (±0,01)	0,08 (0)	0,22 (±0,06)	2,75
<i>B</i>	6,42 (±1,23)	3,90 (±0,08)	3,04 (±0,04)	0,78
<i>Ba</i>	0,61 (±0,21)	0,26 (±0,15)	1,15 (±0,17)	4,42
<i>Ca</i>	1960 (±153)	195 (±49)	706 (±110)	3,62
<i>Cd</i>	0,28 (±0,13)	0,27 (±0,11)	0,10 (±0,09)	0,37
<i>Co</i>	0,01 (±0,016)	0,01 (0)	0,03 (±0,01)	3
<i>Cr</i>	0,10 (±0,06)	0,20 (±0,12)	0,23 (±0,09)	1,15
<i>Cu</i>	3,46 (±0,67)	2,20 (±0,51)	2,42 (±0,98)	1,1
<i>Fe</i>	20,4 (±2,56)	55,8 (±3,69)	81,4 (±5,42)	1,46
<i>K</i>	25 400 (±282)	18 200 (±187)	19 100 (±122)	1,05
<i>Li</i>	0,20 (±0,03)	0,14 (±0,09)	0,21 (±0,02)	1,5
<i>Mg</i>	1220 (±132)	680 (±89)	780 (±76)	1,15
<i>Mn</i>	6,31 (±0,34)	4,38 (±0,26)	6,62 (±0,41)	1,51
<i>Mo</i>	0,04 (±0,09)	0,03 (±0,02)	0,03 (±0,02)	1
<i>Na</i>	553 (±56)	427 (±11,6)	434 (±12,1)	1,02
<i>Ni*</i>	0,07 (±0,06)	0,41 (±0,1)	0,10 (0)	0,24
<i>P</i>	5230 (±132)	4500 (±89)	4885 (±124)	1,08
<i>Se</i>	0,40 (±0,25)	0,11 (±0,03)	0,14 (±0,01)	1,27
<i>Sr</i>	6,38 (±0,87)	0,42 (±0,22)	1,55 (±0,36)	3,69
<i>Ti</i>	7,76 (±0,57)	7,20 (±0,27)	12,9 (±0,63)	1,79
<i>V</i>	0,07 (±0,04)	0,05 (±0,04)	0,25 (±0,07)	5
<i>Zn</i>	25,1 (±6,52)	13,1 (±0,96)	15,3 (±1,02)	1,17

(*A Ni esetében tapasztalt eredményekre nem találtunk magyarázatot, ugyanis a szalma és a takart lignocellulóz alapanyagokról származó mintákban alacsony, míg a takaratlan mintákban magas mennyiséget mértünk. Valószínűleg a minta fém laboratóriumi eszközzel érintkezhetett, így kizártuk az elemzésekből.)

A Ni mérési eredményeit kizárva, a vizsgált elemek összességét tekintve, a szalma esetében a termőtestekből az összes mért elem mennyisége 34455,63 mg/kg sz.a., a takaratlan lignocellulóz alapanyag esetében 24108,95 mg/kg sz.a., a takart lignocellulóz alapanyag esetében 26158,59 mg/kg sz.a. A vizsgált elemek vonatkozásában látható, hogy a szalma alapanyagról származó termőtestek elem mennyisége meghaladja a nitrogénben gazdagabb takart és takaratlan lignocellulóz alapanyag keverékét. Ezeket az eredményeket erősíti meg a minták hamutartalmának különbsége is (45. ábra). Amennyiben a két lignocellulóz alapanyagot vizsgáljuk, akkor látható, hogy a takart szubsztrátumról fejlődő termőtestekben a vizsgált elemek összes mennyiségét tekintve 2049,64 mg/kg sz.a. mennyiséggel több található.

A 22 kiértékelésbe bevont elem közül, a számtani középértéket figyelembe véve, 19 fém esetében tapasztaltunk nagyobb mennyiséget a takart blokkokról származó termőtestekben. Ez egyrészt azt jelenti, hogy a takarás fokozza a gomba beltartalmi értékeit az ásványi elemek vonatkozásában, másrészt pedig vízmozgással párosuló elemfelvétel is történik a takaróföldből. Ezzel sikerül megcáfolni azt a nézetet, hogy a takaróföld hatása pusztán a blokkokból történő vízvesztés megakadályozása lenne a rosszul klimatizált termesztő házakban, és sikerült azt a hipotézisünket igazolni, hogy a takaróföldnek fontos szerepe van a faj ásványos táplálkozásában és víztranszportjában, valószínűleg hozzájárulva a magasabb termésmennyiséghez. Az is megfigyelhető volt, hogy amíg a dúsított lignocellulóz alapanyagról származó termésnek magasabb a fehérjetartalma, addig a szalma alapanyagról származó termésnek az elem tartalma lényegesen magasabb.

5.10. A KÓROKOZÓ SZERVEZETEK VIZSGÁLATAINAK EREDMÉNYEI

A baktériumizolálások eredményeként megállapítható, hogy a *P. eryngii* termőtestek kalapfoltosodásából származó baktériumok többsége oxidáz pozitivitást és oxidatív cukorbontást mutat. Ez alapján valószínűsíthető, hogy a tünetek kialakulásáért *Pseudomas*-fajok (M.2.7.1.) felelősek. A termesztőhelyiség levegőjének magas relatív páratartalma elősegíti a baktérium szaporodását, a fertőzés kiterjedését.

A munka eredményeként a következő taxonokat tudtuk izolálni a termőtestekről: mikoparazita *Trichoderma*-fajokat (M.2.7.3. és M.2.7.4.), *Penicillium*-fajokat (M.2.7.5. és M.2.7.6.) és a kétspórás csiperkestermesztésből is ismert *Dactylium* sp., azaz pókhálós penészgombát (M.2.7.7. és M.2.7.8.). A *Trichoderma* képes volt a kalap felrepeztésére (M.2.7.3.). A kalap repedésén keresztül kilépő micélium konídiumtartókat és konídiumokat képzett. A *Penicillium* nagyobb sporuláló tömegben

jelent meg a kalap és tönk kapcsolódásának területén (M.2.7.5.). A pókhálós penész terjedése jól megfigyelhető a takaróföldben és néhol a termőtesten (M.2.7.7.).

Az alapanyagról tudtunk izolálni kompetítor *Aspergillus*-fajokat (M.2.7.9.), járomspórás gombákat (M.2.7.10.) és egyéb imperfekt penészeket, amelyeket nem tudtunk faji szinten azonosítani. A számos primordiumból csak néhány képez fejlett termőtesteket, így a primordiumok visszahalnak, fejlődésük leáll. Ezeken a fejlődésben leállt kis termőtesteken baktériumok és penészgombák képesek megtelepedni (M.2.7.2.), majd légárammal, továbbá vektorok segítségével terjedni és egészséges kultúrákat fertőzni. Ezért a visszamaradó kis gombák eltávolítása javasolt.

A leggyakoribb, valószínűleg élettani rendellenességek a következők voltak: torzulás (M.2.5. *Ple-2V*), tönk barna csíkozottsága, barázdáltsága (M.2.5. *PEK*). Ezen kívül gyakori a nagy, vaskos tönkű és a kicsi kalapú termőtestek megjelenése, amelynek okai elsősorban a környezeti feltételekben keresendők (klimatizálás, vízháztartás, alapanyag), de törzsre jellemző tulajdonság is lehet.

A disszertációban szereplő munka folyamányaként beállított félüzemi kísérletek fotói a M.2.9.számú mellékletben (M.2.9.1. – M.2.9.13. ábra) láthatók. Irodalmi adatok és hazai tapasztalataink alapján termesztési útmutatót állítottunk össze (M.2.10. melléklet).

5.11. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A kísérleti feladatok nyomán, az új tudományos eredményeket a következőkben foglalom össze:

1. *Tizenkettő hazai és három külföldi P. eryngii izolátum bevonásával, molekuláris biológiai vizsgálatokon alapuló, rokonsági kapcsolatokat reprezentáló neighbor-joining fát állítottam össze.* Megállapítottam, hogy a saját izolátumok két nagy csoportba tartoznak, a malajziai törzsszel és a nyugat-európai törzsekkel rokonítható hazai törzsekre. A vizsgálatokra alapozva valószínűsíthető, hogy egyazon törzset két egymást követő évben tudtuk izolálni ugyanarról a területről. Megállapítható volt továbbá, hogy a neighbor-joining fa által reprezentált rokonsági kapcsolatok, valamint a törzsek *in vitro* növekedési és termesztési tulajdonságai között nincs összefüggés.
2. *Hazai izolátumokon először végeztem tef1 α és rpb2 lókuszok esetében szekvenciaanalízist polimorfizmusok keresése és a változatok elkülönítése céljából.* A két lókuszra irányuló szekvenciaanalízisek eredménye alapján megállapítottam, hogy a rendelkezésünkre álló törzseink közötti polimorfizmus (a két régió vonatkozásában) minimális. A tef1 α lókusz esetében a törzsek között nem tapasztaltam nukleotid eltéréseket, míg az rpb2 régióban több törzs esetében kettő, illetve három ponton figyeltem meg pontmutációkat. Ezek a nukleotid-eltérések alapját képezhetik az egyes változatok elkülönítésének.
3. *Az rpb2 lókusz szekvenciaadataira alapozva kidolgoztam a törzsek egyszerű differenciálását PCR-RFLP módszerrel.* A módszer gyors és hatékony elkülönítést tesz lehetővé a pontmutációkat hordozó és nem hordozó törzsek között.
4. *Az immunoblot módszer egy speciális alkalmazásával megállapítottam, hogy a vizsgálatok során használt 16 törzsben nem fordulnak elő - a gombákban egyébként meglehetősen gyakori - dsRNS speciesek, mikovírusok, így a törzsek között tapasztalható jelentős termésmennyiségbeli és minőségbeli különbségek oka nem vezethető vissza a dsRNS mikovírusok jelenlétére.*
5. *Tizenöt törzs esetében, in vitro kísérletekben meghatároztam a törzsek növekedési ütemét különféle hőmérsékleten, kémhatáson, fényben és sötétben, aerob és anaerob környezetben és különféle ozmotikus viszonyok között.* Ezáltal képet kaptam a törzsek, valamint a törzsek átlagából, a faj vegetatív életszakaszának ökológiai igényeiről, amelyek a termesztési vonatkozások tekintetében is értékes információkat nyújtanak.

6. *Tizenhat izolátum részletesen dokumentált összehasonlító termesztési kísérleteit végeztem el, így képet kaphattam a faj különböző törzseinek jellemzőiről. A törzs-összehasonlító kísérletből részletes fényképes leírás és írásos dokumentáció készült, amely alapját képezheti az üzemi termesztés számára történő törzsszelekciónak, továbbá a nemesítő munkának.*
7. *Takarásra vonatkozó termesztéstechnológiai kísérletekben megállapítottam, hogy a takarás jelentősen fokozza a termés mennyiségét és a takaróanyag vastagsága, összetétele a biológiai hatékonyság fokozásának egy újabb lehetősége lehet.*
8. *Megállapítottam, hogy a lignocellulóz alapanyag összetétele, valamint az, hogy a szubsztrátumról szabadon vagy takart formában fejlődnek a termőtestek, összefügg a termőtestek beltartalmi értékeivel.*
9. *Megállapítottam, hogy a takaróanyag nem pusztán a lignocellulóz alapanyag kiszáradását gátolja, és a termesztőház klimatikus szélsőségeit tompítja, hanem szerepe van a faj ásványos táplálkozásában és vízforgalmában egyaránt.*
10. *A szubsztrátumhoz adagolt három elem vonatkozásában megállapítottam, hogy a PES jelű törzsnél, a cink és a mangán esetében jelentős termőtestbeli halmozódás nem tapasztalható, azonban a szelén dúsulása - a szubsztrátumba kevert koncentráció függvényében - igen jelentős lehet. Ezzel lehetőség nyílik, a nagy biológiai hatással rendelkező szelén mennyiségének fokozására a termőtestekben. A jelentős halmozódás mértéke azonban felhívja a figyelmet a humántoxicitás veszélyeire.*
11. *A saját és az irodalmi eredményekre alapozva, a faj hazai termesztéséhez, termesztési útmutatót állítottam össze a hazai termesztés korszerűsítéséhez.*

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A *P. eryngii* termesztésével kapcsolatos első termesztési kísérletek hazánkban kezdődtek meg. Ettől függetlenül néhány „fellángoló” termesztési próbálkozás kivételével, nem indult meg a termesztése Magyarországon. Annak ellenére sem foglalkozunk a faj termesztésével, hogy az európai országokban évről-évre egyre népszerűbb a termesztői és fogyasztói körökben. A laskagomba-termesztéssel foglalkozó, valamint az újonnan kibontakozó egzotikus gombák termesztésére berendezkedett üzemeknek mindenképpen célszerű lenne foglalkozni az ördögsekér laskagomba termesztésével. A faj törzseinek termésmennyiségeit tekintve – a megfelelő törzs szelekciójával, a szubsztrátum-összetétel megválasztásával és a termesztés környezeti feltételének betartásával – a kései laskagomba (*P. ostreatus*) komoly vetélytársa lehet. Az általam beállított kísérletek alapján a faj termésmennyisége meghaladja a kései laskagomba-termesztésben határnak tartott 20 kg/100 kg szubsztrátum mennyiséget. Ki szeretném emelni, hogy az ördögsekér laskagomba, a kései laskagomba termésmennyiségeit képes volt pusztán vad izolátumok használatával is meghaladni. Ehhez képest a termesztésben használt kései laskagomba hibridek (fajták) már komoly nemesítési munka eredményei, gondoljunk a Gyurkó Pál által nemesített hibridekre. Ebből az következik, hogy a hazai mezőgazdasági és erdészeti melléktermékekre adaptált szubsztrátum-összetétel meghatározásával, a termesztéstechnológia további optimalizálásával, valamint új hibridek nemesítésével, az ördögsekér laskagomba termesztésében is sikereket lehetne elérni Magyarországon.

A dolgozat eredményeiben látható volt, hogy termesztési vonatkozások tekintetében, milyen jelentős különbségek vannak a vad ördögsekér laskagomba izolátumok között, így kiemelten fontos a vad törzsek „screeningje” a termesztésbe vonás előtt. A hazai termesztői és fogyasztói elvárásoknak megfelelő törzsszelekción túlmenően, a faj tetrapoláris heterotallizmusának, valamint a rendelkezésre álló vad változatok sokféleségének köszönhetően lehetőség nyílik – kezdetben a hagyományos, később a molekuláris biológia kínálta lehetőségek bevonásával – nemesítési munkálatokra is. Tudatos nemesítő munka eredményeként, a termés minősége és mennyisége tovább fokozható. Amennyiben egy magas termőképességű és minőségű új hibridet tudnánk kifejleszteni, nagy szükség lenne a hagyományos morfológiai, esetleg élettani markerek mellett, az új fajták védelmére, amelyhez a gombák esetében a molekuláris biológiai módszerek használatát a jövőben elengedhetetlennek tartom. Ennek oka, hogy a gombaiparban, napjainkban a törzsek, fajták eltulajdonítása szabadon zajlik. Mindezek után bárki, aki kellő anyagi fedezettel rendelkezik, sajátjának tekintheti az adott hibridet.

A jövőbeli sikeres termesztés további lényeges eleme a hazánkban keletkező, olcsó elsődleges biomasszára adaptált lignocellulóz termesztési alapanyag kidolgozása. A munkám során megfigyeltem, hogy a termesztés egyik kulcsfaktora az alapanyag nitrogéntartalma, amely tapasztalataim alapján,

optimális esetben 1-1,3%, tehát lényegesen magasabb, mint a kései laskagomba esetében. Ezt az összetevők, és azok arányának helyes megválasztásával, vagy dúsítók használatával tudjuk elérni. Természetesen a faj számára optimális összetételű dúsított alapanyag-keverék kedvez a kompetitor penészeknek is, így a blokkok, a nem steril technológiák használatával hamar fertőződhetnek. Ebből kifolyólag a faj számára optimális, dúsított alapanyag-keverékek esetében, steril technológiát célszerű alkalmazni. Lehetőség van szuboptimális alapanyagon történő termesztésre is, nem steril technológia alkalmazásával, azonban a termés mennyisége és minősége jelentősen csökkenhet, de a kompetitor szervezetek megjelenésének valószínűsége lényegesen kisebb. Véleményem szerint Magyarországon, a nedves hőkezeléssel előállított alapanyagoknak lenne létjogosultsága, tekintettel arra, hogy a hazai alapanyag-előállítók többsége erre a technológiára rendezkedett be. Ezek ellenére, a steril technológiát tartom a legbiztonságosabbnak az optimális összetételű alapanyagok használata esetén. A hazai lehetőségek kapcsán tehát, a nedves hőkezeléssel előállított alapanyagokon tartom célszerűnek az első üzemi szintű termesztést célzó termesztési kísérleteket beállítani. A biológiai hatékonyság fokozásának vonatkozásában nagy jelentősége lehet a szubsztrátum tömegének is, elsősorban a steril, üveges technológia esetén. A kísérletes munka során azt tapasztaltam, hogy az optimális szubsztrátum tömeg 1-2 kg körül mozog. Az általánosan használt 4-5 kg vagy nagyobb tömegű alapanyagokról relatíve kevesebb termés szedhető le, mint a kisebb tömegű alapanyagokról.

Természetesen a magas minőségű és mennyiségű termés előállítása érdekében, szükség van a pontos termesztéstechnológia meghatározására is. A jövőben célszerűnek tartom a törzs-, esetleg fajtaspecifikus termesztéstechnológiák kidolgozását, továbbá meghatározni a termesztés pontos klimatikus feltételeit, termesztési stádiumonként.

A takarásnak szintén kiemelkedő jelentősége van a termés mennyiségének fokozásában. A kezdő termesztőknek vagy gyengén klimatizált házakban termesztők körében mindenképpen ajánlom a fertőtlenített takaróföld használatát. (Üveges termesztés esetén a takarás alkalmazása körülményes, így nem javasolható.) A termésfejlődés szinkronításának fokozását, valamint a csokrosodás (mint fajra jellemző sajátság) csökkentését olyan módszerekkel tartanám célszerűnek kipróbálni, mint a borzolás, CAC-ing vagy takaróföld-csira használata. Szintén fontosnak tartom újabb takaróanyag-keverékek kidolgozását és kipróbálását a termesztésben.

A tényleges mennyiségi és minőségi eredményeket a rendszeres üzemi szintű termesztés fogja meghozni. Kísérleteinkben nem tudtunk arra vonatkozó üzemi szintű kísérleteket beállítani, amelyekben azt vizsgáltuk volna, hogy folyamatos termesztés mellett, milyen mennyiségű termést lehetne folyamatosan biztosítani a piac számára, azaz a faj termesztése mennyiségét, minőségét tekintve mennyire kiegyensúlyozott, és milyen ingadozásokkal kell számolni. A jövőben fontos lenne a termés

vonatkozásában, hogy pontos minőségi követelményeket határozzunk meg, minőségi osztályokat állítsunk föl.

Az egyre népszerűbb bioélelmiszerek sorába szintén jól beilleszthető lenne a faj, ugyanis bio-alapanyagokon steril technológiával, jelentős mennyiségű termés takarítható be. A faj termesztése megfelelő higiéniai körülmények között nem igényel peszticidhasználatot.

A faj nem csak friss piaci, hanem feldolgozott gombaipari termékek (konzerv, szárítmány, természetes savanyítás stb.) formájában is perspektivikus. Funkcionális élelmiszerként is jó kilátások elé néz, ugyanis a szelén jelentős mértékű felhalmozására képes. Természetesen a felszívódást emésztési modellben vagy állatkísérletekben szükséges a jövőben vizsgálni. Irodalmi adatok alapján igazolt, hogy a faj, jelentős mennyiségben tartalmaz antioxidáns hatású ergothioneint, amelynek mennyiségi fokozása szintén szerepelhet a jövőbeli célok között. A gomba beltartalmi értékei és a termesztésre használt alapanyag összetétele között is összefüggés van, így célszerű a fogyasztói oldal vonatkozásában is olyan alapanyagot választani a termesztéshez, amelyről beltartalmilag értékesebb termés szedhető le.

Mind a termesztői, mind a fogyasztói oldalról számos pozitívuma van a fajnak, azonban ahhoz, hogy termesztése hazánkban nagyobb volumenben megkezdődjön, a fogyasztói oldalt kell céltudatos népszerűsítő, marketing tevékenységgel megnyerni. Eddigi tapasztalatom szerint ez a legnehezebb feladat. Amennyiben sikerül a fogyasztókat megnyerni, az igények növekedése elindíthatná az egyre nagyobb volumenű hazai termesztést. Jelenleg elsősorban exportlehetőségekben látok komolyabb lehetőséget.

A gombák kedvező táplálkozás-élettani hatásainak ellenére szomorú, hogy hazánkban az egy főre eső gombafogyasztás elmarad az 1 kg/év mennyiségtől. Ahhoz, hogy ezen változtatni tudjunk, tudatosan kellene a gombafogyasztást népszerűsíteni. Amivel a fogyasztókat meg lehet nyerni: elsősorban a gombák táplálkozásélettani, beltartalmi jellemzői, másodsorban a gombák gyógyhatásai, harmadsorban pedig az, hogy a faj a gombatermesztésből származik, így garantáltan nem mérgező. Amennyiben bízunk egy optimális forgatókönyvben, a hazai termesztés is képes lesz olyan gombafajokat a termesztésbe vonni, amelyek színesebbé, változatosabbá teszik a táplálkozásunkat.

Letermett gombaipari alapanyagok környezetvédelmi célú hasznosítása (mikoremediáció, biotranszformáció, mikofiltráció /biofilter/, stb.) terén még új, jórészt ismeretlen lehetőséget kínál a faj.

A főlaborokból látható, hogy még számos lehetőséget, és ezzel együtt a kutatások számára számos új feladatot biztosít a faj. Reményeim szerint az ördögsekér laskagomba termesztése és fogyasztása hazánkban is hamarosan egyre népszerűbb lesz. Dolgozatommal az alapkutatói tevékenység mellett, a sikeres hazai termesztéshez kívántam hozzájárulni.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A disszertációban az ördögszekér laskagomba (*Pleurotus eryngii*) gombafajjal végeztem a kísérleteimet, amely híres kiváló ízéről, relatíve könnyű termesztetőségéről. A faj a termés mennyisége alapján – megfelelő alapanyag és termesztéstechnológia alkalmazásával – versenytársa lehet a kései laskagombának (*P. ostreatus*). Az alapkutatói feladatok mellett, elsődleges célom volt, hogy a hazai gombatermesztők számára hasznos adatokkal szolgáljak.

A kísérletes munka első részében molekuláris biológiai vizsgálatokat végeztünk. Tizenhárom törzset gyűjtöttünk be magyarországi területekről, és három külföldi eredetű törzs pedig, hazai törzsgyűjteményi anyagból állt a rendelkezésünkre. Az izolátumok rokonsági kapcsolatait RAPD-PCR módszerrel vizsgáltuk meg, amelynek eredményeképpen, rokonsági kapcsolatokat tükröző, neighbor-joining fát állítottunk össze. Elvégeztük az izolátumok *teflα*, *rpb2* lokuszain belül található egy-egy régió szekvenciaanalízisét, amelynek célja az izolátumok közötti polimorfizmusok keresése és lehetőség szerint, a változatok identifikációja volt. A két lokusz vonatkozásában a törzseink között kis fokú polimorfizmust tapasztaltuk. A *teflα* lokusz esetében a törzsek között nem találtunk nukleotid eltéréseket, míg az *rpb2* régióban több ponton figyeltünk meg pontmutációkat. A szekvencia eredmények BLAST-ja rávilágított arra, hogy pillanatnyilag a legnagyobb adatbázisok szekvencia adataira támaszkodva is, rendkívül bizonytalan a változatok identifikációja. Az *rpb2* lokusz nukleotid eltéréseire alapozott PCR-RFLP módszerrel a törzseket két csoportra tudtuk bontani.

Mivel gombákban meglehetősen gyakoriak a dsRNS mikovírusok, és a faj esetében a termesztési, termésmennyiségbeli, morfológiai különbségeket nem tudtuk magyarázni, így immunoblot módszerrel megvizsgáltuk, hogy az izolátumokban előfordulnak-e mikovírus fertőzésre utaló dsRNS molekulák. Az eredményeink azt mutatják, hogy egyik izolátum sem tartalmaz ilyen molekulákat, azaz az izolátumok közötti különbségek háttérben nem dsRNS species-ek, mikovírusok állnak.

In vitro kísérletekben meghatároztuk a törzsek növekedési ütemét különféle hőmérsékleten, kémhatáson, fényben és sötétben, aerob és anaerob környezetben és különféle ozmotikus viszonyok között. Ezáltal képet kaptunk a törzsek, valamint a törzsek átlagából, a faj vegetatív életszakaszának ökológiai igényeiről, amelyek a termesztési vonatkozások tekintetében is értékes információkat nyújtanak. Elvégeztük a tizenhat izolátum részletesen dokumentált törzs-összehasonlító termesztési kísérleteit, így képet kaptunk a faj különböző törzseinek jellemzőiről, amely alapját képezheti az üzemi termesztés számára történő törzsselekciónak, továbbá a nemesítő munkának. Takarásra vonatkozó termesztéstechnológiai kísérletekben pedig megállapítottuk, hogy a takaróanyag vastagsága, összetétele a biológiai hatékonyság fokozásának egy újabb lehetősége lehet. A saját és az irodalmi eredményekre

alapozva a magyar termesztőknek termesztési útmutatót állítottunk össze, amely segítséget nyújthat a hazai termesztés kezdeményezésében.

A gomba beltartalmi értékeinek vizsgálatai során megállapítottuk, hogy a lignocellulóz alapanyag összetétele, valamint a takarás alkalmazása, illetve mellőzése befolyásolja a termőtestek fehérje- és ásványi anyag tartalmát. Az alapanyaghoz adott cink, mangán és szelén különböző koncentrációinak nyomán megállapítottuk, hogy a faj általunk használt törzse (*PES*) nem képes jelentős mennyiségben halmozni a cinket és a mangánt, ugyanakkor a szelént jelentős mennyiségben dúsítja a termőtestekben, sőt az alkalmazott koncentrációtól függően ennek mértéke humán toxicitási veszélyeket is hordoz magában.

A takart és nem takart blokkokról származó termőtestek elemösszetételét vizsgálva megállapítható, hogy a takaróanyag szerepe nem pusztán a lignocellulóz alapanyag kiszáradásának megakadályozása, a termesztőház klimatikus szélsőségeinek tompítása, hanem fontos szerepet játszik a faj ásványos táplálkozásában és vízforgalmában.

Remélem, hogy a disszertációban szereplő eredményekkel mind az alapkutatás, mind a gyakorlati vonatkozások számára hasznos munkát sikerült a *P. eryngii* fajjal kapcsolatosan összeállítanom.

SUMMARY

In the present dissertation I described experiments that I have conducted with the king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*), a species famous for its great taste and relatively easy cultivation. Based on the yield, this species might be a competitor of the oyster mushroom (*P. ostreatus*) if cultivated on a proper substrate with the appropriate technology. In addition to achieving basic research results, one of my primary aims was to generate a dataset that may be useful for the Hungarian mushroom growers.

In the first part of the experimental work we performed molecular biology investigations. Thirteen mushroom strains were collected from Hungarian habitats and three additional strains of foreign origin were got from Hungarian strain collections. Taxonomic relations of the isolates were determined by RAPD-PCR method and a phylogenetic tree, reflecting the relationship among the strains, was generated with the neighbour-joining method. Sequence analysis of certain regions within the *tef1 α* and *rpb2* loci of the isolates was performed in order to find the possible polymorphisms and identify varieties. In the *tef1 α* locus differences in the nucleotide sequences were not found, but point mutations were detected in the *rpb2* region. When BLAST search was performed with the sequenced loci, serious inaccuracies were found in the GenBank database. This result shows that identification of *P. eryngii* varieties might be doubtful even with the aid of the largest databases. A PCR-RFLP method

was developed on the basis of point mutations in the nucleic acid sequences and the isolates were sorted into two groups.

Since dsRNA mycoviruses are quite common in fungi and unexplainable differences were found in optimum growing conditions, yield and morphology of the isolates, we used an immunoblot assay to detect the presence or absence of dsRNA molecules that might refer to mycovirus infection. Our results showed that none of the isolates were infected; hence, differences in the above mentioned parameters were not caused by dsRNA mycoviruses.

We performed *in vitro* experiments in order to determine growth rate of vegetative mycelium of the strains under various environmental conditions (e.g. different temperature, acidic-alkaline environment, light and dark, aerobic and anaerobic atmosphere, various osmotic conditions). In these experiments we got a general picture about the ecological needs of the strains in the vegetative phase and the results provided valuable data to determine the optimum growing conditions for certain varieties and the species, as well. The sixteen isolates were involved in comparative growing experiments that were documented in detail and our results might help in future strain selection for industrial cultivation and breeding of the *P. eryngii*. Experiments with the casing soil were conducted and we found that thickness and composition of the casing soil may be an additional opportunity to enhance biological efficiency. On the basis of our results and literature sources we created cultivation manual for Hungarian growers and we hope that it will help them to realize higher yield and better quality.

Nutritional value of the mushroom was investigated and we found that both the composition of the lignocellulose substrate and the presence/absence of casing soil have serious impact on the protein and mineral content of fruiting bodies. When the substrate was supplemented with zinc, manganese and selenium in different concentrations, it turned out that the PES strain we used in our experiments was unable to accumulate large amount of zinc and manganese, but the selenium concentrated in considerable amount in the fruiting bodies. Moreover, the level of selenium might be so high (depending on the concentration used for substrate enrichment), that its toxicity seriously endangers the human health.

When mineral content of fruiting bodies collected from cased and non-cased blocks were compared, it was found that the casing soil plays an important role not only in keeping the lignocelluloses substrate wet, but in decreasing the effects of climatic extremities in the growing houses and ensuring mineral nourishment and water for the species.

I hope that the results of my work about the *P. eryngii* species carry valuable information in sense of basic research and practical applications, as well.

8. MELLÉKLETEK

M.1. FELHASZNÁLT IRODALOM

1. ALBERT, L., LOCSMÁNDI, Cs. & VASAS, G. (1995): Ismerjük fel a gombákat! Borsodi Nyomda Kft., p. 130.
2. ANDRADE, M.C.M., KOPYTOWSKI, F.J., MINHONI, M.T.A., COUTINHO, L.N. & FIGUEIREDO, M.B. (2007): Productivity, biological efficiency, and number of *Agaricus blazei* mushrooms grown in compost in the presence of *Trichoderma* sp. and *Chaetomium olivacearum* contaminants. *Braz. J. Microbiol.*, 38, 243–247.
3. ARNON, D.L. & STOUT, P.R. (1939): The essentiality of some elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiol.*, 14, 371-375.
4. ASGHER, M., BHATTI, H.N., ASHRAF, M. & LEGGE, R.L. (2008): Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system. *Biodegradation*, 19, 771-783.
5. BAEZA, A., GUILLÉN, F. J. & HERNANDEZ, S. (2002): Transfer of ^{134}Cs and ^{85}Sr to *Pleurotus eryngii* Fruiting Bodies Under Laboratory Conditions: A Compartmental Model Approach. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 69, 817–828.
6. BAEZA, A., GUILLÉN, J. & MIETELSKI, J. W. (2004): Uptake of alpha and beta emitters by mushrooms collected and cultured in Spain. *J. of Radioanal. and Nucl. Chem.*, 261 (2): 375-380.
7. BAO, D., KINUGASA, S. & KITAMOTO, Y. (2004): The biological species of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) from Asia based on mating compatibility test. *J. Wood Sci.*, 50, 162-168.
8. BAROSSO, G. & LABARERE, J. (1990): Evidence for viral and naked double-stranded RNAs in basidiomycete *Agrocybe aegerita*. *Curr. Genet.*, 18, 231-237.
9. BEELMAN, R.B. & ROYSE, D.J. (2006): Selenium enrichment of *Pleurotus cornucopiae* (Paulet) Rollant and *Grifola frondosa* (Dicks.:Fr.) S.F. gray mushrooms. *Int. J. Med. Mush.*, 8, 1-8.

10. BOISSELIER-DUBAYLE, M. C. & BAUDOUIN, R. (1986): Contribution de l'étude du polymorphisme enzymatique à la systématique des Pleurotes des Ombellifères. *Can. J. Bot.* 64, 1467-1473.
11. BOISSELIER-DUBAYLE, M.C. (1983): Taxonomic significance of enzyme polymorphism among isolates of *Pleurotus* (*Basidiomycetes*) from Umbellifers. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 81, 121-127.
12. BRESINSKY, A., FISCHER, M., MEIXNER, B. & PAULUS, W. (1987): Speciation in *Pleurotus*. *Mycologia*, 83, 736-742.
13. BUCK, K.W. (1986): Fungal Virology: an overview. In: K.W. Buck, Boca Raton (eds.), Fungal Virology, Florida, CRC Press. pp. 1-85.
14. CAILLEUX, R. & DIOP, A. (1974): Recherches expérimentales sur les conditions d'ambiance requises pour la fructification du *Pleurotus eryngii* et de *Agrocybe aegerita*. *Mushroom Sci.* IX (Part I.), 607-619.
15. CAILLEUX, R. & DIOP, A. (1976): Recherches préliminaires sur la fructification en culture du *Pleurotus eryngii* (Fr. ex D.C.) Quelet. *Rev. Mycol.*, 40, 365-388.
16. CAILLEUX, R. & JOLY, P. (1987): Etude de quelques stations italiennes du Pleurote de la ferule. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 103, 315-346.
17. CANDUSSO, M. & BASSO, M.T. (1995): Analisi comparativa di *Pleurotus eryngii* e *P. nebrodensis*. *Docum. Mycol.*, 25, 119-128.
18. CHANG, S.T. (2005): Witnessing the development of the mushroom industry in China. In: Tan, Q., Zhang, J., Chen, M., Cao, H., Buswell, J. A. (eds.), Mushroom Biology and Mushroom Products. Shanghai Xinhua Printing Co., Ltd. Shanghai, China. *Acta Edulis Fungi*, 12, 3-19.
19. CHOI, U.K., BAJPAI, V.K., LEE, N.H. (2009): Influence of calcinated starfish powder on growth, yield, spawn run and primordial germination of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). *Food Chem. Toxicol.*, 47, 2830-2833.
20. CHU, Y.M., LIM, W.S., YEA, S.J., CHO, J.D. & LEE, Y.W. (2003): Complexity of dsRNA mycovirus isolated from *Fusarium graminearum*. *Virus Genes*, 28, 135-143.

21. COLI, R., GRANETTI, B., DAMIANI, P. & FIDANZA, F. (1988): Composizione chimica e valore nutritivo di alcuni ceppi di *Pleurotus eryngii*, *P. nebrodensis* e *P. ostreatus* coltivati in serra. *Annali. Fac. Agr. Univ. Perugia*, 152, 847-859.
22. CSAPÓ, J., & CSAPÓNE, K. ZS. (2003): Élelmiszer-kémia. Mezőgazda Kiadó, Budapest pp. 19-53.
23. DE GIOIA, T., SISTO, D., RANA, G. L. & FIGLIUOLO, G. (2005): Genetic structure of the *Pleurotus eryngii* species-complex. *Mycol. Res.*, 109, 71-80.
24. DOGAN, H.H., SANDA, M.A., UYANÖZ, R., ÖZTÜRK, C. & CETI, Ü. (2005): Content of some metals in some wild mushrooms. *Biol. Trace Elem. Res.*, 110, 79-94.
25. FELSENSTEIN, J. (1993): Phylogeny Inference Package. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
26. FELSENSTEIN, J. (1995): PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.57c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
27. FROSLEV, T.G., MATHENY, P.B. & HIBBETT, D.S. (2005): Lower level relationships in the mushroom genus *Cortinarius* (Basidiomycota, Agaricales): a comparison of RPB1, RPB2 and ITS phylogenies. *Mol. Phyl. and Evol.*, 37, 602-618.
28. GAZE, R.H. (1997): Virus disease – Are you still there? *Mush. J.*, 568, 12-13.
29. GAZE, R.H., CALVO-BADO, L., CHALLEN, M.P., ADIE, B.A. & ROMAINE, C.P. (2000): A new virus disease of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.*, 15, 701-705.
30. GEÖSEL, A., HALÁSZ, K., SZARVAS J., HAJDÚ, CS., VIRÁGH N. & LUKÁCS N. (2008): Immunological Detection of dsRNAs in Wild *Agaricus* Species and in Virusinfected Cultivated Champignon. Proceedings of the Sixth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, (GAMU GmbH, Institut für Pilzforschung, Krefeld, Germany, pp. 148-154.
31. GHABRIAL, S.A. & SUZUKI, N. (2009): Viruses of plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 47, 353–384.
32. GHABRIAL, S.A. (1998): Origin adaptation and evolutionary pathways of fungal viruses. *Virus Genes* 16, 119-131.

33. GO, S.J., PARK, Y.H., SHIN, G.C. & WESSELS, J.G.H. (1992): Molecular analysis of double-stranded RNA in abnormal growing oyster mushroom *Pleurotus florida* and *Pleurotus ostreatus* due to virus infection. *Kor. J. of Mycol.*, 20, 234-239.
34. GONZALES, P. & LABARERE, J. (2000): Phylogenetic relationships of *Pleurotus* species according to the sequence and secondary structure of the mitochondrial small-subunit rRNA V4, V6 and V9 domains. *Microbiology*, 146, 209-221.
35. GROGAN, H.M., ADIE, B., GAZE, R.H., CHALLEN, M.P. GHABRIAL, S.A. & MILLS, P.R. (2003): Double-stranded RNA elements associated with the MVX disease of *Agaricus bisporus*. *Mycol. Res.*, 107, 147-154.
36. GUILLEN, F., MUNOZ, C., GOMEZ-TORIBIO, V. & MARTINEZ, M.J. (2000): Oxygen activation during oxidation of methoxy hydroquinones by laccase from *Pleurotus eryngii*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 170-175.
37. GYÖRFI J., HAJDÚ CS., MASZLAVÉR P. & FEHÉRVÁRI-PÓCZIK (2007): Takaróanyag-kísérletek a *Pleurotus eryngii*-vel. *Kertgazdaság*, 39 (2):3-9.
38. HAJDÚ CS. (2008): A termesztett *Pleurotus ostreatus* hibridek tulajdonságainak javítása és új hibridek előállítása vadon termő törzsek alkalmazásával. Doktori disszertáció, BCE-KTDI, Budapest, p. 12.
39. HAJÓSNÉ, M.N. (1999): Genetikai variabilitás a növénynemesítésben. Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 38-39.
40. HAWANG, Y.J., NAM, H.K. & KIM, S.H. (2003): Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* extracts on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 21, 217-222.
41. HILBER, O. (1982): Die Gattung *Pleurotus* (Fr.) Kummer unter besonderer Berücksichtigung des *Pleurotus eryngii* Formen-komplexes. *Bibliotheca Mycologica*, 87, 1-448.
42. HILBER, O. (1989): Valid, invalid and confusion taxa of the genus *Pleurotus*. *Mush. Sci.*, XII. Part. II. Braunschweig., 241-248.
43. HOLLINGS, M. (1962): Viruses Associated with a die-back disease of cultivated mushroom. *Nature*, 196, 962-965.

44. HUI, Y.F., DEN, E.S. & CHI, T.H. (2002): Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *J. Food Lipids*, 9, 36-46.
45. IHRMARK, K., JOHANNESSON, H., STENSTROM, E. & STENLID, J. (2002): Transmission of double-stranded RNS in *Heterobasidion annosum*. *Fungal. Genet. and Biol.* 36, 147-154.
46. INOUE, T. (1970): Virus-like particles from *Lentinus edodes*. *Mushrooms*, 2, 18-22.
47. JAKUCS E. & VAJNA L. (2003): Mikológia. Agroinform Kiadó, Budapest.
48. JOLY, P., CAILLEUX, R. & CERCEAU, M. (1990): La stérilité mâle pathologique, élément de la co-adaptation entre populations de champignons et de plantes-hôtes: modèle des *Pleurotes* des Ombellifères. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 137, 71-85.
49. KALMAR Z. (1960): Termesztési kísérletek ördögszekér-tölcsérgombával. *Kísérletügyi Közlemények, Kertészet* 52/c kötet, 4, 119-125.
50. KANG, H.I., KIM, J.Y., MOON, K.D., SEOI, K.I., CHO, S.Y., LEE, S.D. & YEE, S.T. (2004): Effect of crude polysaccharide of Saesongi on the activation of immune cells. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 33, 1092-1097.
51. KANG, T.S., JEONG, H.S., LEE, M.Y., PARK, H.J., HJO, T.S., JI, S.T. & SHIN, M.K. (2003): Mycelial growth using the natural product and angiotensin converting enzyme inhibiting activity of saesongi. *Kor. J. Mycol.*, 31, 175-180.
52. KANG, T.S., KANG, M.S. & LEE, S.Y. (2001): Effect of *Pleurotus eryngii* on the blood glucose and cholesterol in diabetic rats. *Kor. J. Mycol.*, 29, 86-90.
53. KAWAI, G., BABASAKI, K. & NEDA, H. (2008): Taxonomic position of a Chinese *Pleurotus* „Bai-Ling-Gu”: it belongs to *Pleurotus eryngii* (DC.: Fr) Quel. and evolved independently in China. *Mycoscience*, 49, 75-87.
54. KEVEI, F., KUCSERA, J., VARGA, J. & VÁGVÖLGYI, CS. (1999): Fejezetek a mikológiából. JATEPress, Szeged, pp. 292-304.
55. KIM, S.W., KIM, H.G., LEE, B.E., HWANG, H.H., BAEK, D.H. & KO, S.Y. (2006): Effects of mushroom, *Pleurotus eryngii*, extracts on bone metabolism. *Clin. Nutr.*, 25, 166-170.
56. KIRBAG, S. & AKYÜZ, M. (2008): Effect of various agro-residues on growing periods, yield and biological efficiency of *Pleurotus eryngii*. *J. of Food, Agricul. & Environ.*, 6, 402-405.

57. KÓSZÓ, S. (1997): Az ördögszekér laskagomba (*Pleurotus eryngii*) termesztése. *Magyar Gomba*, 2, 12-13.
58. LA GUARDIA, M., VENTURELLA, G. & VENTURELLA, F. (2005): On the chemical composition and nutritional value of *Pleurotus* taxa growing on Umbelliferous plants (Apiaceae). *J. Agric. Food Chem.*, 53, 5997-6002.
59. LAMOURE, D. (1981): *Pleurotus eryngii* et ses formes voisines. *Bull. Soc. Mycol. Fr.*, 97, 87-93.
60. LELLEY, J. & VETTER, J. (2004): Orthomolecular medicine and mushroom consumption – an attractive aspect for promoting production, In: Romaine, C.P., & Royse, D.J. (eds.), *Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi*, Penn State, pp. 637-643.
61. LEWINSOHN, D., WASSER, S. P., RESHETNIKOV, S. V., HADAR, Y. & NEVO, E. (2002): The *Pleurotus eryngii* species-complex in Israel: distribution and morphological description of a new taxon. *Mycotaxon*, 81, 51-67.
62. LIM, W., JEONG, J.H., JEONG, R., YOO, Y.B., YIE, S.W. & KIM, K. (2005): Complete nucleotide sequence and genome organization of a dsRNA partitivirus infecting *Pleurotus ostreatus*. *Virus Res.*, 108, 111-119.
63. LIU Y.J., WHELEN S. & HALL, D. (1999): Phylogenetic relationships among Ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II. subunit. *Mol. Biol. Evol.*, 16 (12): 1799-1808.
64. LUKÁCS N. (1994): Detection of virus infection in plants and differentiation between coexisting viruses by monoclonal antibodies to double-stranded RNA. *J. Virol. Meth.*, 47, 255-272.
65. MAGAE, Y. & HAYASHI, N. (1999): Double-stranded RNA and virus particle in the edible basidiomycete *Flammulina velutipes* (Enokitake). *FEMS Microbiol. Lett.*, 180, 331-338.
66. MANCZINGER, L., PÓCSI, I. & VETTER, J. (2003): Gombaélettan. In: Jakucs, E. & Vajna, L. (szerk.) *Mikológia*. Agroinform Kiadó, Budapest, pp. 139-195.
67. MARONGIU, P., MADDAU, L., FRISULLO, S. & MARRAS, F. (2005): A multigene approach for the taxonomic determination of *Pleurotus eryngii* isolates. In: Tan, Q., Zhang, J., Chen, M., Cao, H., Buswell, J.A. (eds.), *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Shanghai Xinhua, Printing Co., Ltd., Shanghai, China, pp. 89–91.

68. MATHENY P. B. (2005): Improving phylogenetic interference of mushrooms with RPB1 and RPB2 nucleotide sequences (*Inocybe*; Agaricales). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 35, 1-20.
69. MATHENY P.B., LIU, Y.J., AMMIRATI J.F. & HALL, B. (2002): Using EPB1 sequences to improve phylogenetic interference among mushrooms (*Inocybe*, Agaricales). *Am. J. Bot.*, 89, 688-698.
70. MAU, J. L., LIN, Y. P., CHEN, P.T., WU, Y. H. & PENG, J. T. (1998): Flavor compounds in king oyster mushrooms *Pleurotus eryngii*. *J. Agricult. Food Chem.*, 46, 4587-4581.
71. MIZUTANI, T., INATOMI, S., INAZU, A. & KAWAHARA, E. (2010): Hipolipidemic effect of *Pleurotus eryngii* extract in fat-loaded mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 56, (1):48-53.
72. NEI, M. & LI, W.H. (1979): Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 76, (10):5269-5273.
73. NÉMETH, K. (1998): A faanyag degradációja. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest, pp. 59-73.
74. NUSS, D.L. & KOLTIN, Y. (1990): Significance of dsRNA genetic elements in plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 28, 37-58.
75. OEI, P. (2006): Italy: halfway Holland and China. *Mushroom Business*, 16, 10-11.
76. OHGA, S. & ROYSE, D. J. (2004): Cultivation of *Pleurotus eryngii* on ubbrella plant (*Cyperus alternifolius*) substrate. *J. Wood Sci.*, 50, 466-469.
77. OHGA, S. (1999): Suitability of bamboo powder for the sawdust-based cultivation of edible mushrooms. *Mushroom Sci. Biotechnol.*, 7, 19-22.
78. OHGA, S. (2000): Influence of wood species on the sawdust base cultivation of *Pleurotus abalonusa* and *Pleurotus eryngii*. *J. Wood Sci.*, 46, 175-179.
79. ORBÁN, S. (1995): Biometria főiskolai hallgatók számára. EKF Nyomda, Eger, pp. 50-59.
80. PAIS, I. (1999): A mikroelemek jelentősége az életben. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
81. PARK, J.S. & KIM, Y.H. (1996): Infectious RNA viruses in edible mushroom *Pleurotus* spp. *J. Microbiol.*, 34, 61-76.

82. PIEPPONEN, S., LIUKKONEN-LILJA, H., & KUUSI, T. (1983): The selenium content of edible mushrooms in Finland. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 177, 257-260.
83. PODANI, J. (1997): Bevezetés a többváltozós matematikai adatfeltárás rejtelmeibe. Scientia Kiadó, Budapest, pp. 206-207.
84. RÁCZ, L. & OLDAL, V. (2000): Investigation of uptake process in a soil mushroom system by AES and AAS methods. *Microchem. J.*, 67, 115-118.
85. RÁCZ, L., PAPP, L., PROKAI, B., & KOVÁCS, ZS. (1996): Trace element determination in cultivated mushrooms: an investigation of manganese, nickel and cadmium intake in cultivated mushrooms using ICP atomic emission. *Microchem. J.*, 54, 444-451.
86. RO, H.S., KANG, E.J., YU, J.S., LEE, T.S., LEE, C.W. & LEE, H.S. (2007a.) Isolation and characterization of a novel mycovirus, PeSV, in *Pleurotus eryngii* and the development of a diagnostic system for it. *Biotechnol. Lett.*, 29, 129-135.
87. RO, H.S., KIM, S.S., RYU, J.S., JEON, C.O., LEE, T.S. & LEE, H.S. (2007b.): Comparative studies on the diversity of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*: ITS sequence analysis, RAPD fingerprinting, and physiological characteristics. *Mycol. Res.*, 111, 710-715.
88. RODRIGUEZ ESTRADA A.E., HYUN-JU LEE H-J., BEELMAN, R.B., JIMENEZ-GASCO M.M. & ROYSE D. J. (2009b): Enhancement of the antioxidants ergothioneine and selenium in *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* basidiomata through cultural practices, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 25, 1597-1607.
89. RODRIGUEZ ESTRADA, A.E. & ROYSE, D.J. (2005): Cultivation of *Pleurotus eryngii* in bottles. *Mushroom News*, 53, 10–19.
90. RODRIGUEZ ESTRADA, A.E. & ROYSE, D.J. (2007): Yield, size and bacterial blotch resistance of *Pleurotus eryngii* grown on cottonseed hulls/oak sawdust supplemented with manganese, copper and whole ground soybean. *Bioresource Technol.*, 98, 1898-1906.
91. RODRIGUEZ ESTRADA, A.E. & ROYSE, D.J. (2008): *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus nebrodensis*: from the wild to the commercial production. *Mushroom News.*, 56, 4-11.
92. RODRIGUEZ ESTRADA, A.E. (2005): Influence of substrate composition and mushroom strains on productivity and susceptibility of *Pleurotus eryngii* to bacterial blotch disease. M.S. Thesis. The Pennsylvania State University.

93. RODRIGUEZ ESTRADA, A.E. (2008): Molecular phylogeny and increases of yield the antioxidants selenium and ergothioneine in Basidiomata *Pleurotus eryngii*, *Dissertation*, The Pennsylvania State University, Department of Plant Pathology.
94. RODRIGUEZ ESTRADA, A.E., JIMENEZ-GASCO, M.M. & ROYSE, D.J. (2010): *Pleurotus eryngii* species complex: Sequence analysis and phylogeny based on partial EF1 α and RPB2 genes. *Fungal Biology*, 114, 421–428.
95. RODRIGUEZ ESTRADA, A.E., MAR JIMENEZ-GASCO, M. & ROYSE, D.J. (2009a): Improvement of yield of *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* by substrate supplementation and use of a casing overlay. *Bioresource Technol.*, 100, 5270–5276.
96. ROGER, A.J., SANDBLOM, O., DOOLITTLE, W.F. & PHILIPPE, H. (1999): An evaluation of elongation factor 1 α as a phylogenetic marker for eukaryotes. *Mol. Biol. Evol.*, 16, 218–233.
97. ROMAINE, C.P. & GOODIN, M. (2002): Unravelling the viral complex associated with La France disease of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. In: dsRNA Genetic Elements: Concepts and Applications, CRC Press LLC, pp. 237-257.
98. ROYSE, D.J., SHEN, Q. & MCGARVEY, C. (2005): Consumption and production of recently domesticated edible fungi in the United States with a projection of their potential. In: Tan, Q., Zhang, J., Chen, M., Cao, H., Buswell, J. A. (eds.), *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Shanghai Xinhua Printing Co., Ltd. Shanghai, China. *Acta Edulis Fungi*, 12, 331-337.
99. SANDERSON, M. J. (1990): Flexible phylogeny reconstruction: a review of phylogenetic inference packages using parsimony. *Syst. Zool.*, 39, 414-420.
100. SANO, M., YOSHINO, K., MATSUZAWA, T. & IKEKAWA, T. (2002): Inhibitory effects of edible higher basidiomycetes mushroom extracts on mouse type IV allergy. *Int. J. of Med. Mushrooms*, 4 (1):37-41.
101. SAWA, S. (1996): Cultivation characteristic of *Pleurotus eryngii* (in Japanese). *Bull. Aichi. For. Res. Cent.*, 33, 41-46.
102. SCHÖNBORN, J., OBERSTASS, J., BREYEL, E., TITTGEN, J., SCHUMACHER, J. & LUKACS, N. (1991): Monoclonal antibodies to double-stranded RNA as probes of RNA structure in crude nucleic acid extracts. *Nucleic Acids Res.*, 19, 2993-3000.

103. SHEN, J., GUO, H., CHENG, Y., WEI, X., GUO, G., LIU, G. & JIA, S. (2005): The exploitation and cultivation of *Pleurotus nebrodensis* in China. In: Tan, Q., Zhang, J., Chen, M., Cao, H., Buswell, J. A. (eds.), *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Shanghai Xinhua Printing Co., Ltd. Shanghai, China. *Acta Edulis Fungi*, 12, 354-359.
104. SHURE, M., WESSLER, S. & FEDOROFF, N. (1983): Molecular identification and isolation of the Waxy locus of maize. *Cell*, 35, 225-233.
105. SINDEN, J.W. & HAUSER, E. (1950): Report on two new mushroom diseases, *Mushroom Sci.*, 1, 96-100.
106. SINGH, M.P., PANDEY, V.K., SRIVASTAVA, A.K. & VISWAKARMA, S.K. (2011): Biodegradation of brassica haulms by white rot fungus *Pleurotus eryngii*. *Cell. Mol. Biol. Incl. Cyto Enzimol.*, 57, (1): 47-55.
107. SONNEBERG, A.S., VAN KEMPEN, I.P.J. & VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. (1995): Detection of *Agaricus bisporus* viral dsRNAs in pure culture, spawn and spawn-run compost by RT-PCR. In: Elliott, T.J.L. (ed.), *Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi*, Rotterdam, The Netherlands: Balkema. pp. 587-594.
108. SONNENBERG, A.S., & VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. (1991): Evidence for transmission of La France Disease in *Agaricus bisporus* by dsRNA. In: van Griensven L.J.L.D. (ed.), *Genetics and Breeding of Agaricus*, Wageningen: Pudoc., pp. 109-113.
109. SONNENBERG, A.S., PATRICK, M.H. & ETTY S. (2006): Evaluation of *Pleurotus eryngii* strains. Research report, Wageningen University, Applied Plant Research Institute, Mushroom Research Unit.
110. STAJIC, M., PERSKY, L., HADAR, Y., FRIESEM, D., DULETIC-LAUSEVIC, S., WASSER, S.P. & NEVO, E. (2005): Effect of copper and manganese ions on activities of laccase and peroxidases in three *Pleurotus* species grown on agricultural wastes, *Appl. Biochem. Biotech.*, 128, 87-96.
111. STAMETS, P. (2000): *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. Ten Speed Press, Berkeley, pp. 301-304.
112. STAMETS, P. (2005): *Mycelium Running. How mushrooms can help save the World?* Ten Speed Press, Berkeley.

113. STIJVE, T. (1977): Selenium content of mushrooms. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 164, 201-203.
114. SYNYTSYA, A., MÍCKOVÁ, K., SYNYTSYA, A., JABLONSKY, I., SPEVÁČEK, J., ERBAN, V., KOVÁRIKOVÁ, E. & COPÍKOVÁ, J. (2008): Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydr. Polym.* (kötetszám és oldalszám nem hozzáférhető).
115. SZARVAS, J. & SZARVAS, G. (2002): Az ördögszekér laskagomba (*Pleurotus eryngii*) termesztése. *Magyar Gombahíradó*, 10 (36): 6-7.
116. SZÉCSI, Á., ÉRSEK, T. & VARGA, J. (2003): A gombák filogenetikai rendszere. In: Jakucs, E. & Vajna, L. (szerk.) *Mikológia*. Agroinform Kiadó, Budapest, pp. 71-135.
117. SZILI, I. & VÉSSEY, E. (1980): A csiperke és más gombák háztáji termesztése. *Mezőgazdasági Kiadó*, Budapest, p. 113.
118. SZILI, I. (1994): Gombatermesztés. *Mezőgazda Kiadó*, Budapest, pp. 143-144.
119. TAN, Q., WANG, Z., CHENG, J., GUO, Q. & GUO, L. (2005): Cultivation of *Pleurotus* spp. in China. In: Tan, Q., Zhang, J., Chen, M., Cao, H., Buswell, J. A. (eds.), *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Shanghai Xinhua Printing Co., Ltd. Shanghai, China. *Acta Edulis Fungi*, 12, 338-342.
120. URBANELLI, S., FANELLI, C., FABBRI, A.A., DELLA ROSA, V., MADDAU, L., MARRAS, F., & REVERBERI, M. (2002): Molecular genetic analysis of two taxa of the *Pleurotus eryngii* complex: *P. eryngii* (DC.Fr.) Quel. var. *eryngii* and *P. eryngii* (DC.Fr.) Quel. var. *ferulae*. *Biol. J. Linn. Soc.* 75, 125-136.
121. VAN DER LENDE, T.R., HARMSSEN, M.C., GO, S.J. & WESSEL, J.G.H. (1995): Double-stranded RNA mycoviruses in mycelium of *Pleurotus ostreatus*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 125, 51-56.
122. VENTURELLA, G. (2000): Typification of *Pleurotus nebrodensis*. *Mycotaxon*, 75, 229-231.
123. VENTURELLA, G., ZERVAKIS, G. & LA ROCCA, S. (2000): *Pleurotus eryngii* var. *elaeoselini* var. *nov.* from Sicily. *Mycotaxon*, 76, 419-427.
124. VÉSSEY, E. (1971): Adatok az ördögszekér laskagomba termesztéséhez. *Mikológiai Közlemények*, 3, 121-131.

125. VETTER, J. (1989): Az általános mikológia alapjai. Tankönyvkiadó, Budapest, pp. 21-23.
126. VETTER, J. (2010): A gombák gyógyhatásai – gyógygombák. In: Györfi Júlia (szerk.), Gombabiológia, gombatermesztés. Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 64-77.
127. VILGALYS, R. & SUN, B.L. (1994): Ancient and recent patterns of geographic speciation in the oyster mushroom *Pleurotus* revealed by phylogenetic analysis of ribosomal DNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. Evolution*, 91, 4599-4603.
128. VUKOJEVIC, J., STAJIC, M. & DULETIC-LAUSEVIC, S. (2007): Ability of *Pleurotus eryngii* mycelium to absorb selenium depending on the selenium source and concentration in medium, *Proc. Nat. Sci., Matica Srpska Novi Sad*, 113, 227—233.
129. WENDLAND, J. & KOTHE, E. (1997): Isolation of *tefl* encoding translation elongation factor EF1 α from the homobasidiomycete *Schizophyllum commune*. *Mycol. Res.*, 101 (7):798-802.
130. YAOITA, Y., YOSHIHARA, Y., KAKUDA, R., MACHIDA, K. & KIKUCHI, M. (2002): New sterols from two edible mushrooms, *Pleurotus eryngii* and *Panellus serotinus*. *Chem. Pharm. Bull.*, 50 (4):551-553.
131. YASUSHI, O., SHIGEYUKI, M., TERUYUKI, M., & YUKITAKA, F.N. (2003): Isolation and characterisation of a sporeless mutant in *Pleurotus eryngii*. *Mycoscience*, 44, 33-40.
132. YU, H.J., LIM, D. & LEE, H. (2003): Characterization of a novel single stranded RNA mycovirus in *Pleurotus ostreatus*. *Virology*, 314, 9-15.
133. ZADRAZIL, F. (1974): The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae*, and *Pleurotus eryngii*. *Mushroom Sci.*, 9, 621-652.
134. ZERVAKIS, G. & BALIS, C. (1996): A pluralistic approach in the study of *Pleurotus* species with emphasis on compatibility and physiology of the European morphotaxa. *Mycol. Res.*, 100, 717-731.
135. ZERVAKIS, G. & VENTURELLA, G. (2002): Mushroom breeding and cultivation enhances *ex situ* conservation of Mediterranean *Pleurotus* taxa. In: Engels, J. M. M., Rao, V. R., Brown, A. H. D., and Jackson, M. T. (eds.), *Managing Plant Genetic Diversity*. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 351–358.

136. ZERVAKIS, G., KATSARIS, P., IOANNIDOU, E., LAHOVARIS, E. & PHILIPPOUSSIS (2001b): Facultative biotrophic basidiomycetes produce high quality edible mushrooms. *Phytopathol. Mediterr.*, 40, 190.
137. ZERVAKIS, G., MONCALVO, J. M., & VILGALYS, R. (2004): Molecular phylogeny, biogeography and speciation of the mushroom species *Pleurotus cystidiosus* and allied taxa. *Microbiology*, 150, 715-726.
138. ZERVAKIS, G., SOURDIS, J. & BALIS, C. (1994): Genetic variability and systematics of eleven *Pleurotus* species based on isozyme analysis. *Mycol. Res.*, 98, 329-341.
139. ZERVAKIS, G., VENTURELLA, G. & PAPADOPOULOU, K. (2001a): Genetic polymorphism and taxonomic infrastructure of the *Pleurotus eryngii* species-complex as determined by RAPD analysis, isozyme profiles and ecomorphological characters. *Microbiology*, 147, 3183-3194.
140. ZHANG, J., HUANG, C. & LI, C. (2005): The cultivars of *P. nebrodensis* in China In: Tan, Q., Zhang, J., Chen, M., Cao, H., Buswell, J. A. (eds.), Mushroom Biology and Mushroom Products. Shanghai Xinhua Printing Co., Ltd. Shanghai, China. *Acta Edulis Fungi*, 12, 350-353.
141. ZHANG, J.X., HUANG, C.Y., NG, T.B. & WANG, H.X. (2006): Genetic polymorphism of *Ferula* mushroom growing on *Ferula sinkiangensis*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 71, 304–309.

Internetes hivatkozások, elektronikus publikációk

Internetes hivatkozás 1.

Index Fungorum

<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>

Google: „index fungorum”

2010. április 15.

Internetes hivatkozás 2.

The IUCN Red List of Threatened Species

<http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/61597/0>

Google: IUCN nebrodensis

2011. július 15.

Internetes hivatkozás 3.

PHYLTOOLS

http://www.plantbreeding.wur.nl/UK/software_PhylTools.html

Google: Phyltools

2010. április 15.

Internetes hivatkozás 4.

MATHENY P.B. (2006): PCR Primers to Amplify and Sequence rpb2 (RNA polymerase II second largest subunit) in Basidiomycota (Fungi). <<http://www.clarku.edu/faculty/dhibbett>> (accessed May 30, 2009).

<http://www.clarku.edu/faculty/dhibbett/downloads%20syllabi%20proposals%20etc/rpb2%20primers.pdf>

Google: Matheny 2006 PCR Primers to Amplify and Sequence

2009. május 30.

Internetes hivatkozás 5.

The Universal Virus Database of International Committee on Taxonomy of Viruses

<http://www.ictvdb.org/Ictv/index.htm>

Google: ictvdb

2011. április 14.

Internetes hivatkozás 6.

VENTURELLA, G. 2006. *Pleurotus nebrodensis*. In: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1.

www.iucnredlist.org

Google: IUCN Venturella

2011. július 15.

Internetes hivatkozás 7.

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes: Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. National Academy Press, Washington, DC, 2000.

http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=9810&page=284

Google: National Academy Press Dietary Reference Intakes selenium

2011. július 15.

Internetes hivatkozás 8.

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington, DC: National Academy Press, 2001.

<http://www.nap.edu/openbook.php?isbn=0309072794>

Google: National Academy Press Dietary Reference Intakes zinc
2011. július 15.

Felhasznált programok, adatbázisok

1. ClustalX2.1

2. EditSeq (DNASar programcsomag).

3. Mega 4 és Mega 5b7 programcsomag.

4. Oligo Calc: Oligonucleotide Properties Calculator.

<http://www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html> 2010. április 16.

5. RestrictionMapper

<http://www.restrictionmapper.org/>

6. National Center for Biotechnology Information

www.ncbi.nlm.nih.gov

7. BoxShade

8. SPSS 15

M.2. MELLÉKLETEK

M.2.1. MELLÉKLET: IZOLÁLÁS, TÖRZSFENNTARTÁS ÉS SPÓRAFELVÉTEL KÉSZÍTÉS



M.2.1.1. ábra. Vadon begyűjtött ördögszekér laskagomba. (fotó: Geösel A.)



M.2.1.2. ábra. Termőtest álszövetéből történt az izolálás.



M.2.1.3. ábra. Álszövet kimetszése.



M.2.1.4. ábra. Leoltás lemezekre.



M.2.1.5. ábra. Spórafelvétel készítése.



M.2.1.6. ábra. Spórafelvétel.



*M.2.1.7. ábra. A törzsekkel beoltott
fapálcikák.*



*M.2.1.8. ábra. Fapálcikán tapasztalt
növekedés leállása.*



*M.2.1.9. ábra. Folyékony nitrogénben
történő fenntartás.*



M.2.1.10. ábra. Törzsek kiolvasztása.

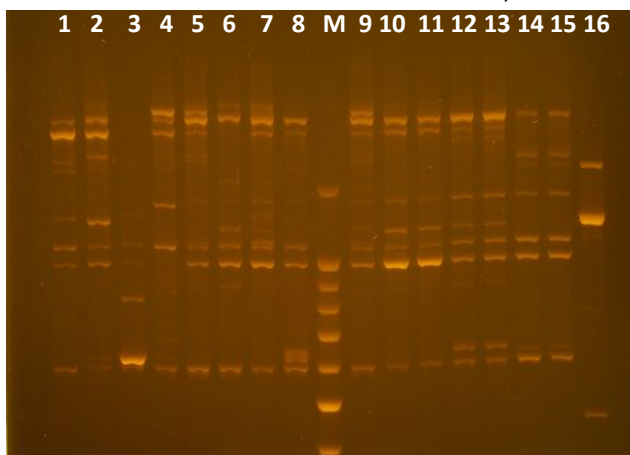


M.2.1.11. ábra. Perlites törzsfenntartó.

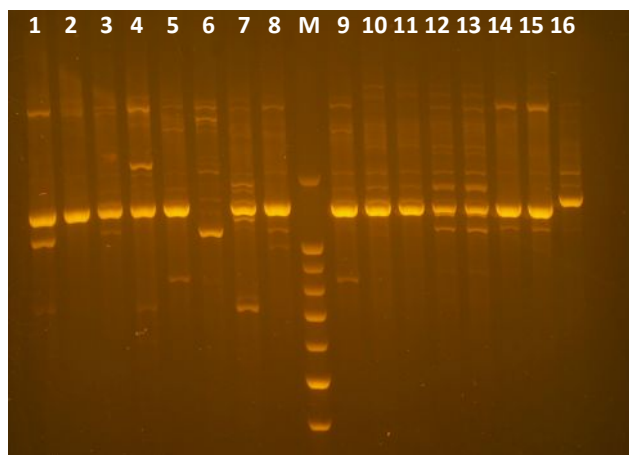


*M.2.1.12. ábra. Perlites törzsfenntartó
átszövetve.*

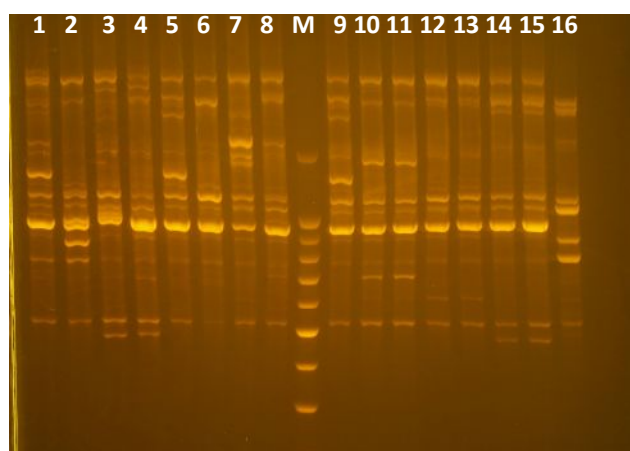
M.2.2. MELLÉKLET: RAPD-PCR GÉLFOTÓK, BINÁRIS KÓDOLÁS ÉS TÁVOLSÁGMÁTRIX



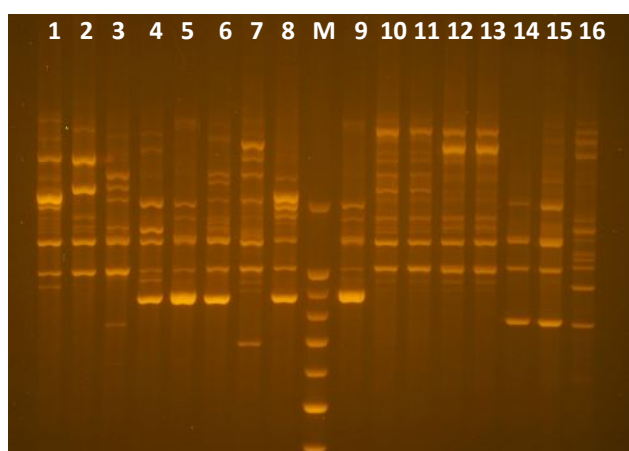
M.2.2.1. ábra. A 16 törzs RAPD-mintázata az OPA 5 primerrel.



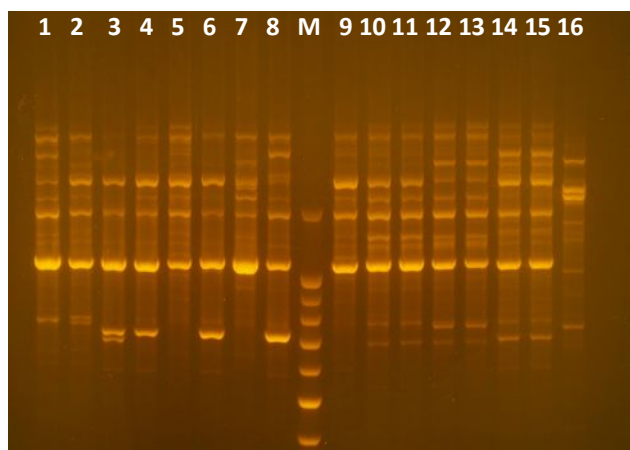
M.2.2.2. ábra. A 16 törzs RAPD-mintázata az OPA 7 primerrel.



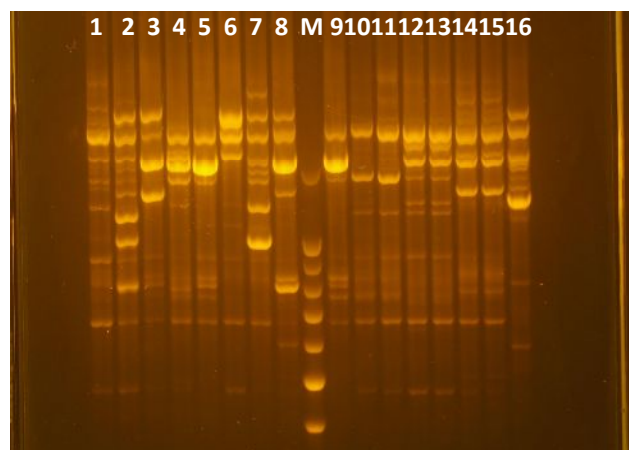
M.2.2.3. ábra. 16 törzs RAPD-mintázata az OPA 10 primerrel.



M.2.2.4. ábra. 16 törzs RAPD-mintázata az OPA 13 primerrel.



M.2.2.5. ábra. A 16 törzs RAPD-mintázata az OPA 18 primerrel.



M.2.2.6. ábra. A 16 törzs RAPD-mintázata az OPB 10 primerrel.

1. PEP, 2. PEC, 3. PES, 4. PEL, 5. PEF, 6. PEA, 7. PE-SZM, 8. PEG, M: méret marker, 9. PEF-i, 10. PLE-1V, 11. PLE-2V, 12. PLE-3V, 13. PLE-4V, 14. PLE-5V, 15. PLE-6V, 16. P.o.
(M: 1500, 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400 bp, 300 bp)

M.2.2.7. melléklet. Bináris mátrix a RAPD mintázatból.

```
1 0100000110000001100001000100001000010101010011100000010001001011001000000000001100011010001111010001000001010100
2 010000011000111110000000010000100000010111101100000001000100100010100000000001100011010000011010011001000010101
3 0110000110000000000000000100101000001100001011000000010101001001110000000000111100010010000101010001000010100101
4 010000101001000111000000010000110000110001001100000001001100111000000000000011100011010000111010101000000111100
5 01000011110010111101000001001010000001000100111000100100110010100000000000001100011010000110010101000000100100
6 0100000110101000100001000000001010100100010011000000010011001001010000000000011100010010000011010001000000010111
7 0100000111001001101000010100111000000100010011011100011001001001011010000000001100011110010010010001100101000101
8 010101011000100110001100010000100000010001001100000001001100101100000000000011100011001001111100011000010100101
9 01000001111010111101000001001010000001000100111000100100110010100000000000001100011010000110011011000001100100
10 0100000110101001100000000100101000000110010011010000010001001000111000100010101110011010000111010001010001000100
11 0100000110101001100000000100101000000110010011010000010001001000111000100010101110011010000111010001010001000100
12 0100010110101001100001001101101000000100010011000000010001001000001010100000101110011001010111010001010001101100
13 010001011010100110000010011011010000010001001100000001000100100000101010000010111001100101011101000101010101100
14 0100100110001110100000100100001000011100010011000000110101001010000000000001101101010010111111010101000110110100
15 0100100110001110100000100100001000011100010011000000110101001010000000000001101101010010111111010101000010110100
16 10000000001001000000000000010101101010001100100000001100100111100000101111100000100101000000000100000010001100001
```

M.2.2.8. melléklet. Távolságmátrix Nei-Li koefficienssel (PHYLTOOLS) számítva.

1	0.000000	0.239437	0.382353	0.277778	0.277778	0.294118	0.333333	0.270270	0.270270	0.270270	0.270270	0.298701	0.358974	0.316456	0.307692	0.794118
2	0.239437	0.000000	0.362319	0.342466	0.315068	0.304348	0.341772	0.333333	0.306667	0.280000	0.280000	0.358974	0.392405	0.350000	0.341772	0.768116
3	0.382353	0.362319	0.000000	0.371429	0.400000	0.333333	0.421053	0.361111	0.416667	0.333333	0.333333	0.413333	0.447368	0.350649	0.342105	0.787879
4	0.277778	0.342466	0.371429	0.000000	0.216216	0.342857	0.450000	0.315789	0.289474	0.368421	0.368421	0.367089	0.375000	0.333333	0.325000	0.800000
5	0.277778	0.315068	0.400000	0.216216	0.000000	0.371429	0.350000	0.315789	0.078947	0.315789	0.315789	0.341772	0.375000	0.333333	0.325000	0.828571
6	0.294118	0.304348	0.333333	0.342857	0.371429	0.000000	0.368421	0.305556	0.361111	0.333333	0.333333	0.386667	0.447368	0.402597	0.394737	0.848485
7	0.333333	0.341772	0.421053	0.450000	0.350000	0.368421	0.000000	0.414634	0.341463	0.292683	0.292683	0.341176	0.325581	0.448276	0.465116	0.815789
8	0.270270	0.333333	0.361111	0.315789	0.315789	0.305556	0.414634	0.000000	0.307692	0.384615	0.384615	0.308642	0.365854	0.373494	0.365854	0.805556
9	0.270270	0.306667	0.416667	0.289474	0.078947	0.361111	0.341463	0.307692	0.000000	0.282051	0.282051	0.308642	0.341463	0.373494	0.365854	0.777778
10	0.270270	0.280000	0.333333	0.368421	0.315789	0.333333	0.292683	0.384615	0.282051	0.000000	0.000000	0.185185	0.219512	0.397590	0.390244	0.750000
11	0.270270	0.280000	0.333333	0.368421	0.315789	0.333333	0.292683	0.384615	0.282051	0.000000	0.000000	0.185185	0.219512	0.397590	0.390244	0.750000
12	0.298701	0.358974	0.413333	0.367089	0.341772	0.386667	0.341176	0.308642	0.308642	0.185185	0.185185	0.000000	0.105882	0.395349	0.388235	0.733333
13	0.358974	0.392405	0.447368	0.375000	0.375000	0.447368	0.325581	0.365854	0.341463	0.219512	0.219512	0.105882	0.000000	0.379310	0.395349	0.710526
14	0.316456	0.350000	0.350649	0.333333	0.333333	0.402597	0.448276	0.373494	0.373494	0.397590	0.397590	0.395349	0.379310	0.000000	0.011494	0.792208
15	0.307692	0.341772	0.342105	0.325000	0.325000	0.394737	0.465116	0.365854	0.365854	0.390244	0.390244	0.388235	0.395349	0.011494	0.000000	0.789474
16	0.794118	0.768116	0.787879	0.800000	0.828571	0.848485	0.815789	0.805556	0.777778	0.750000	0.750000	0.733333	0.710526	0.792208	0.789474	0.000000

M.2.3. MELLÉKLET: *TEF1 α* ÉS *RPB2* RÉGIÓK SZEKVENCIAANALÍZISÉNEK EREDMÉNYEI

M.2.3.1. melléklet. Elongációs factor - translation elongation factor (tef1 α) részleges szekvenciaanalízisének eredményei.

PEP	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
PEC	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
PES	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
PEL	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
PEFA	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
PEA	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
PE-SZM	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
PEG	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
PEFI	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
Ple_E_1V	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
Ple_2V	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
Ple_3V	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
Ple_4V	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
Ple_5V	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
PEK_4	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
Ple_6V	1	AACATGATCACTGGCACCTCCCAGGCCGATTGCGCTATCCTCATCATTGCCGCCGGTACT
consensus	1	*****

PEP	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
PEC	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
PES	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
PEL	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
PEFA	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
PEA	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
PE-SZM	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
PEG	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
PEFI	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
Ple_E_1V	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
Ple_2V	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
Ple_3V	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
Ple_4V	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
Ple_5V	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
PEK_4	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
Ple_6V	61	GGTGAATTTCGAAGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACTCGTGAACACGCTCTCCTTGCC
consensus	61	*****

PEP	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
PEC	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
PES	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
PEL	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
PEFA	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
PEA	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
PE-SZM	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
PEG	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
PEFI	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
Ple_E_1V	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
Ple_2V	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
Ple_3V	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
Ple_4V	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
Ple_5V	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
PEK_4	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
Ple_6V	121	TTCACCTCTCGGTGTCCGTCAACTCATCGTTGCCATCAACAAGATGGACACAACCAAGGTT
consensus	121	*****

PEP	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
PEC	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
PES	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
PEL	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
PEFA	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
PEA	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
PE-SZM	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
PEG	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
PEFI	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
Ple_E_1V	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
Ple_2V	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
Ple_3V	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
Ple_4V	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
Ple_5V	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
PEK_4	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
Ple_6V	181	TGTGACTCGCATTTATTAGTTGTGACTAATTTTCCTGAGAATTTTCGCAGTGGAGCGAGG
consensus	181	*****

PEP	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
PEC	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
PES	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
PEL	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
PEFA	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
PEA	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
PE-SZM	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
PEG	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
PEFI	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
Ple_E_1V	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
Ple_2V	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
Ple_3V	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
Ple_4V	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
Ple_5V	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
PEK_4	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
Ple_6V	241	ACCGATTCAACGAAATCATCAAGGAAACCTCTAACTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACC
consensus	241	*****

PEP	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
PEC	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
PES	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
PEL	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
PEFA	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
PEA	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
PE-SZM	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
PEG	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
PEFI	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
Ple_E_1V	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
Ple_2V	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
Ple_3V	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
Ple_4V	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
Ple_5V	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
PEK_4	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
Ple_6V	301	CGAAGGCCGTTGCCTTCGTCCCCATCTCAGGATGGCACGGTGACAACATGTTGGAGGAGT
consensus	301	*****

PEP	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
PEC	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
PES	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
PEL	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
PEFA	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
PEA	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
PE-SZM	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
PEG	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
PEFI	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
Ple_E_1V	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
Ple_2V	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
Ple_3V	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
Ple_4V	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
Ple_5V	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
PEK_4	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
Ple_6V	361	CCGTCAAGTAAGTACCCATATGATTGATCTAAAGAGGCAATGATCTTACCATTTTCCAGC
consensus	361	*****

PEP	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
PEC	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
PES	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
PEL	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
PEFA	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
PEA	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
PE-SZM	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
PEG	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
PEFI	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
Ple_E_1V	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
Ple_2V	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
Ple_3V	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
Ple_4V	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
Ple_5V	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
PEK_4	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
Ple_6V	421	ATGACATGGTACAAGGGCTGGACCAAGGAGACCAAGGCCGGTGTCTGTCGTC AAGGGCAAGACC
consensus	421	*****

PEP	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
PEC	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
PES	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
PEL	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
PEFA	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
PEA	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
PE-SZM	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
PEG	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
PEFI	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
Ple_E_1V	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
Ple_2V	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
Ple_3V	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
Ple_4V	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
Ple_5V	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
PEK_4	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
Ple_6V	481	CTCCTCGATGCCATCGATGCCATCGAACCCCCCGTCCGCCCCCTCCGACAAGCCTCTCCGT
consensus	481	*****

PEP	541	CTTCCTCTCCAGG
PEC	541	CTTCCTCTCCAGG
PES	541	CTTCCTCTCCAGG
PEL	541	CTTCCTCTCCAGG
PEFA	541	CTTCCTCTCCAGG
PEA	541	CTTCCTCTCCAGG
PE-SZM	541	CTTCCTCTCCAGG
PEG	541	CTTCCTCTCCAGG
PEFI	541	CTTCCTCTCCAGG
Ple_E_1V	541	CTTCCTCTCCAGG
Ple_2V	541	CTTCCTCTCCAGG
Ple_3V	541	CTTCCTCTCCAGG
Ple_4V	541	CTTCCTCTCCAGG
Ple_5V	541	CTTCCTCTCCAGG
PEK_4	541	CTTCCTCTCCAGG
Ple_6V	541	CTTCCTCTCCAGG
consensus	541	*****

M.2.3.2. melléklet. RNS-polimeráz II (rpb2) lókuszt részleges szekvenciaanalízisének eredménye.

Ple_5V	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
Ple_6V	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
PEFI	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
PE-SZM	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
PEA	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
PEFA	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
PEL	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
PEK_4	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
PEC	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
PEP	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
PES	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
Ple_E_1V	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
Ple_2V	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
PEG	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
Ple_3V	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
Ple_4V	1	TCACAATCAGGTATGTCGTTTATCGTTAAGACGCATGCATGCTCGCCTCACGCAGTTTGT
consensus	1	*****.*****

Ple_5V	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
Ple_6V	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
PEFI	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
PE-SZM	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
PEA	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
PEFA	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
PEL	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
PEK_4	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
PEC	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
PEP	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
PES	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
Ple_E_1V	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
Ple_2V	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
PEG	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
Ple_3V	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
Ple_4V	61	TCGTAGTCTCCTCGTAATACTTACCAATCTGCCATGGGTAAACAAGCTATGGGCATCTTC
consensus	61	*****

Ple_5V	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
Ple_6V	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
PEFI	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
PE-SZM	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
PEA	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
PEFA	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
PEL	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
PEK_4	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
PEC	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
PEP	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
PES	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
Ple_E_1V	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
Ple_2V	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
PEG	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
Ple_3V	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
Ple_4V	121	CTGACCAATTTCCCTCATCCGAATGGATACCATGGCCAACATCTTGTACTATCCTCAGAAA
consensus	121	*****

Ple_5V	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
Ple_6V	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
PEFI	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
PE-SZM	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
PEA	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
PEFA	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
PEL	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
PEK_4	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
PEC	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
PEP	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
PES	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
Ple_E_1V	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
Ple_2V	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
PEG	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
Ple_3V	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
Ple_4V	181	CCGCTGGCGACCACTCGCTCCATGGAATATCTCAAGTTCCGAGAGCTACCTGCGGGTCAA
consensus	181	*****

Ple_5V	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
Ple_6V	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
PEFI	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
PE-SZM	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
PEA	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
PEFA	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
PEL	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
PEK_4	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
PEC	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
PEP	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
PES	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
Ple_E_1V	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
Ple_2V	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
PEG	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
Ple_3V	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
Ple_4V	241	AATGCTATCGTAGCCATTTTATGCTACAGCGGGTACAACCAGGAAGATTCTGTTATTATG
consensus	241	*****

Ple_5V	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
Ple_6V	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
PEFI	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
PE-SZM	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
PEA	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
PEFA	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
PEL	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
PEK_4	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
PEC	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
PEP	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
PES	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
Ple_E_1V	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
Ple_2V	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
PEG	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
Ple_3V	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
Ple_4V	301	AACCAAAGCTCGGTCGATCGTGGTCTATTCCGGAGTATGTATTACCGCAGTTACATGGAT
consensus	301	*****

Ple_5V	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
Ple_6V	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
PEFI	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
PE-SZM	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
PEA	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
PEFA	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
PEL	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
PEK_4	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
PEC	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
PEP	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
PES	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
Ple_E_1V	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
Ple_2V	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
PEG	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
Ple_3V	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
Ple_4V	361	CTCGAAAAGAAATCTGGAATCCAGCAGTTGGAAGAATTCGAGAAGCCTTCTCGTGACAAC
consensus	361	*****.

Ple_5V	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
Ple_6V	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
PEFI	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
PE-SZM	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
PEA	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
PEFA	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
PEL	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
PEK_4	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
PEC	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
PEP	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
PES	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
Ple_E_1V	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
Ple_2V	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
PEG	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
Ple_3V	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
Ple_4V	421	ACACTTCGCATGAAACATGGCACGTATGACAAACTCGAGAATGACGGCCTCATCGCTCCT
consensus	421	*****

Ple_5V	481	GGA
Ple_6V	481	GGA
PEFI	481	GGA
PE-SZM	481	GGA
PEA	481	GGA
PEFA	481	GGA
PEL	481	GGA
PEK_4	481	GGA
PEC	481	GGA
PEP	481	GGA
PES	481	GGA
Ple_E_1V	481	GGA
Ple_2V	481	GGA
PEG	481	GGA
Ple_3V	481	GGA
Ple_4V	481	GGA
consensus	481	*****

Ple_5V	541	AGT
Ple_6V	541	AGT
PEFI	541	AGT
PE-SZM	541	AGT
PEA	541	AGT
PEFA	541	AGT
PEL	541	AGT
PEK_4	541	AGT
PEC	541	AGT
PEP	541	AGT
PES	541	AGT
Ple_E_1V	541	AGT
Ple_2V	541	AGT
PEG	541	AGT
Ple_3V	541	AGT
Ple_4V	541	AGT
consensus	541	*****

Ple_5V	601	AAG
Ple_6V	601	AAG
PEFI	601	AAG
PE-SZM	601	AAG
PEA	601	AAG
PEFA	601	AAG
PEL	601	AAG
PEK_4	601	AAG
PEC	601	AAG
PEP	601	AAG
PES	601	AAG
Ple_E_1V	601	AAG
Ple_2V	601	AAG
PEG	601	AAG
Ple_3V	601	AAG
Ple_4V	601	AAG
consensus	601	*****

le_5V	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
Ple_6V	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
PEFI	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
PE-SZM	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
PEA	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
PEFA	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
PEL	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
PEK_4	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
PEC	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
PEP	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
PES	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
Ple_E_1V	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
Ple_2V	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
PEG	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
Ple_3V	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
Ple_4V	661	AAGTTCGTCAAAATCAGAGTTCGTTCTACACGTATCCCCCAGATTGGCGATAAGTTTGCC
consensus	661	*****

Ple_5V	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
Ple_6V	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
PEFI	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
PE-SZM	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
PEA	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
PEFA	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
PEL	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
PEK_4	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
PEC	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
PEP	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
PES	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
Ple_E_1V	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
Ple_2V	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
PEG	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
Ple_3V	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
Ple_4V	721	TCGCGTCACGGGCAGAAGGGTACCATTGGCATAACATACAGACAAGAGGACATGCCCTTC
consensus	721	*****

Ple_5V	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
Ple_6V	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
PEFI	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
PE-SZM	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
PEA	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
PEFA	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
PEL	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
PEK_4	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
PEC	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
PEP	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
PES	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
Ple_E_1V	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
Ple_2V	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
PEG	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
Ple_3V	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
Ple_4V	781	ACATGCGAAGGAATTGTTCCAGATATCATCATTAACCCCCACGCCATTCCCTCACGTATG
consensus	781	*****

Ple_5V	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
Ple_6V	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
PEFI	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
PE-SZM	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
PEA	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
PEFA	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
PEL	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
PEK_4	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
PEC	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
PEP	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
PES	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
Ple_E_1V	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
Ple_2V	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
PEG	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
Ple_3V	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
Ple_4V	841	ACAATCGGCCATCTTGTCGAATGTCTTCTTTCCAAGGTGGCCACTCTTATCGGGAACGAA
consensus	841	*****

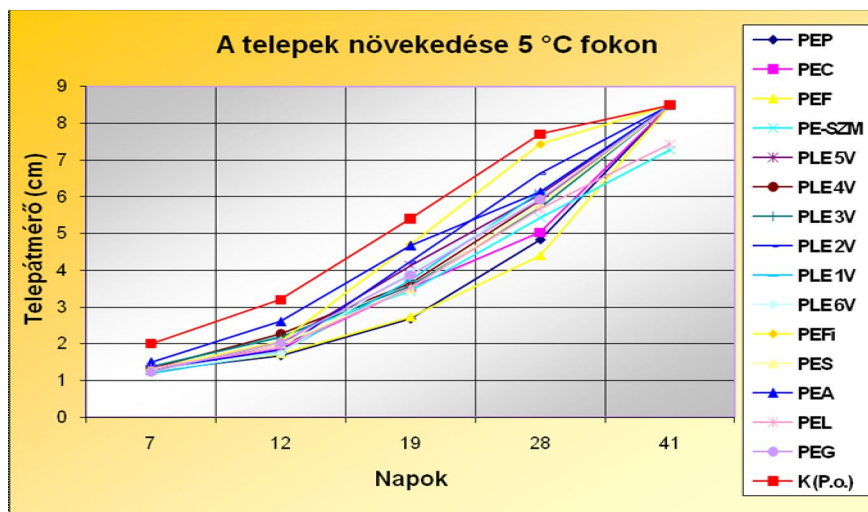
Ple_5V	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
Ple_6V	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
PEFI	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
PE-SZM	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
PEA	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
PEFA	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
PEL	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
PEK_4	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
PEC	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
PEP	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
PES	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
Ple_E_1V	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
Ple_2V	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
PEG	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
Ple_3V	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
Ple_4V	901	GGTGACGCTACTCCATTACCCGATCTTACGGTCGAGTCCGTTTCCGCCTTCTTGAGACAG
consensus	901	*****.***

Ple_5V	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
Ple_6V	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
PEFI	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
PE-SZM	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
PEA	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
PEFA	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
PEL	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
PEK_4	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
PEC	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
PEP	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
PES	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
Ple_E_1V	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
Ple_2V	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
PEG	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
Ple_3V	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
Ple_4V	961	AAAGGCTATCAGTCCCGTGGTCTGGAAGTGATGTACCATGGTCACACTGGCAGGAAGCTC
consensus	961	*****

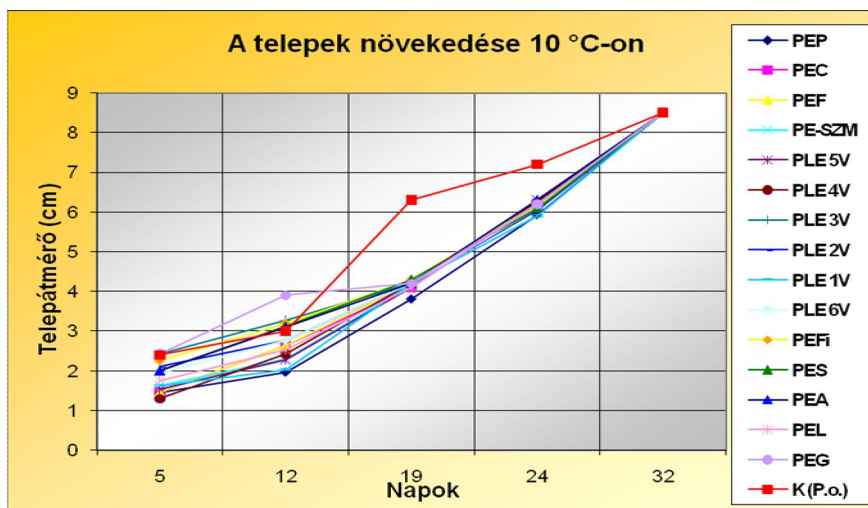
Ple_5V	1021	CAAGCGCAGGT
Ple_6V	1021	CAAGCGCAGGT
PEFI	1021	CAAGCGCAGGT
PE-SZM	1021	CAAGCGCAGGT
PEA	1021	CAAGCGCAGGT
PEFA	1021	CAAGCGCAGGT
PEL	1021	CAAGCGCAGGT
PEK_4	1021	CAAGCGCAGGT
PEC	1021	CAAGCGCAGGT
PEP	1021	CAAGCGCAGGT
PES	1021	CAAGCGCAGGT
Ple_E_1V	1021	CAAGCGCAGGT
Ple_2V	1021	CAAGCGCAGGT
PEG	1021	CAAGCGCAGGT
Ple_3V	1021	CAAGCGCAGGT
Ple_4V	1021	CAAGCGCAGGT
consensus	1021	*****

M.2.4. MELLÉKLET: VEGETATÍV NÖVEKEDÉSI TESZTEK

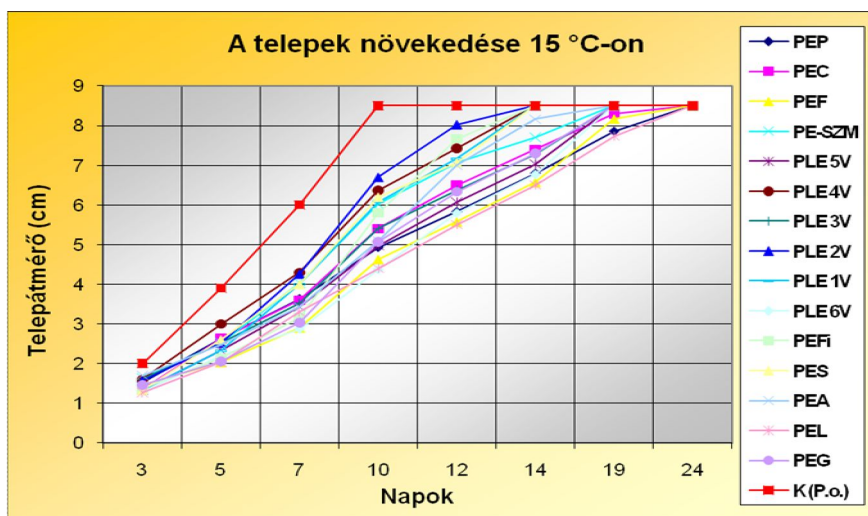
M.2.4.1. melléklet. Különböző törzsek telepeinek növekedése különböző hőmérsékleteken.



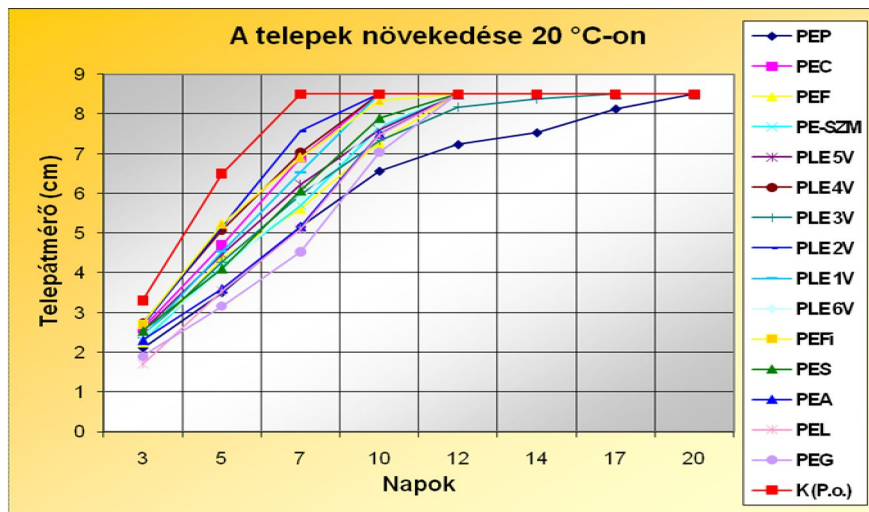
M.2.4.1.1. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 5 °C-on.



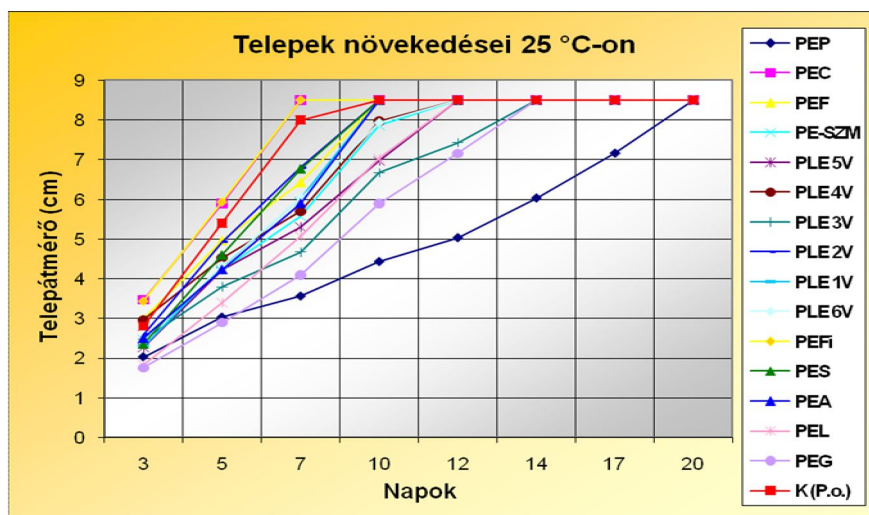
M.2.4.1.2. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 10 °C-on.



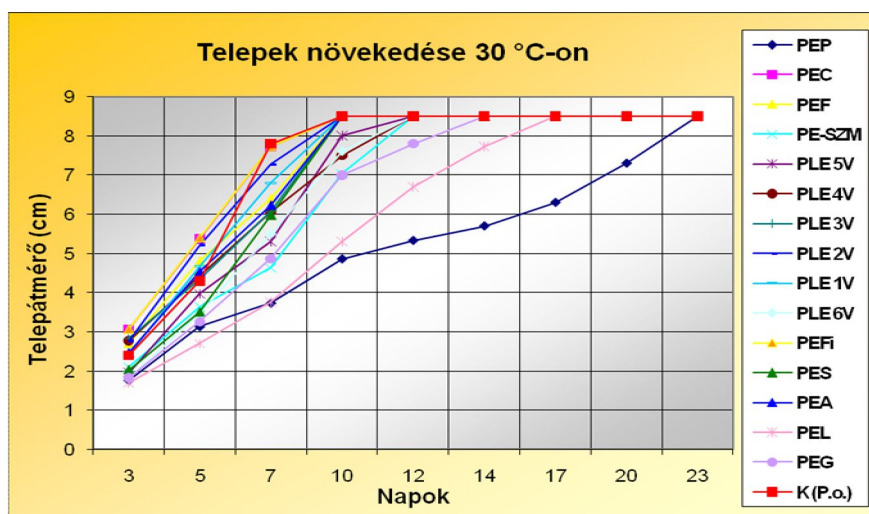
M.2.4.1.3. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 15 °C-on.



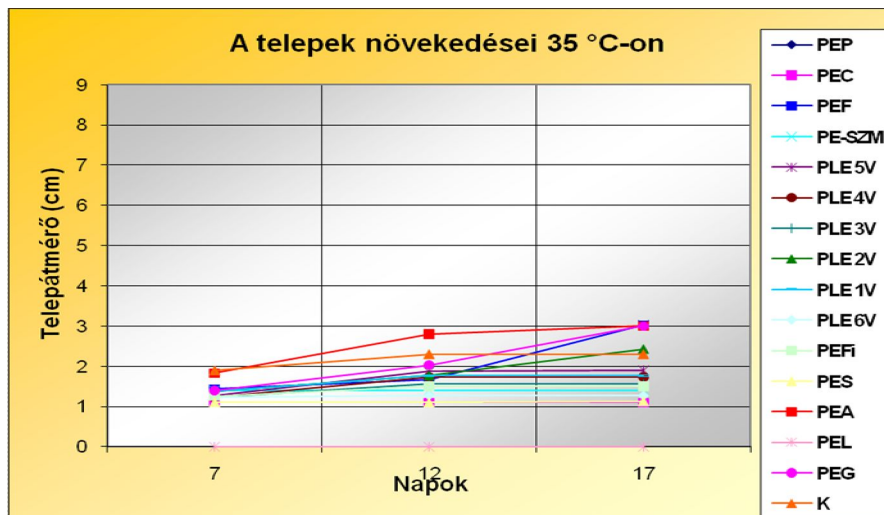
M.2.4.1.4. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 20 °C-on.



M.2.4.1.5. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 25 °C-on.

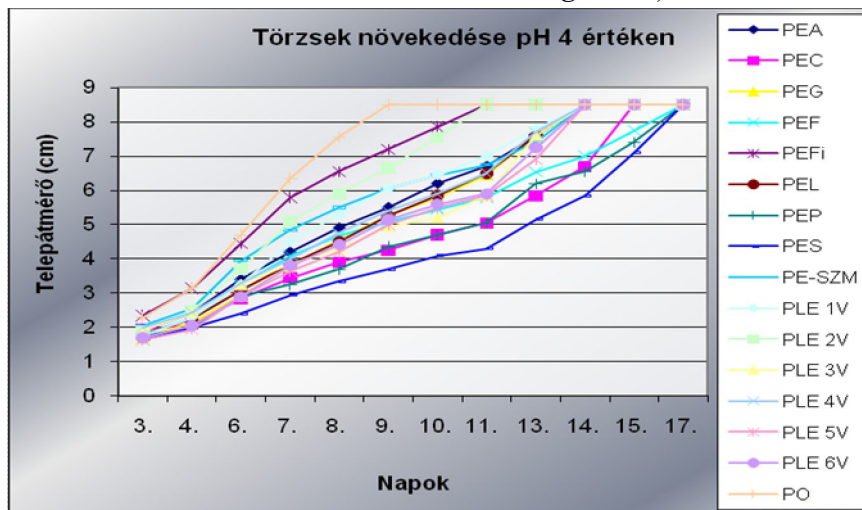


M.2.4.1.6. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 30 °C-on.

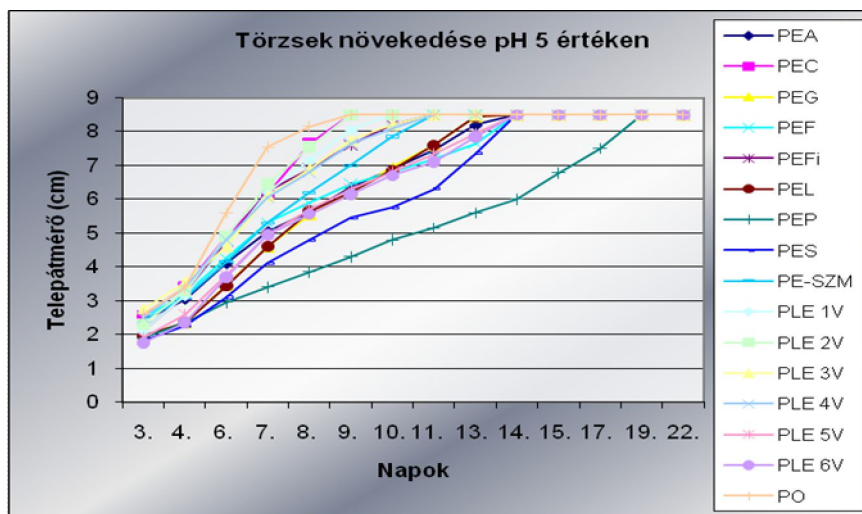


M.2.4.1.7. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 35 °C-on.

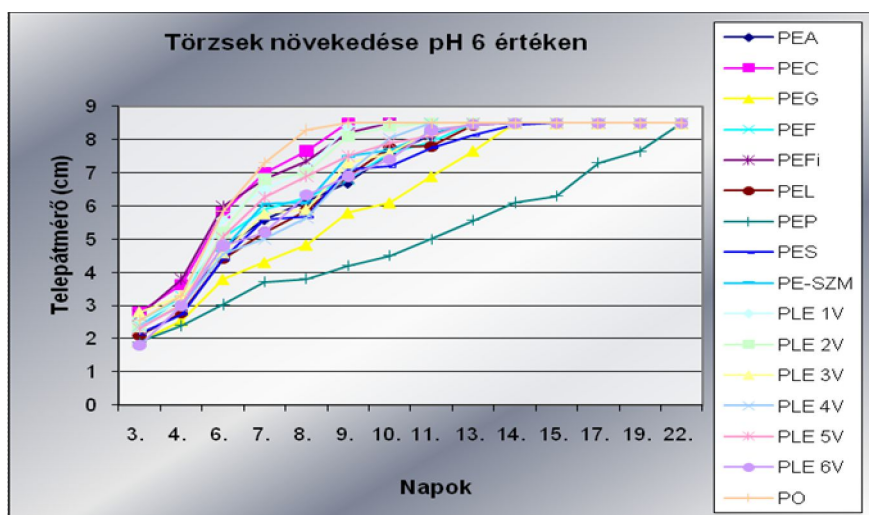
M.2.4.2. melléklet. Különböző törzsek telepeinek növekedése különböző kémhatású táptalajon.
(A félfokos lépcsők ábrázolásától eltekintünk a kis különbség miatt.)



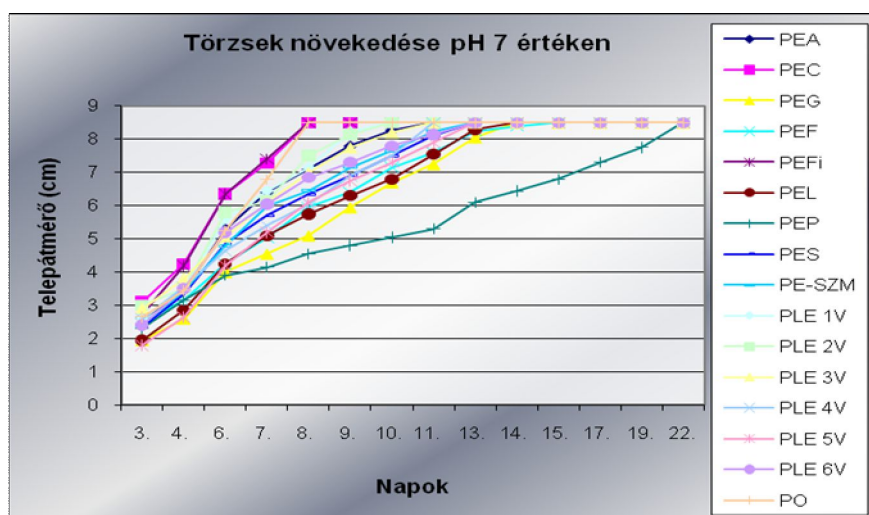
M.2.4.2.1. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése pH 4 értéken.



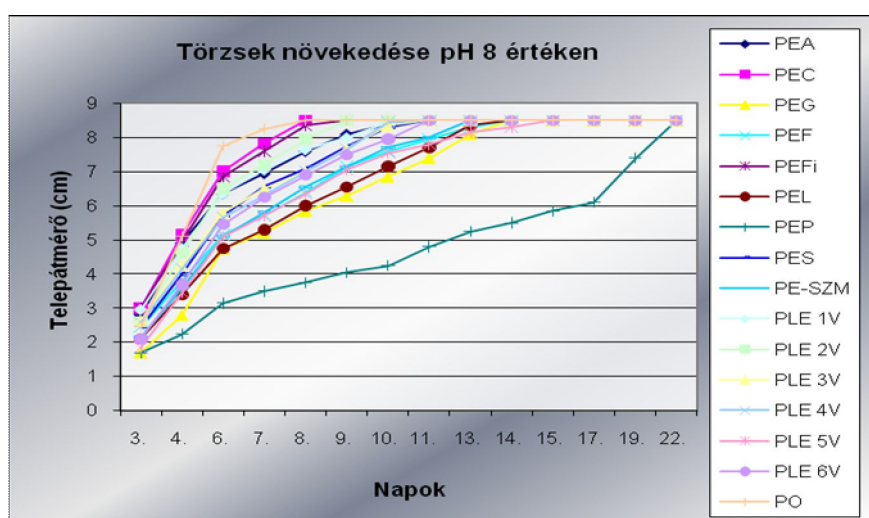
M.2.4.2.2. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése pH 5 értéken.



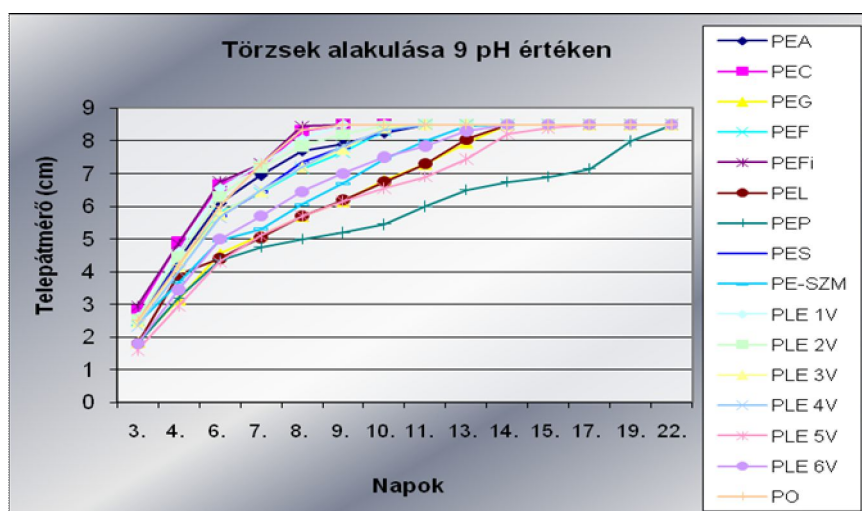
M.2.4.2.3. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése pH 6 értéken.



M.2.4.2.4. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése pH 7 értéken.

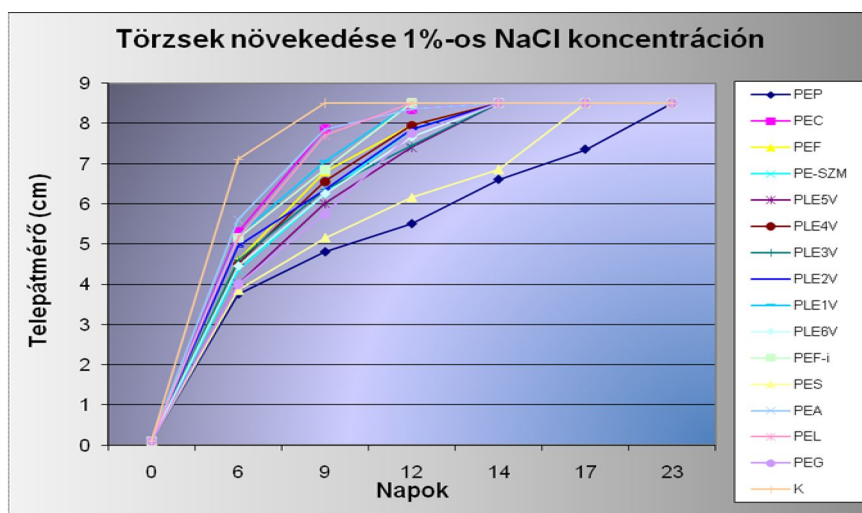


M.2.4.2.5. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése pH 8 értéken.

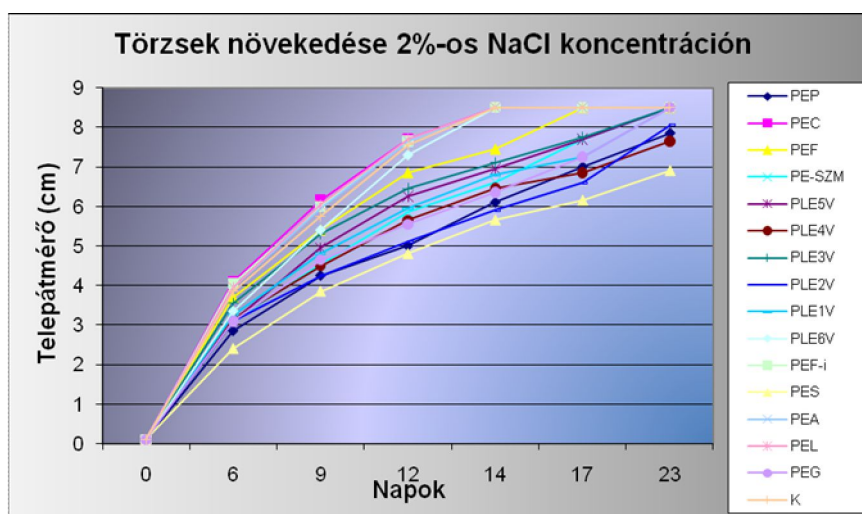


M.2.4.2.6. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése pH 9 értéken.

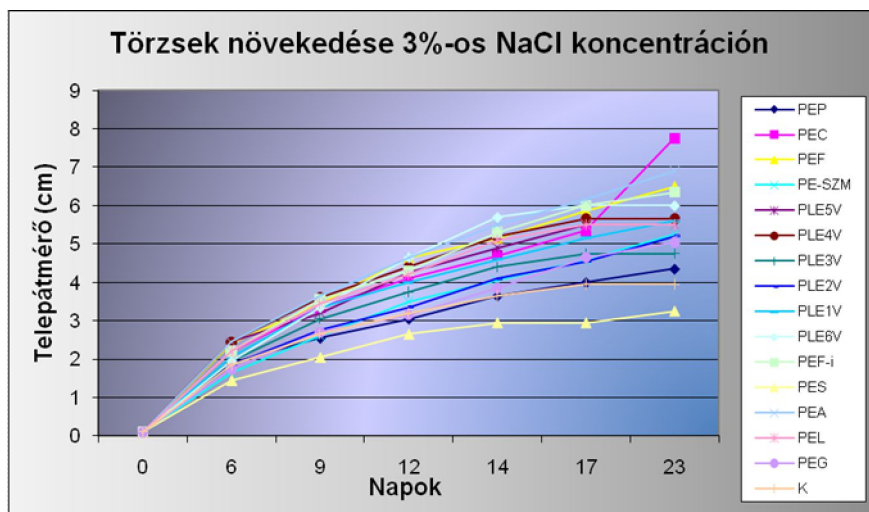
M.2.4.3. melléklet. Különböző törzsek telepeinek növekedése különböző mennyiségű NaCl jelenlétében.



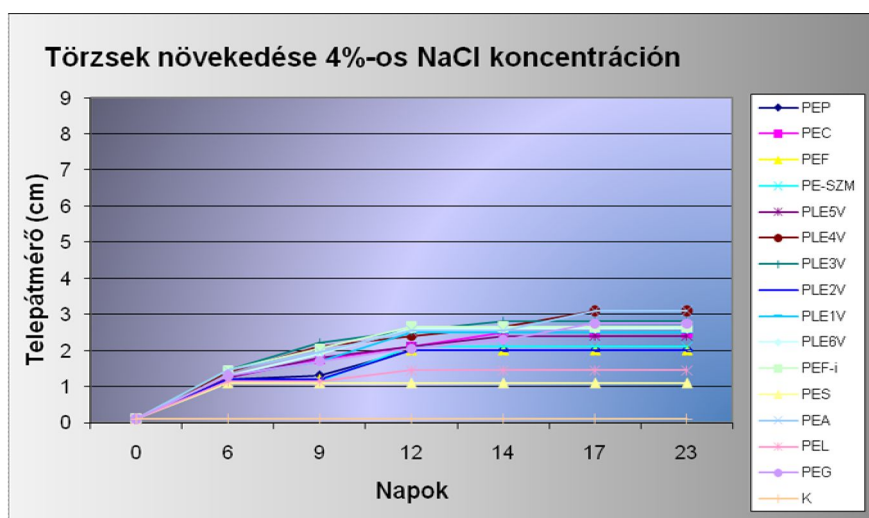
M.2.4.3.1. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 1% NaCl koncentráció mellett.



M.2.4.3.2. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 2% NaCl koncentráció mellett.

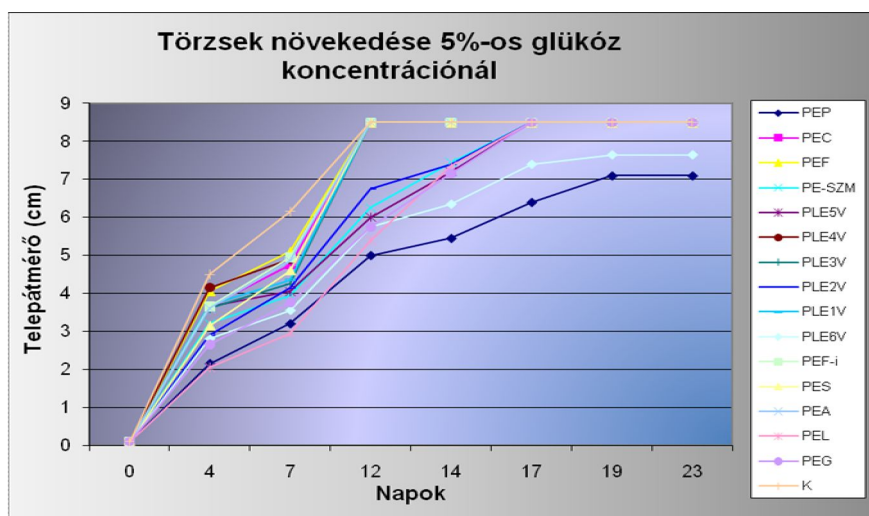


M.2.4.3.3. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 3% NaCl koncentráció mellett.

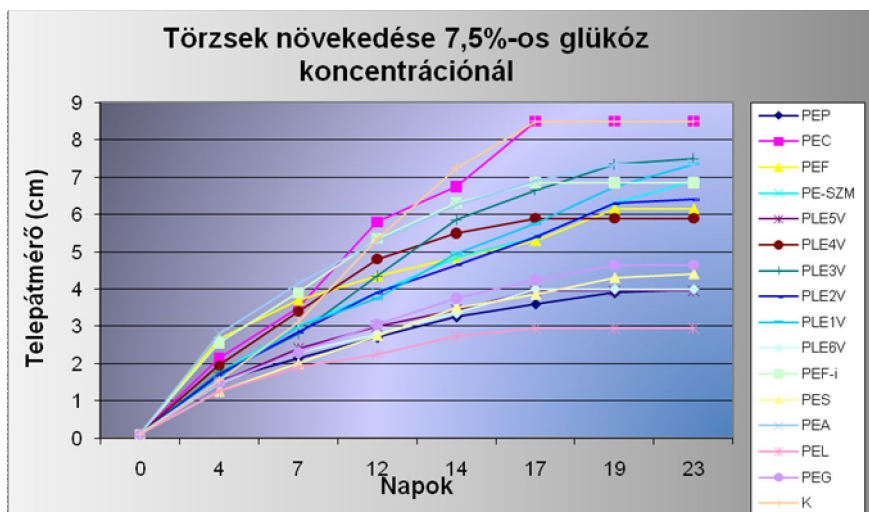


M.2.4.3.4. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 4% NaCl koncentráció mellett.

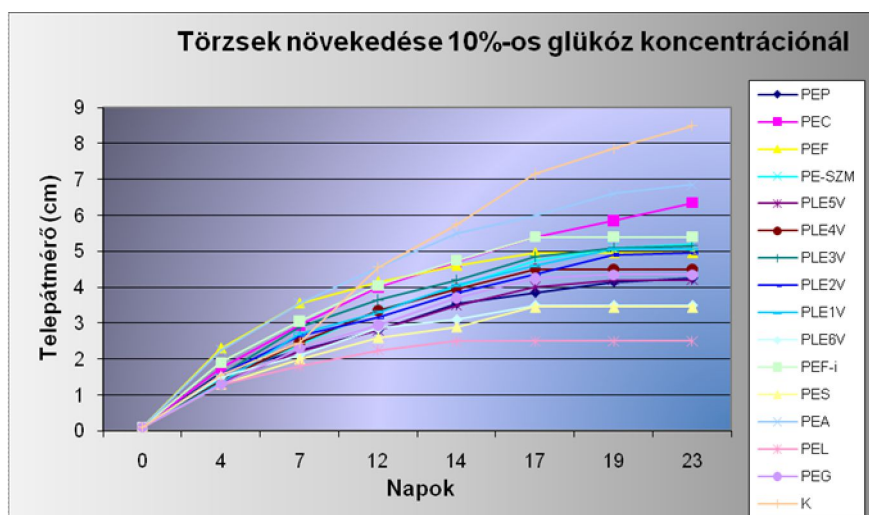
M.2.4.4. melléklet. Különböző törzsek telepeinek növekedése különböző glükózmennyiség jelenlétében.



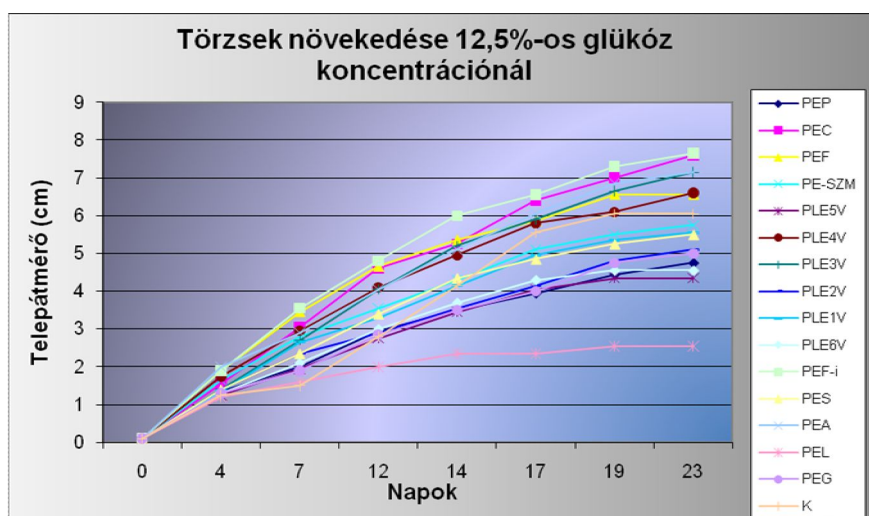
M.2.4.4.1. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 5% glükóz koncentráció mellett.



M.2.4.4.2. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 7,5% glükóz koncentráció mellett.



M.2.4.4.3. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 10% glükóz koncentráció mellett.



M.2.4.4.4. ábra. A törzsek vegetatív micéliumának növekedése 12,5% glükóz koncentráció mellett.

1. Leggyorsabb termőtestképzők: 27-28. napon szedhető a termés.

1. Törzs: Ple-3V	
Oltástól számított napok és jellemzés	Adott fázis fotódokumentációja
18. nap A zsák pereménél apró, kevés számú, csokros primordium látható.	
23. nap A csokrokban 3-4 mm átmérőjű primordiumok láthatóak. Néhol a primordiumok mérete eléri a borsó-mogyoró nagyságot, sőt egy dió nagyságú termőtest is látható.	
27. nap A zsákon szép fejlett termőtestek láthatóak. Ezen a napon történt meg az első termőcsokrok leszedése. Ez a törzs a Ple-4V-vel együtt az elsők között termett.	

27. nap – 1. szedés

Rövid jellemzés:

Fotók: 27. napon: 1. hullám első termőcsokor.

A kalap tölcséresedő, színe a többi törzséhez képest világosabb. Korral a kalap pereme világosodik, vajszerűvé válik. Lemezek a tönkre viszonylag hosszan lefutók. A tönk koncentrikusan illeszkedik a kalaphoz. A tönk egyenes, kissé szélesedő, vékony, nem gumós.



Szedési napok: 27., 28., 37., 47., 56. nap.

BE = 109,43%

P = 58,65%

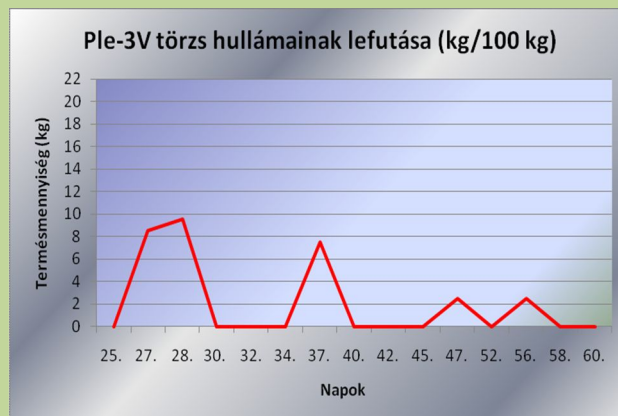
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 30,5 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 2450 db

Átlagos termőtest tömeg: 12,4 g



2. Törzs: Ple-4V <i>Oltástól számított napok és jellemzés</i> <i>Adott fázis fotódokumentációja</i>	
18. nap A zsák peremén vattaszerű micéliumkifutás látható. Egy zsákon 3 mm-es primordiumok láthatóak.	
23. nap A zsák pereménél különböző fejlettségű primordiumok láthatóak. Ezek közül egy-két termőtest dió nagyságot is eléri. Szépen fejlődő törzs.	
26. nap A törzs termőtestei nem túl szépek, de kompakta, vastag tönkkel, világosbarna kalappal. A zsákok peremén több újabb fejlődésnek indult primordium látható.	

27. nap 1. szedés

Rövid jellemzés:

Fotó: 27. napon: 1. hullám első termőcsokor.

A termőtestek kalapja világosbarna, pereme hullámos, néhol becsípett. A tönk vastag, henger alakú, egyenes, de néhány termőtestnél hasas. A tönk kissé excentrikusan kapcsolódik a kalaphoz. A lemezek nem túl mélyen futnak rá a tönkre.

A termőtestek morfológiája alapján kereskedelmi forgalmazásra kevésbé ajánlható törzs, azonban termésmennyiség szempontjából kiemelkedik az összes törzs közül.



Szedési napok: 27., 30., 37., 40., 47., 56., 60. nap.

BE = 156,18%

P = 76,85%

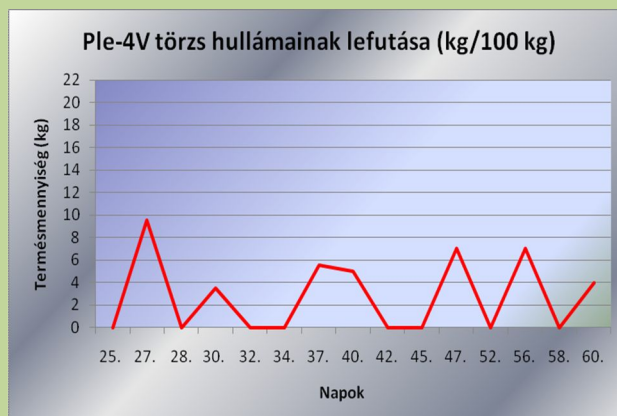
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 41,5 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 2600 db

Átlagos termőtest tömeg: 16 g



3. Törzs: Ple-5V Oltástól számított napok és jellemzés Adott fázis fotódokumentációja	
18. nap A zsák pereménél felfutó vegetatív micélium látható, nincs sodródás, primordiumok nem láthatóak.	
23. nap Ebben a stádiumban, nem szép, hasas, borsó nagyságú vagy attól kisebb termőtestek láthatóak. A termőtestek száma kevés, a zsák peremén jelentkeznek. A vegetatív micélium a takaróföld közepén nem futott föl.	
27. nap A gomba ezen a napon majdnem szedésére érett. Mindkét zsákon azonos fejlettségű, hasas tönkkű, barna kalapú gombák láthatóak.	

28. nap - szedés

Rövid jellemzés:

Fotó: 28. napon: 1. hullám első termőcsokor.

A termőtest kalapja barna színű (ennél a törzsnél a legbarnább a kalap). Idővel a kalap közepe sötétbarna, a széle világosabb barna. A tönk koncentrikus, kissé hasas, barázdált felszínű. A tönk húsa puha, szivacsos. A törzs kevésbé csokrosodó, darabos, termőtesteket képez. Az egyes termőtestek tömege, mérete nagy, de a számuk relatíve kevés. A lemezek mélyen lefutnak a tönkre. Az összes törzs közül – azonos termesztési feltételek mellett – a legérzékenyebb a *Pseudomonas* sp. okozta baktériumos foltosodásra.

A törzs jó nemesítési alapanyag lehet.



Szedési napok: 28., 30., 37., 45., 52., 58., 60. nap.

BE = 140,03%

P = 65,29%

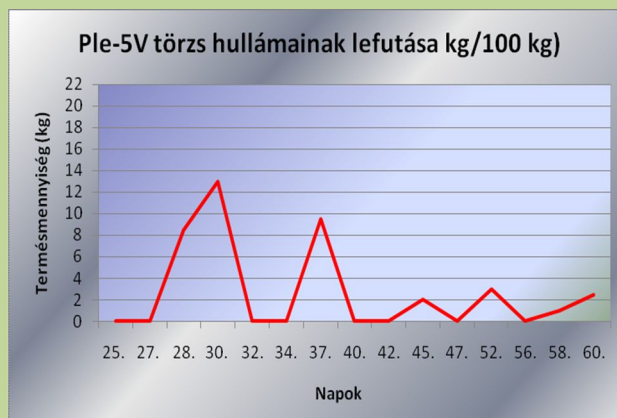
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 39,5 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 1400 db

Átlagos termőtest tömeg: 28,2 g



4. Törzs: PES	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A vegetatív micélium alig jött föl a zsákok peremén (a legtöbb törzs esetében a micélium a zsákok szélein erőteljesebben futott ki a felszínre), ebből kifolyólag a takaróföld felszíne fekete. Micélium felfutás helyett apró, de nagyon szép primordiumok láthatók a zsákok szélein csoportos elhelyezkedésben.	
23. nap Kizárólag a zsák pereménél, kevésbé csokros megjelenésű, nagyon szép borsó nagyságú termőtestek láthatóak. Néhol, egy-két dió nagyságú termőtestet is meg lehet figyelni.	
26. nap Nagyon szép, gömb alakú kalappal rendelkező termőtestek láthatóak. A kalap barnás-szürkés színű, felülete kissé márványos.	

27. nap

A kalap széle barna (Ple-5V mellett ennél az egyik legbarnább). A tönk alja hengeres, kissé hasas. A termőtestek majdnem szedésérettek. A termőtestek között, csokronként a legnagyobb szinkronitás itt tapasztalható.



28. nap - szedés

Rövid jellemzés:

Fotó: 28. napon: 1. hullám első termőcsokor.

Nagyon szép alakú termőtesteket képező törzs. A kalap a fiatal termőtesteknél félgömb alakú, széle sokáig begöngyölt, később kiterül, kissé tölcséressé válik, de a középpontja kissé púpos marad. Színe barnásszürke, gyenge lilás árnyalattal, felszíne benőtten sugarasan szálas, nemezes, szárazon matt. Idővel a kalap széle kevésbé színeződik (sárgul). A tönk zömében központi helyzetű, kevésbé csokrosodó. A lemezek alatti rész kissé szálas. A lemezek közepesen sűrűn állók, fiatalon fehéresek, majd szürkés színűek, a tönk harmadáig lefutók. A tönkön erek, szálak formájában folytatódnak. Spórapora fehér.

Kereskedelmi forgalmazásra ajánlható fajta.





Szedési napok: 28., 30., 32., 37., 47., 56., 60. nap.

BE = 111,2%

P = 43,06%

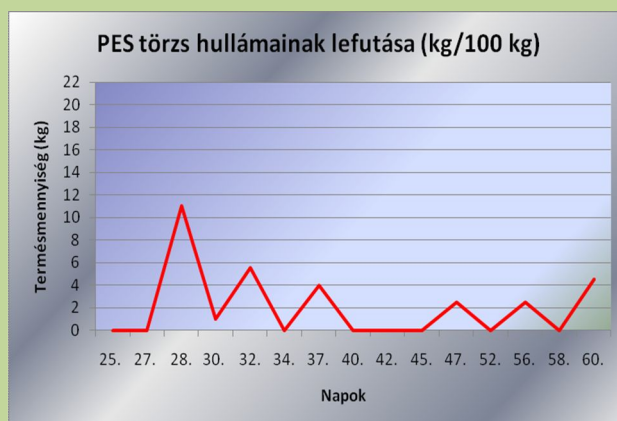
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 31 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 1500 db

Átlagos termőtest tömeg: 20,7 g



5. Törzs: PEA <i>Oltástól számított napok és jellemzés</i> <i>Adott fázis fotódokumentációja</i>	
18. nap A takaróföld felszínén és peremén alig látható micéliumkifutás. Ennek ellenére a zsákok peremeinél gyenge sodródás, valamint nagyon apró, sok primordium látható.	
23. nap A zsákonkon nagyon szép formájú, viszonylag nagyszámú, borsó nagyságú vagy attól kisebb termőtest-kezdemények figyelhetők meg. A vegetatív micélium nem futott föl a takaróföld felszínére, így az fekete maradt.	
26. nap Nagyon szép, gömb alakú kalappal rendelkező termőtestek láthatóak a zsákokon. A kalap barnás színű, felülete kissé márványos, szálás. Ebben a termesztési fázisban nagyon hasonlított a PES törzshöz.	

27. nap

A termőtestek lazább csokrot alkotnak. A termőtestek szépek, szabályosak, kissé robusztusabbak, mint a PES törzs.



28. nap - szedés

Rövid jellemzés:

Fotó: 28. napon: 1. hullám első termőcsokor.

Nagyon szép alakú termőtesteket képező törzs. A termőtestek kevésbé csokrosodnak, idővel kissé tölcséresednek, világosodnak. A gomba kalapja barnás színű, felszíne sima, szálas. A lemezek nem túl mélyen, a tönkre lefutóak. A tönk koncentrikus elhelyezkedésű. A lemezek alatt kissé szálas. Hasonló a PES törzshöz.

Kereskedelmi forgalmazásra ajánlható fajta.





Szedési napok: 28., 30., 40., 42., 58. nap.

BE = 118,44%

P = 45,58%

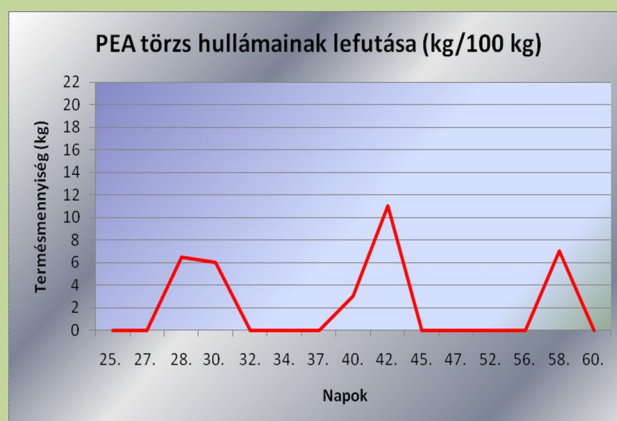
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 33,5 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 1700 db

Átlagos termőtest tömeg: 19,7 g



2. A 30-31. napon szedhető az első hullám

6. Törzs: PEC	
Oltástól számított napok és jellemzés	Adott fázis fotódokumentációja
18. nap Zsákok szélein vattás (stroma) jellegű micélium-kifutás tapasztalható. A zsák közepén is látható, hogy a micélium vékonyan följön a felszínre. Ebben a stádiumban gyors növekedésű, sztrómásodásra hajlamos törzsnek tűnik.	
23. nap Erőteljesen növekvő, dús vattás micélium látható a zsákok peremén. Egy-egy sztróma jellegű rész felszínén megindult a sodródás, pici tűfejek már láthatóak.	
25. nap A zsák peremén rengeteg primordium jelent meg. A pici primordiumok mellett 3-4 cm nagyságú kis termőtestek is láthatók. A kalapja bársonyosan sima, barnás színű.	

28. nap

A rendkívül nagyszámú primordiumból csak nagyon kevés képes termőtestet fejleszteni. (A visszamaradó primordiumok szedést követően visszahálnak, barnulnak, így azokat sztrómás alapjukkal együtt el kellett távolítani.)



30. nap

Rövid jellemzés:

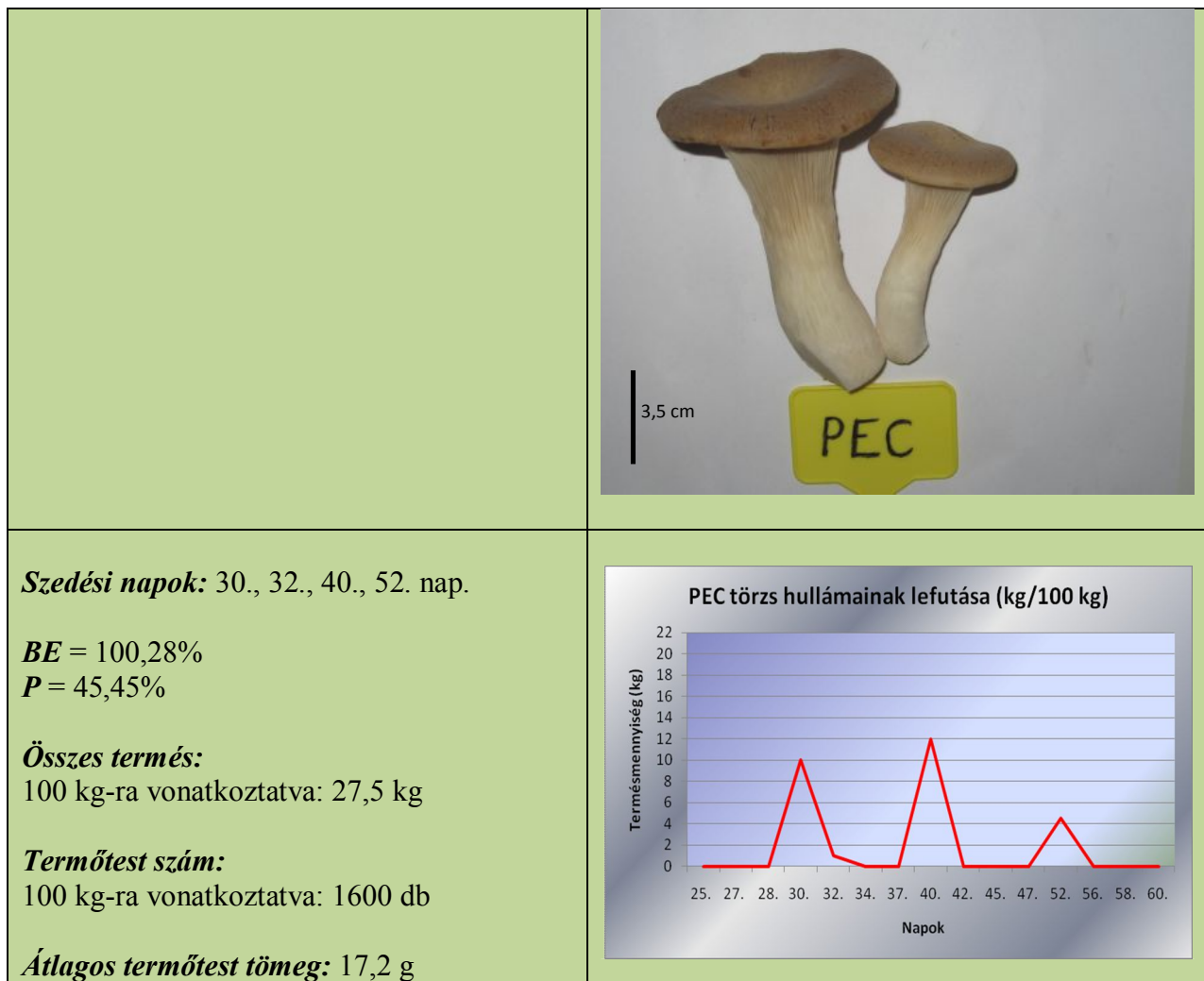
Fotó: 30. napon: 1. hullám első termőcsokor.

A korábban vattás micéliumon is nagyszámú primordium fejlődött. A zsákon ehhez képest kevés a nagyobb méretű termőtest. A termésindukció idején keletkező, nagyszámú primordiumból csak keveset tudott „kinevelni”, a többi visszahalt. A termőtestek némelyike kisebb csokorban fejlődött vagy önállóan állnak.

A termőtest tönkje viszonylag karcsú, hosszú és nem hasas. A tönk illeszkedése a kalaphoz zömében kissé excentrikus. A kalap szürkés-barnás, kissé nemezes, töréscséresedésre hajlamos. A lemezek szabályosan tönkre lefutók.

Rendkívül intenzív vegetatív növekedést mutató törzs. Amennyiben kisebb, nem kifejezetten robusztus termőtestek nyerése a cél, ajánlható kereskedelmi forgalmazásra. A takaróföldön sztróma jellegű micéliumpárna képzésére hajlamos. Elsősorban nemesítési alapanyagként ajánlható törzs.





7. Törzs: PEP	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A zsákok pereménél, közepén alig tapasztalható micéliumkifutás, így a takaróföld fekete. Ritkán egy-egy pontban megjelennek 3-4 mm-es - ebben a stádiumban a többi törzshöz képest - nagyobb termőtest-kezdemenyek.	
23. nap Viszonylag kevés számú, borsó és mogyoró nagyságú termőtest látható. Ebben a stádiumban nem szépek, ugyanis a kalap rendkívül pici és a tönk gömb alakú. Ennél a törzsnél voltak a leginkább gömbszerűek a pici termőtestkezdemenyek.	
25. nap A zsákon kevés hasas tönkű termőtest fejlődik. A tönk közepe lényegesen szélesebb, mint a kalap átmérője. A többi zsákon sodródás látható, de nagyobb termőtestek nem fejlődtek belőlük. A kalap a közepén barna, széle felé kissé világosodó. A lemezek nem túlságosan mélyre futnak le a tönkön.	

28. nap

A zsákokon robusztus, nagyobb tömegű termőtestek jelentek meg laza csokorban. A tönk aljának gömbölyűsége idővel háttérbe szorul, azonban ez a jellemzője nem tűnik el. Első hullám idején szép, nagyméretű, de kevés gombát terem.

Az első szedésérett termőcsokrok megjelenésekor a zsákok pereméről borsónyi, mogorónyi, néhol diónyi nagyságú termőtestek indultak fejlődésnek.



30. nap

Rövid jellemzés:

Fotó: 30. napon: 1. hullám első termőcsokor.

A kifejlődött termőtestek száma kevés, de nagy méretűek, nagy tömegűek és hófehér húsúak. A kalap világosbarna, és a szedési időre azonos, vagy nagyobb átmérővel rendelkeznek, mint a tönk átmérője. A tönk lefelé szélesedő, esetenként hasas. A tönk kissé excentrikusan illeszkedik a kalaphoz. A lemezek kevésbé mélyen futnak le a tönkre.

A törzs lassú vegetatív növekedésű, de szép, tömeges gombákat produkál. Nemesítési alapanyagnak megfelelő, termesztésre kevésbé ajánlható.



Szedési napok: 30., 32., 40., 45., 58. nap.

BE = 56,31%

P = 20,56%

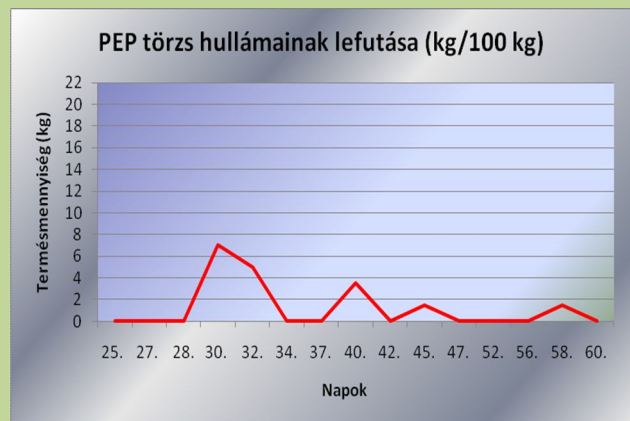
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 18,5 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 550 db

Átlagos termőtest tömeg: 33,6 g



8. Törzs: PE-SZM	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A zsákok pereménél finom szálas micéliumkifutás tapasztalható. A kifutó micélium szép, legyezőszerű, nem vattás jellegű (mint pl. a PEC törzs esetében). Micélium sodródás sehol nem látható. A zsákok közepén egyáltalán nem jött föl a micélium, így a takaróanyag jellegzetesen fekete maradt.	
23. nap A zsákok peremén nagyon apró tűfejek láthatók. A zsákok közepén, a takaróföld alatt csak néhány helyen figyelhető meg vékony micéliumréteg.	
25. nap A zsákok pereménél nagyszámú, csokros gömb alakú, kis termőtestek láthatóak. Ezek a csokrosodás miatt akár vízszintesen is állhatnak. Nagyon pici kalap és gömb alakú, hasas tönk jellemzi. Hasonló a PEP törzshöz, azonban itt sokkal nagyobb számban jelennek meg a kis termőtestek.	

28. nap

A termőtestek csokrosan fejlődnek, számuk magas. A csokrosodás miatt minden irányban fejlődnek termőtestek. A tönk hasas, gyakran nagyobb átmérővel rendelkezik, mint a kalap. A kalap világosbarna színű, néhol foszlányokkal. A lemezek nem fejlettek.

A fejlettebb termőtestek mellett borsó és mogyoró nagyságú termőtestek egyaránt fejlődnek, így minden stádiumban megfigyelhetők a „gombák” a szubsztrátumon.



30. nap

Rövid jellemzés:

Fotó: 30. napon: 1. hullám első termőcsokor.

A zsákokon nagyszámú, kisebb tömegű, de szép termőtest fejlődött ki. A kalap világosbarna színű, melyek között több vese alakú is (egy helyen behúzott, becsípett) látható. Egy-egy termőtest kalapjának felszínén sötét foszlányok figyelhetők meg. A tönk lefelé szélesedik, kissé hasas. A termőtestek csokrosan fejlődnek, de a szedésérettség idejére a szétszedett termőtesteket nem deformálja. A lemezek tönkre lefutók, szépen kifejlődtek.

A törzs szép, súlyos gombákat terem. Termesztési célokra és nemesítési alapanyagként kiválóan használható.





Szedési napok: 30., 32., 37., 40. 60. nap.

BE = 120%

P = 55,36%

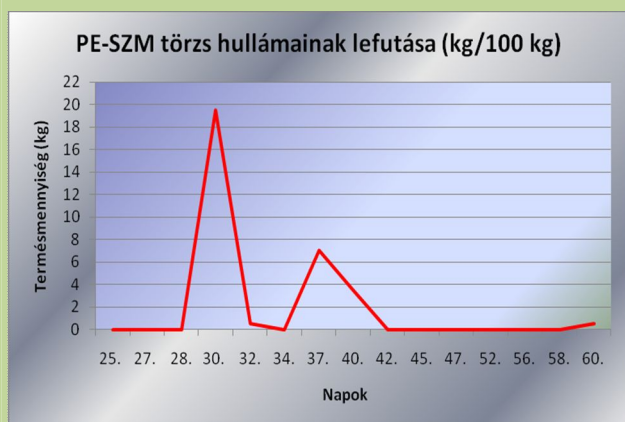
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 31 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 2150 db

Átlagos termőtest tömeg: 14,4 g



9. Törzs: Ple-1V	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A zsákok pereménél a gyengén kifutó vegetatív micéliumon sodródás és apró primordiumok láthatóak.	
23. nap Kis primordiumok figyelhetők meg, amelyek nagyon lassan fejlődnek.	
25. nap Mogyoró, dió nagyságú, világos kalapú termőtestek láthatóak a zsák pereménél csokros formában. A termőtestkezdemények nem szépek, egymással több helyen összenőttek.	

28. nap

A 3-7 cm nagyságú termőtestek csokrosak, nem szépek.



30. nap

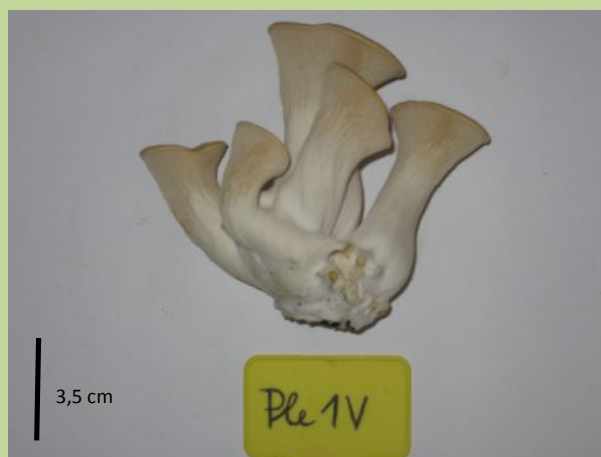
Rövid jellemzés:

Fotó: 30. napon: 1. hullám első termőcsokor.

A törzs világos barna kalapú, tölcséresedő termőtesteket képez. Több termőtest kalapja lebenyes, karéjos szélű. Látható volt néhány kissé torz, összenőtt termőtest. A tönk henger alakú vagy lefelé szélesedő, kissé excentrikusan illeszkedik a kalaphoz. A termőtestek változó tönkátmérővel rendelkeznek.

A törzs nem szép, tömör állományú termőtesteket képez. Termesztési célokra és nemesítési munkához sem kifejezetten alkalmas.





Szedési napok: 30., 40., 52. nap.

BE = 97,33%

P = 44,83%

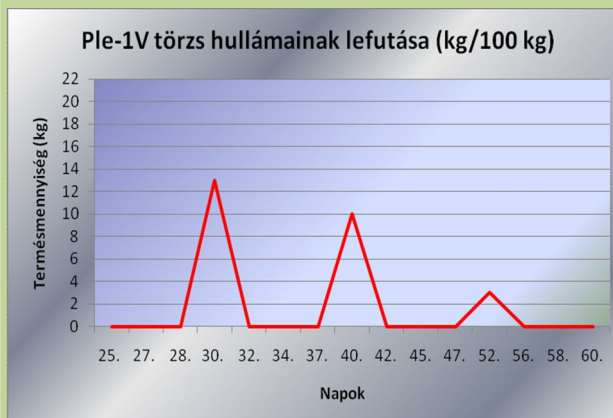
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 26 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 1400 db

Átlagos termőtest tömeg: 18,6 g



10. Törzs: Ple-2V	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A zsákok peremén gyenge micéliumkifutás látható. Néhol sodródás is megfigyelhető.	
23. nap A zsákokon kevés primordium látható.	
25. nap Több dió nagyságú termőtest látható, de azok csokrosodnak, nem szépek. Előfordul, hogy több termőtest összenövéséből torz gomba („puffancs”) fejlődik.	

28. nap

A zsákok peremén fejlődő termőtestek nem szépek, néhány összenőhet egymással. A torz termőtest a szabályos termőtestekkel együtt növekszik.



30. nap

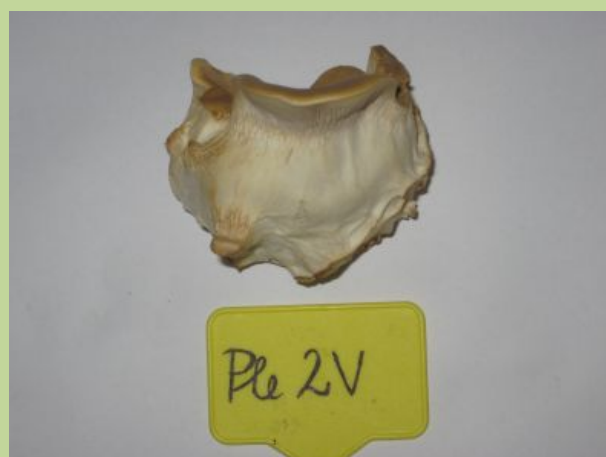
Rövid jellemzés:

Fotó: 30. napon: 1. hullám első termőcsokor.

Világos barna kalapú termőtestek csokrosak, egyesek az alapjuknál összenőttek, mások a kalap szélénél nőttek össze. A kalap széle hullámos. A leszedett termőtesteknél szinte mindenhol megfigyelhető a tönkök összenövése (szedés után sem választható szét törés, „levelezés” nélkül). A tönk hosszirányban kissé barázdált, lefelé szélesedő. A tönk kissé excentrikusan illeszkedik a kalaphoz.

A törzs csokrosodásra, termőtest-összenövésre hajlamos, nem szép, termesztési és nemesítési célokra nem alkalmas.





Szedési napok: 30., 34., 37., 40., 45., 52., 58. nap.

BE = 104,38%

P = 45,62%

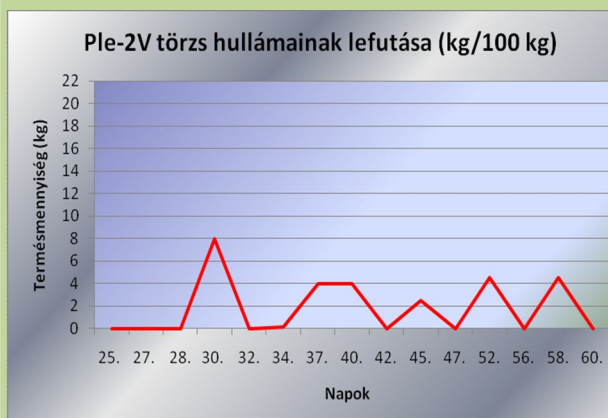
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 27,6 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 1400 db

Átlagos termőtest tömeg: 19,7 g



11. Törzs: Ple-6V	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A zsák peremén a micélium alig futott ki, így a takaróföld nagyrészt sötét maradt, de a peremén, néhol már látható sodródás.	
23. nap Ebben a stádiumban a növekedésben leginkább lemaradt törzsnek tűnik. A takaróföld felszíne fekete. A zsák peremén látható micéliumon már primordiumok láthatóak.	
25. nap Szép termőtestkezdemények láthatóak a zsák peremén. A takaróföld felszíne alatt, közepén megfigyelhető a vegetatív micélium. A kis termőtestek zömében mogyoró nagyságúak, szépek, hasas tönkkel rendelkeznek.	

28. nap

A zsákokon szép termőtestek fejlődtek. A kalap színe ebben a stádiumban barna, világosbarna, alakja félgömb alakú. A tönk fehér, vastag és alul kissé hasas.



30. nap

Rövid jellemzés:

Fotó: 30. napon: 1. hullám első termőcsokor.

Nagyon szép, vastag tönkű, nagy robusztus gombákat terem. A kalap barna, világosbarna színű, pereme kissé hullámos. A tönk henger alakú, kissé barázdált, lefelé vastagodó, néhol hasas. A törzs kevésbé csokrosodik, a termőtesteket szét lehet szedni törés nélkül. A lemezek nem túlságosan mélyre futók.

Szép törzs, termesztési, nemesítési célokra megfelelő.





Szedési napok: 30., 34., 45., 60. nap.

BE = 74,35%

P = 32,82%

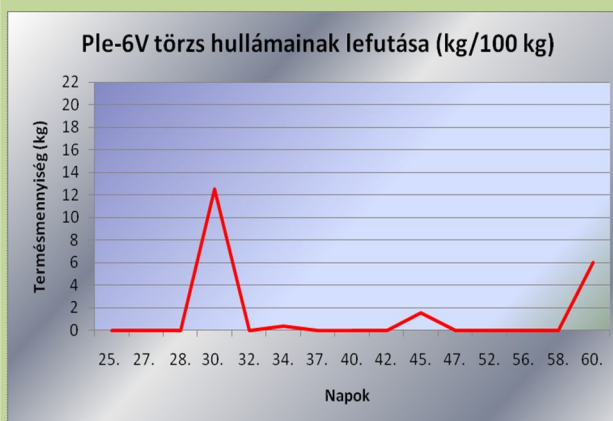
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 20,35 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 1050 db

Átlagos termőtest tömeg: 19,4 g



3. A 32-34. és 37. napokon szedhető az első hullám

12. Törzs: PEK	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A zsákok szélén felfutó vékony micéliumon nem látható primordium.	
23. nap Ebben a stádiumban sodródás látható kis primordiumokkal („tűfejek”).	
27. nap A zsákok peremén számos primordium fejlődött ki, melyek közül néhány már eléri a mogyoró és dió nagyságot.	

30. nap

A zsákokon mogoró, dió nagyságú termőtestek mellett hamarosan szedhető, jól fejlett (4-7 cm hosszú) termőtestek láthatóak. Ebben a stádiumban nincs szinkronban az első hullám. Néhány termőtest nem szép, a tönkön hosszirányú barázdák és néhány tönkön hosszirányú 1-2 cm hosszú barnásszürke csíkok láthatóak. (Utóbbiak elsősorban vízháztartással kapcsolatos élettani betegségnek tűnnek, mint mikoparazita szervezetek által okozott tüneteknek.) A többi termőtest tönkje szép, henger alakú, lefelé kissé szélesedő. A kalap tönkkel kapcsolódó, felső felülete még ebben a fiatal termőtest stádiumban is besüpped. A gomba kalapjának felülete szép, bársonyos, barna színű.



32. nap

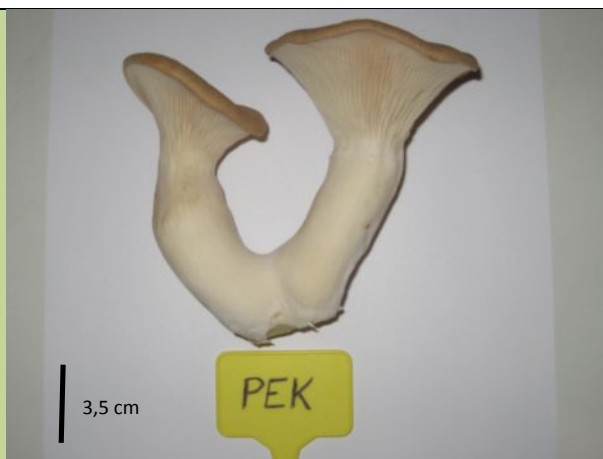
Rövid jellemzés:

Fotó: 32. napon: 1. hullám első termőcsokor.

A törzs viszonylag nagy termőtesteket képez. A kalap kissé karélyos, világosbarna színű és koncentrikusan vagy excentrikusan kapcsolódik a tönkhöz. A kapcsolódási ponton a kalap besüllyed. A lemezek nem futnak le mélyen az egyébként hosszú tönkre. A tönk hengeres, felszíne lehet sima finom szálakkal vagy ritkán barázdált.

Szép törzs, termesztési célokra kiváló, nemesítési alapanyagának is megfelelő, de kicsit később várható az első hullám.





Szedési napok: 32., 34., 45. nap.

BE = 128,26%

P = 65,18%

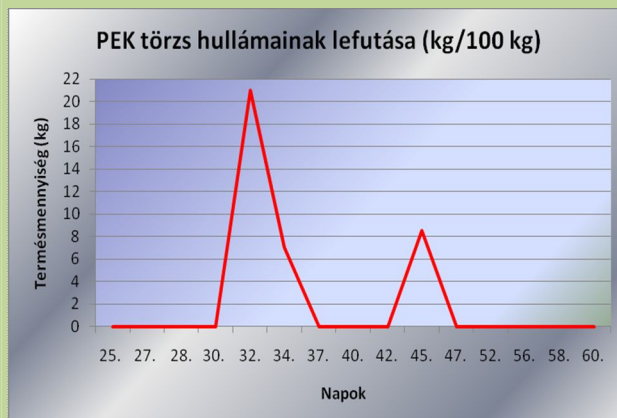
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 36,5 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 950 db

Átlagos termőtest tömeg: 38,4 g



13. Törzs: PEF	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A zsákok pereménél kifutó micéliumon sodródás nem látható.	
23. nap Ezen a napon látható a sodródás eredményeképpen megjelenő, nem túlságosan nagy számú primordium.	
27. nap A zsákok peremén sok tűfej között, több borsó és egy dió nagyságú termőtest látható.	

30. nap A zsákokon szabályos formájú, világosbarna kalapszínű termőtestek láthatók. A lemezek még nem, vagy alig figyelhetők meg. A tönk lefelé szélesedő.	
34. nap Rövid jellemzés: Fotó: 34. napon: 1. hullám első termőcsokor. A törzs nagyméretű „gombákat” terem. A kalap világosbarna, szürkés árnyalattal, helyenként sötétbarna foszlányokkal tarkítva. Idővel tölcséresedik, de sokszor a kalap tönkkel kapcsolódó részénél púp látható. A kalap felülről nézve egy-két helyen kicsípett lehet. A lemezek a tönkre mélyen lefutók (összes törzs közül a legmélyebbre futó). A tönk kissé excentrikusan illeszkedik a kalaphoz és esetenként oldalról lapított. A tönk henger alakú, kevés termőtestnél kissé hasas. Szép törzs, termesztési és nemesítési célokra kiváló, de néhány nappal később hoz termést.	 



Szedési napok: 34., 47., 56. nap.

BE = 119,7%

P = 53,44%

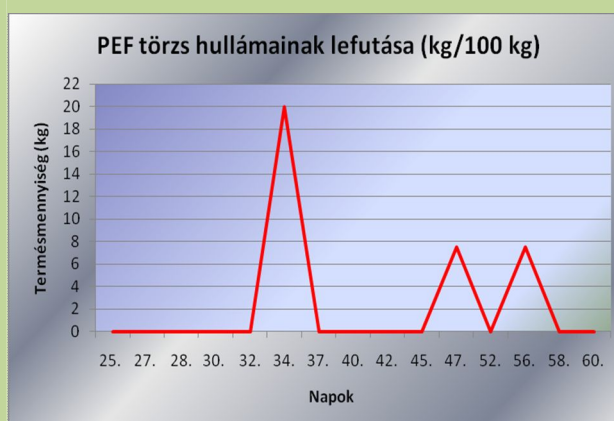
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 35 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 1400 db

Átlagos termőtest tömeg: 25 g



14. Törzs: PEF-i	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A zsákok peremén dúsán kifutó vegetatív micélium látható. A micéliumon sodródó részek nem láthatóak.	
23. nap Megindult a sodródás, így a kifutó micéliumon kis tűfejek figyelhetők meg.	
27. nap Sok kis tűfej (primordium) látható. Jelentősebb fejlődés nem tapasztalható a 23. naphoz képest.	

30. nap A legnagyobb termőtestek is csak 3 cm hosszúak. A kalap világos, a tönk vastag, nem hasas.	
34. nap A nagyobb termőtest kezdemények közül is csak kevés indul fejlődésnek. A fejlettebb termőtestek kalapjának tönkkel érintkező részén tölcséresedik. A kalap excentrikusan kapcsolódik a tönkkel. A kalap világos színű. A lemezek a hengeres tönkre viszonylag mélyen lefutók.	

37. nap

Rövid jellemzés:

Fotó: 37. napon: 1. hullám első termőcsokor.

A kalap világos, tejeskávés színű, szürkés árnyalattal, néhol barna szálakkal. A kalap excentrikusan áll, így láthatóan egyoldalasan, asszimmetrikusan fejlődik. Ennek eredményeképpen "kanalasodik". A kalap tölcséresedik, széle kissé hullámos. A lemezek a tönkre mélyen lefutók. A tönk hengeres vagy lefelé kissé szélesedő. A tönkön hosszanti barázdák láthatók.

Nem különösebben szép törzs, termesztési célokra is alkalmas lehet, de később hoz termést. Nemesítési alapanyagként felhasználható.



Szedési napok: 37., 45., 56. nap.

BE = 72,29%

P = 31,65%

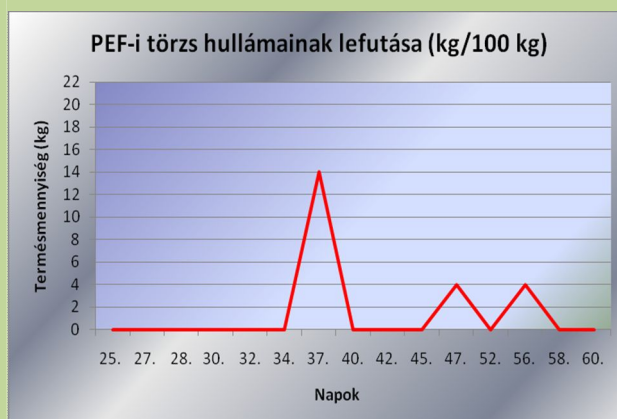
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 22 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 1100 db

Átlagos termőtest tömeg: 20 g



15. Törzs: PEL	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A zsákok peremén pókhálószerű, laza micélium futott ki a felszínre. Sodródás nem látható.	
23. nap A zsákok peremén felfutó micéliumon gyenge sodródás tapasztalható.	
27. nap A törzs a zsákok peremén vastagodó micéliumon rengeteg primordiumot képez. A primordiumok nagyon lassan fejlődnek.	

30. nap

Óriási számú termőtestkezdemény látható a zsákon. Ezek közül néhány eléri a borsó nagyságát. Lassan fejlődik.



34. nap

A rendkívül nagyszámú primordiumból csak nagyon kevés fejlődik érett termőtestté.



37. nap

Rövid jellemzés:

Fotó: 37. napon: 1. hullám első termőcsokor.

A termőtestek aprók, nagyon lassan fejlődnek, de szép alakúak. A rendkívül sok primordiumból nagyon kevés termés érkezik be. Keveset és későn terem. A kalap barna, kissé tölcséres. A kalap szélé sötétebb, közepe világosabb barna. A kalap szélé ép, vagy kissé hullámos. A tönk hengeres, vagy kissé lapított, lefelé szélesedő esetleg kissé hasas.

A törzs, termesztési célokra nem alkalmas. Kisméretű termőtestei alapján, nemesítési alapanyagként felhasználható lehet, ún. konzerv hibridek létrehozására.



Szedési napok: 37., 42., 47., 56. nap.

BE = 28,52%

P = 11,11%

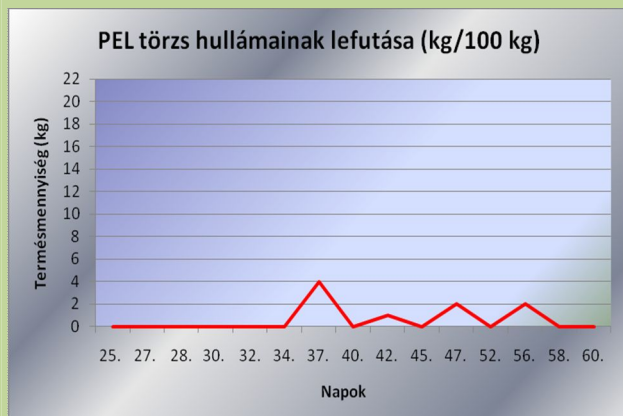
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 9 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 1050 db

Átlagos termőtest tömeg: 8,6 g



16. Törzs: PEG	
<i>Oltástól számított napok és jellemzés</i>	<i>Adott fázis fotódokumentációja</i>
18. nap A zsákok peremén tömör vattás, nem szép micélium látható.	
23. nap A zsákok peremén sok kis apró, fehér primordium figyelhető meg.	
27. nap Számos azonos fejlettségű, borsó nagyságú, szép primordium látható.	

30. nap

A zsákok pereme dúsan álló, rendkívül nagyszámú, borsó és mogyoró nagyságú primordiummal borított.



34. nap

A nagyszámú primordium közül csak néhány fejleszt termőtestet. A termőtestek henger alakúak, tönknél hajlottak. A kalap világos barna, és azonos átmérővel rendelkezik, mint a tönk. Lemezei jóformán nincsenek.



37. nap

Rövid jellemzés:

Fotó: 37. napon (2009. 01. 08.): 1. hullám első termőcsokor.

Nagyszámú primordiumai közül csak kevésből fejlődik termőtest. A termés minősége rossz. A termőtestek henger alakúak, és zömében meggyömbültek. A kalap átmérő azonos a tönk átmérővel (nincs fejlett kalap). A termőtestek lassan fejlődnek, gyorsan száradnak, sárgulnak. A kalap világosbarna, a lemezek alig fejlettek. Tönk meghajlik, henger alakú, lefelé kissé szélesedő.

A törzs termesztési és nemesítési célokra egyaránt alkalmatlan.



Szedési napok: 37., 40., 45. nap.

BE = 37,82%

P = 14,29%

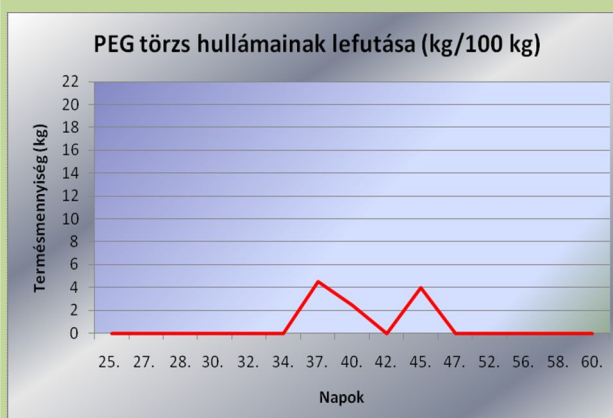
Összes termés:

100 kg-ra vonatkoztatva: 11 kg

Termőtest szám:

100 kg-ra vonatkoztatva: 1500 db

Átlagos termőtest tömeg: 7,3 g



M.2.6. MELLÉLKLET: TAKARÁS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA



M.2.6.1. ábra. A termesztési kísérlet elrendezése az üvegházban.
(fotó: Geösel A.)



M.2.6.2. ábra. Takarásos kísérletsorozat beállítása (kőporos, takaratlan, „hagyományos” takaróanyaggal és takaróanyag-keverékkel takart blokkok).
(fotó: Györfi J.)



M.2.6.3. ábra. PEF törzs képei. (fotó: Györfi J.)



M.2.6.4. ábra. PES törzs fiatal termőtestei. (fotó: Györfi J.)



M.2.6.5. ábra. A borzolt ágyakról fejlődő termőcsokrok (PEF törzs).



M.2.6.6. ábra. PES törzs.



M.2.6.7. ábra. Takarás nélkül fejlődő PEF jelű törzs.



M.2.6.8. ábra. Aszinkron fejlődés csokrokban (PES törzs).

M.2.7. MELLÉLKLET: TERMESZTÉSBEN MEGJELENŐ FONTOSABB MIKOPARAZITA ÉS KOMPETÍTOR TAXONOK



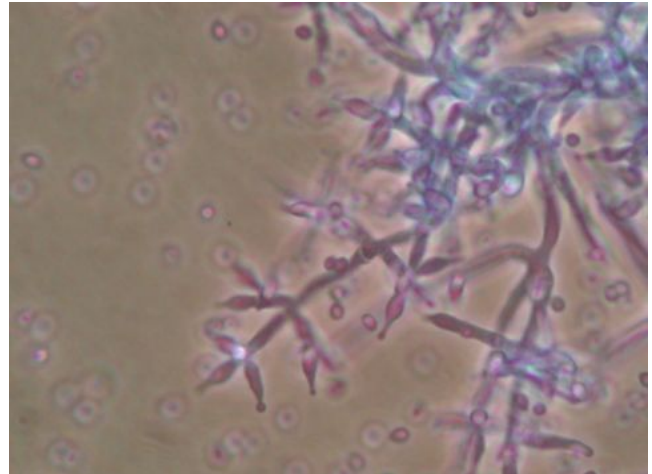
M.2.7.1. ábra. *Pseudomonas* sp. okozta kalapfoltosodások (fotó: Györfi J.).



M.2.7.2. ábra. Baktériumos és penészes fertőzés a szedés után visszamaradó termőtesteken.



M.2.7.3. ábra. *Trichoderma* sp. fertőzés a termőtesten.



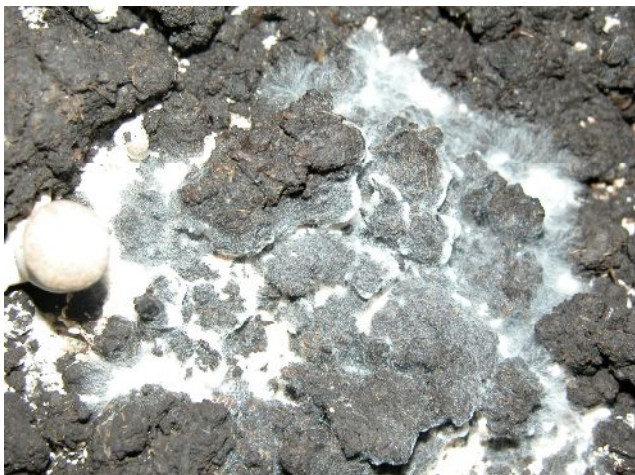
M.2.7.4. ábra. *Trichoderma* sp. mikroszkópos képe.



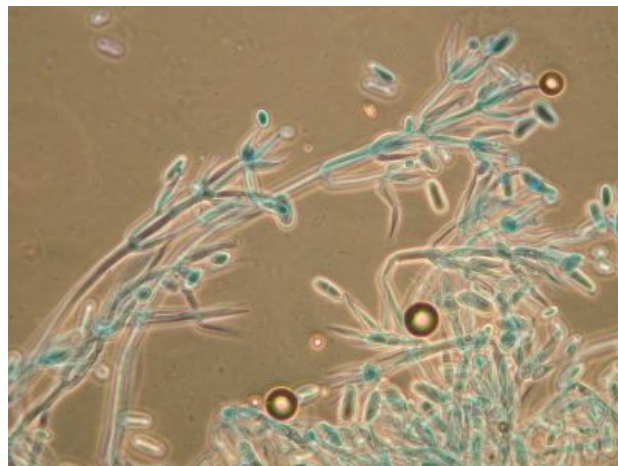
M.2.7.5. ábra. *Penicillium* sp. a termőtesten.



M.2.7.6. ábra. *Penicillium* sp. mikroszkópos képe.



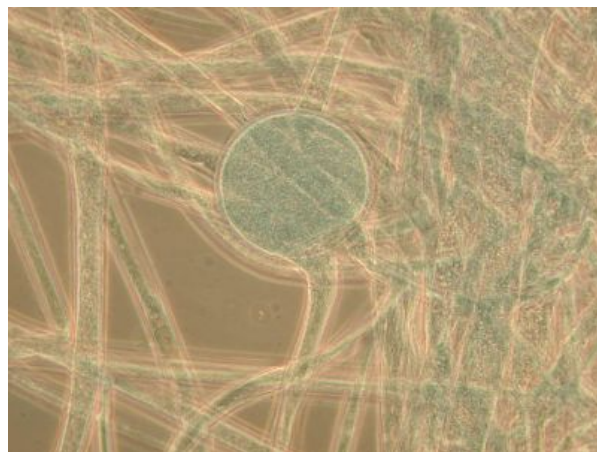
M.2.7.7. ábra. Pókhálós penész (*Dactylium dendroides*) szétterülő micéliuma a takaróanyagon. (fotó: Györfi J.)



M.2.7.8. ábra. *Dactylium* sp. konídiumtartók és szeptált konídiumok.



M.2.7.9. ábra. *Aspergillus* sp. mikroszkópos képe.



M.2.7.10. ábra. Zygomycota, Mucoraceae mikroszkópos képe.

M.2.7.11. OF táptalaj.

Glükóz	10 g;
Pepton	2 g;
NaCl	5 g;
K ₂ HPO ₄	0,3 g;
Br-timolkék 1%-os oldata	3 ml;
Agar	3 g;
dvíz	1000 ml;
pH 7,2	
Steril Widal csőbe 5 ml-ként lefejtve.	
Sterilizálás autoklávban 115 °C 20 perc.	

M.2.7.12. Oxidáz reagens.

Dietil-parafeniléndiamin-HCL	1%-os	vizes
oldata.		

M.2.8. MELLÉKLET: MIKROELEM DÚSULÁS VIZSGÁLATA



M.2.8.1. ábra. Alapanyagok homogén bekeverése.



M.2.8.2. ábra. alapanyag-mennyiség bemérése.



M.2.8.3. ábra. Mikroelemek alapanyagba keverése.



M.2.8.4. ábra. Alapanyag keverése, töltése.



M.2.8.5. ábra. Mintavétel alapanyag-vizsgálatok céljából.



M.2.8.6. ábra. Sterilizált alapanyag oltása tiszta térben.



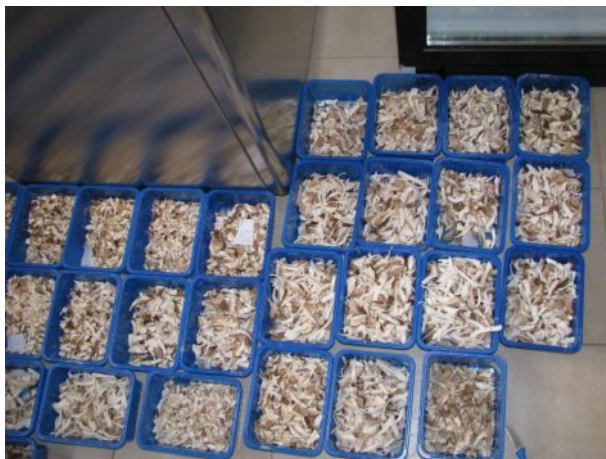
M.2.8.7. ábra. Alapanyagok átszövetése.



M.2.8.8. ábra. Átszövetés tornyokban.



M.2.8.9. ábra. A blokkok üvegházi elrendezése. (fotó: Györfi J.)



M.2.8.10. ábra. A termés darabolás és szárítás után. (fotó: Geösel A.)

M.2.9. MELLÉKLET: KÜLÖNBÖZŐ ÜZEMI SZINTŰ TERMESZTÉSI KÍSÉRLETEINK FOTÓI
(A disszertációban már nem szereplő kis- és félüzemi próbálkozások fotói)



M.2.9.1. ábra. A faj vegetatív micélium-tenyésztete maláta agaron. (fotó: Bujdosó L.)



M.2.9.2. ábra. A faj anyacsírája (inokulumból a növekedési zónáig jelölve). (fotó: Bujdosó L.)



M.2.9.3. ábra. A számos primordium közül csak néhány fejleszt termőtestet.



M.2.9.4. ábra. Fejlődő termőtestek, öntözés után.



M.2.9.5. ábra. termőcsokor takart blokkokon (PES törzs).



M.2.9.6. ábra. Takarás nélkül fejlődő termőcsokor (PEF törzs).



M.2.9.7. ábra. A PEF törzs termőcsokrai.



M.2.9.8. ábra. A PES törzs termőcsokra.



M.2.9.9. ábra. Zsákos termesztés próbálkozásai (PEF törzs).



M.2.9.10. ábra. Zsákos termesztés próbálkozásai (PEF törzs).



M.2.9.11. ábra. Takarás nélküli termesztés, megfelelően klimatizált termesztő házban.



M.2.9.12. ábra. Takarás nélküli termesztés.



M.2.9.13. ábra. Félüzemi szintű termesztési kísérletek takart blokkokon.

Termesztési útmutató az ördögszekér laskagomba (*Pleurotus eryngii*) hazai termesztéséhez

Áttekintés: az ördögszekér laskagomba (*P. eryngii*)

Az ördögszekér laskagomba egyre népszerűbb faj az európai termesztők és fogyasztók körében. Természetes élőhelyéről begyűjtött és termesztett gombával egyaránt találkozhatunk a piacon. Természetvédelmi oldalról, a szezonális megjelenés vonatkozásában, valamint a minőség és a mennyiség tekintetében is mindenképpen célszerű a faj termesztésével foglalkozni. A faj kiváló ízű, megnyerő küllemű és számos fogyasztó sorolja a legízletesebb gombák közé, a *Pleurotus* nemzetségen belül. Termesztési vonatkozások tekintetében vonzó, hogy jó minőséget produkál, kisebb mértékű a spóraszórása, mint a kései laskagombának és az eltarthatósági ideje is hosszú. A gomba könnyen szárítható, és jól rehidratálódik. Szintén megfelelő alapanyaga lehet a feldolgozott gombaipari termékeknek (konzerválás, savanyítás, szárítás stb.). A faj piaci ára relatíve magas, így megfelelő felvevőpiac mellett jövedelmező lehet a termesztése. Hazánkban kezdtünk a faj termesztésével először foglalkozni, azonban ma Japán, Kína, és Európában Olaszország a jelentősebb ördögszekér laskagomba termesztő országok. A faj fogyasztói népszerűsége az USA-ban 2000-től egyre fokozódik.

A termőtestek morfológiai variációi termesztői szemmel

A faj kalapjának színe törzstől és a termesztés klimatikus tényezőitől függően meglehetősen változatos lehet; vörösesbarnától, a szürkésbarnán, szürkén át, a halvány sárgáig. A kalap kezdetben domború, idővel kiterül. A szedésérett termőtestek kalapjának közepe egyes esetekben púpos marad, máskor a kalap tölcséres formájú. A gomba kalapja akár 12 cm átmérőt is elérheti. A felszínén finomabb szálak gyakran megfigyelhetők, de előfordul erőteljesen márványozottnak tűnő kalap is. A kalapszél lehet ép, vagy hullámos, egy vagy több helyen becsípett. A tönk egyes törzseknél közel koncentrikusan, míg más törzseknél féloldalasan helyezkedik el. A lemezei tönkre lefutók, zömében fehérek, de kissé szürkések is lehetnek. A spóraszórás az idősebb termőtestek esetében jelentős lehet, de a kései laskagombához képest redukált. (Termesztés során védőfelszerelésre itt is szükség lehet.) A tönk az esetek többségében tömör, de néha középen egy vékony üreg is megfigyelhető lehet benne (a tömör tönkkel rendelkező törzsek megfelelőek a termesztés számára). A tönk színe fehéres, általában 3-10 cm hosszú, lehet szabályos henger alakú, lefelé szélesedő vagy hasas. Felszínén finom szemcsék, szálak figyelhetők meg. A tönk szintén fogyasztható, azonban léteznek puha, szivacsos és a kemény, rágós szerkezetű tönkkel rendelkező

törzsek egyaránt. A termesztésben gyakori probléma lehet, a kis kalap és nagy, vaskos tönk. Ezt genetikai, élettani és klimatikus hatások egyaránt befolyásolják. A leírtak alapján fontos a termesztésre szánt törzs helyes megválasztása a megfelelő termésmennyiség és minőség elérése céljából. A termesztésre szelektált vad törzsek szaporítóanyagát a csíragyártók faj- és fajtalistájából választhatják ki, és rendelhetik meg.

Fogyasztói preferenciák

A termesztett ördögsekér laskagomba kiskereskedelmi ára országonként jelentősen változik és a *P. eryngii* var. *eryngii* morfológiájának fogyasztói preferenciái nagymértékben eltérnek egymástól. Olaszországban a kicsi és vékony tönk, valamint a sötét széles kalap a leginkább kedvelt. A spanyolországi fogyasztók viszont a világosabb színű kalapot kedvelik. A kínai fogyasztók inkább a szélesebb tönköt és kisebb kalapot részesítik előnyben. Észak-Amerikában, Koreában és Japánban viszont a széles tönkű, és az ugyancsak széles kalapú gombák a gyakrabban keresettebbek. Hazánkban még nem beszélhetünk fogyasztói preferenciákról.

A faj forgalmazása

A friss gombát tálcákba csomagolva vagy fóliában árusítják, de szeletekben szárítva és por formájában is megvásárolható. A kínai termesztők a gombát sós vízben, főtt formában is kereskedelembe bocsájtották, műanyag tasakokban vagy fémdobozokban. A faj jól szárítható és konzerválható, így feldolgozott gombaipari termékként is kiváló étkezési gomba.

Fajta és szaporítóanyag

Jelenleg a termesztés szelektált vad törzseket használ. Egy spóramentes mutáns törzs kivételével, nem folytak tudatos nemesítő munkák termesztési célokra. A faj szaporítóanyaga hazai és külföldi csíragyártó cégektől megrendelhetőek (OKGE, Sylvan Hungaria Kft., Szili István). A szaporítóanyag leggyakrabban szemcsíráként kerül forgalomba elsősorban búza, köles, rozs vagy *Triticale* alapanyagon. A javasolt alapanyag csírázási ráta 3-10% között mozog. A kevésbé dúsított alapanyagokhoz nagyobb mennyiség javasolt (pl. hobby termesztés esetén), míg a dúsított steril alapanyagok esetében elegendő a 3-5% csíramennyiség. Természetesen a csíra emelt mennyiségével rövidíthető az átszövetési idő, de ebben az esetben a szaporítóanyag árával is számolni kell. (Amennyiben a csíra olcsón beszerezhető vagy helyben előállítható, akkor lehetőség van a magasabb csírázási rátával egyben dúsítani is az alapanyagot.)

A termesztés lehetőségei

A faj a természetben elsősorban ernyős virágzatú növényfajokkal együtt fordul elő, mint gyenge parazita vagy fehérkorhasztó gombafaj. Ennek ellenére, a termesztésben a faj nem igényli a természetes környezetében előforduló gazdanövényt, mint alapanyagot, hanem különböző mezőgazdasági és erdészeti melléktermékeken megfelelően termesztethető.

Az alapanyagok hőkezelése szempontjából lehetőség van: száraz hőkezelésre, nedves hőkezelésre és sterilizálásra. Mivel a faj lignocellulóz alapanyagát dúsítani szükséges a megfelelő termésmennyiség elérése érdekében, így a legbiztonságosabb alapanyag előállítás az ún. steril technológiával történik. (Lehetőség van hidrogén-peroxiddal is fertőtleníteni az alapanyagot, azonban ez sem jelent megfelelő védelmet.) Célszerű lenne, a fajra optimalizálni, a Magyarországon elterjedt ún. nedves, illetve száraz hőkezelési technológiákat a szubsztrátum összetételével összhangban.

A hőkezelt termesztési alapanyag-keverék zsákos, blokkos, továbbá üveges, ládás és polipropilén-palackos („üveges”) kiszerelésben kerülhet a termesztésbe. Ázsiában a legnépszerűbb a Marimoto, és Hasewaga által 1928-ban *Flammulina velutipes* fajra kifejlesztett ún. „üveges termesztés” (ami valójában autoklávozható polipropilén palackokba töltött lignocellulóz alapanyagon történő, takarás nélküli termesztést jelent, steril technológiával).

A termesztés történhet *indoor*, *outdoor* és *semi-indoor* módszerekkel, azonban napjainkban a steril alapanyagon, üvegben történő *indoor* termesztés a legbiztonságosabb módszer. Az intenzív termesztésből származó letermett alapanyagot, lehetőség van kültéri ágyásokban elhelyezni, és takarni. Természetesen, ez utóbbi esetben a kórokozók és kártevők is nagyobb veszélyt jelentenek, továbbá a nem kontrollált, természetes környezeti hatások is jelentősen befolyásolják a termőtestek morfológiáját, a termés minőségét és a mennyiségét.

Lehetőség van, a fajt takarás nélkül, és takart formában is termesztetni. A faj takaróanyag nélkül is jelentős mennyiségű termést hoz megfelelően klimatizált helyiségben (legszebb példája ennek a ma legnépszerűbb „üveges” termesztési módszer). A takarás pozitív hatása azonban nem kérdőjelezhető meg a faj esetében. Kezdő termesztők esetében, illetve kevésbé jól klimatizált termesztőházakban a takarás mindenképpen javasolt, minden olyan esetben, ahol nem a kisméretű, szűk szájú üvegekben végezzük a termesztést. A takarás óvja az alapanyagot a kiszáradástól, a ház klimatikus változásait jól tompítja, továbbá részt vesz a gomba ásványos táplálkozásában, vízfelvételében. A termesztés számára legideálisabb és egyben a legegyszerűbben beszerezhető takaróföld, a csiperketermesztésben használt tőzeg alapú takaróanyag. Természetesen e faj termesztésében is fontos szerepe van a takaróanyag kórokozó- és kártevőmentességének. Amennyiben nem fertőtlenített takaróföld érkezik, akkor ezt saját maguknak kell elvégezni

kifőzéssel (60-70 °C-on 3-5 óra) vagy átlapátolás során történő formalinos beöntözéssel. Ez utóbbi esetben a formalintól a takarófelület ki kell szellőztetni.

A termesztési alapanyagok

Alapanyagok

Búzaszalma, tölgy- és bükkfa fűrészpora és forgácsa, kukoricacsutka őrlemény, búzakorpa, kukoricaliszt lehetnek a leggyakoribb összetevői az alapanyag-keveréknek (természetesen ezen kívül más lignocellulóz alapanyagok is szóba kerülhetnek: más növények szalmája, szénája, extrahálás utáni máktokszeccsa, stb.) Nem kizárólag egy alapanyagot használunk, hanem több alapanyag keverékét. A szubsztrátum (alapanyag-keverék) esetében kulcsfontosságú tényezők: nitrogéntartalom (fehérjetartalom), nedvességtartalom, szerkezet, könnyen felvehető szénhidráttartalom, a kémhatás, a szubsztrátum-egység tömege stb.

Dúsítás

A faj kizárólag szecs-kázott búzaszalma alapanyagon is képes teremni, azonban a gomba mennyisége és minősége messze elmarad a kívánttól, így a lignocellulóz alapanyag keveréket mindenképpen célszerű dúsítani (szójaliszt, -granulátum, búzakorpa, búzadara, kukoricadara, maláta, rozs, köles, rizsdara stb.). A dúsítással elsősorban az alapanyag nitrogéntartalmának emelését kívánjuk elérni. A szubsztrátum optimális nitrogéntartalma 1-1,4% között legyen. Sem a túl magas, sem a túlságosan alacsony nitrogéntartalom nem megfelelő. A túl magas nitrogéntartalom kései termésfejlődést, növekedésbeli lassulást idéz elő. A túl alacsony nitrogéntartalom (pl. szalma alapanyag) szintén lassú növekedést, vékony micéliumot, kevés, esetleg torz termést eredményez. Célszerű a rendelkezésre álló alapanyagok nitrogéntartalmát meghatározni és ezekből egy olyan keveréket kidolgozni, amelynek a nitrogéntartalma megfelel a fenti értékeknek (természetesen a keverék nitrogéntartalmát is javasolt ellenőrzésképpen bevizsgálni). A kezdeti kísérletekhez az 1% körüli nitrogéntartalom javasolt, majd higiéniai feltételeknek megfelelően, ezt újabb kísérletben lehet emelni.

A dúsítás problémája:

- A faj nitrogéndúsítás mellett képez megfelelő mennyiségű és minőségű termést, tehát az üzemi szintű termesztéshez dúsított lignocellulóz alapanyag-keverék ajánlott. Amennyiben dúsítást használnak, abban az esetben célszerű a költségesebb steril termesztéstechnológiát választani (alapanyag sterilizése autoklávban), mert ellenkező esetben, a kompetitor és mikoparazita penészek, valamint baktériumok az alapanyagot gyorsan (pl. az átszövetés során) kolonizálhatják, és a gombát megtámadhatják. Tehát a faj optimális körülmények

között dúsított alapanyag-keveréken fejlődik megfelelően, azonban ez kizárhatja a nem steril, de hőkezelt alapanyagok használatát.

- Amennyiben szuboptimális, nitrogénhiányos alapanyagon kívánunk termesztetni, úgy a faj lassabban fog növekedni és teremni az adott alapanyagról, de használhatóak lehetnek a nem steril alapanyag-előállítási eljárások. Az ilyen alacsonyabb nitrogéntartalmú, nem sterilizáló hőkezelésen átesett alapanyagokon a kompetitor és mikoparazita fajok megjelenése is kisebb valószínűséggel történik meg (maximális higiénia mellett).

Adalékanyagok

Az alapanyag-keverékhez javasolt néhány százalék gipszet adagolni.

A szubsztrátum nedvességtartalma

A legmegfelelőbb a 60-65% nedvességtartalom. Ennél magasabb nedvességtartalmú alapanyag esetében a víz kiülhet az alapanyag aljára. Az alapanyagok nedvességtartalmának ismeretében meghatározható, mennyi vizet szükséges a légszáraz keverékhez hozzáadni, hogy a kívánt nedvességtartalommal rendelkezzen a keverék.

A szubsztrátum tömörsége

A szubsztrátum lehet kompaktabb, tömörebb szerkezetű, nem szükséges a kései laskagombához hasonló, lazább alapanyag-szerkezet. Az alapanyag-keverékben gyakran megtalálható nagyobb mennyiségű fűrészpor biztosítja a kompaktabb alapanyag-szerkezetet.

Az alapanyag tömege

Célszerű meghatározni azt az optimális szubsztrátum tömeget, amely fölött lényegesen több termés nem takarítható be. Tapasztalatunk szerint, ez üveges termesztés esetén 1-2 kg, zsákos, blokkos termesztés esetében 3-4 kg.

Az alapanyag kémhatása

Az induló alapanyag kémhatása optimális esetben $\text{pH} = 6-7$ körül mozog (de ennél alacsonyabb kémhatáson is megfelelően fejlődik a micélium). A termesztés végére az alapanyag $\text{pH} = 4-5$ körüli értékre csökkenhet.

Optimális alapanyag összetétel

Az adott hőkezelési módszerhez minden termesztőnek maga kell kidolgoznia a megfelelő összetételű alapanyagot a rendelkezésére álló mezőgazdasági és erdészeti melléktermékek alapján. Az alábbiakban az általam használt hazai alapanyagokból álló szubsztrátum-összetételét adom meg, amelyet steril (zsákos, takart, indoor) technológia esetén sikerrel használtuk:

1. alapanyag: Kísérleti szinten használt alapanyag, százalékos bontásban, légszáraz alapanyagra vonatkoztatva: bükk fűrészpor – 65%; búzakorpa – 16,72%; bükkfa-forgács – 9,3%; gipsz – 3,4%; Promycel-480 szója alapú dúsító – 5,57%. Nedvességtartalom 60-65%. Nitrogéntartalom: 1%.

(Megjegyzendő, hogy félüzemi kísérleteinkben, steril technológia alkalmazásával a sörgyári árpamaláta 10-15 és 20%-os használatával magas termésmennyiségeket sikerült elérnünk.)

A termesztés lehetőségei

1. Termesztés polipropilén palackokban

Áttekintés

A távol-keleti országokban népszerű – más gombafajok esetében is használt - „üveges” termesztési rendszer néhány szempontból előnyösebb, mint a ládás, zsákos termesztés. A polipropilén palackok („üvegek”) autoklávozhatók, újrahasznosíthatók. A szűrőcupakos üvegek az átszövetés alatt gátat képeznek a penészgombákkal, baktériumokkal és ízeltlábúakkal szemben. A termőtestek közel szinkronban fejlődnek, ami szintén fontos előnye ennek a technológiának, de a legnagyobb előnyét mégis a gépesítés lehetősége jelenti. A termesztési rendszer gépesítésével, automatizálásával, megbízhatóan magas minőségű és kiszámítható mennyiségű termés biztosítható a piac számára.

A technológia hátránya induló vállalkozás esetében, a rendkívül magas bekerülési költsége (töltő, tömörítő, fúró és záró gép; autoklávok; automata oltógép; klimatizált termesztőház; ürítő gép; palackmosó gép). Egy másik hátránya az „üveges” rendszernek, a gépek adaptálása, az üvegek megfelelő méretéhez. A magyar termesztők körében más gombafajok termesztésénél sem terjedt el az üveges módszer.

Szubsztrátum összeállítás

Az alap-, dúsító- és adalékanyagokat bemérést követően, egy keverőben (betonkeverőben, üzemi mixerben), kádban vízadagolás mellett, egyenletesen be kell keverni. A faj üveges termesztése esetében az alapanyag 60-65% nedvességtartalommal rendelkezzen, mert a szubsztrátum túlzott nedvességtartalma esetén a szabad víz az üvegek aljára kerülhet, így ez a rész nem szövdik át.

Az üveg töltése és sterilizálása

Termesztésre távol-keleti országokban gyakran használnak kis térfogatú, 1-2 literes (gyakran 1100 ml-es), többször használatos, polipropilén üvegeket. Az alapanyag betöltése történhet manuálisan vagy Ázsiában automatizáltan, töltőgéppel is. (Utóbbi esetben kézi tálcákra 16 üveget helyeznek és a tálca ezekkel együtt kerül a töltőgép alá.) Az üveg betöltését követően az alapanyagot mechanikailag tömöríteni kell, majd ebben kell kialakítani az oltóhelyeket. Ennek érdekében a tömörített alapanyagba 2-3 cm átmérőjű, függőleges lyukakat fúrnak valamilyen eszközzel vagy géppel. A töltött üvegeket ezután filterrel rendelkező fedővel kell lezárni. (A szűrő lehetővé teszi a gázcserét, és meggátolja a baktériumok, penészgombák bekerülését az alapanyagba.) Az üvegeket külön-külön vagy tálcák segítségével autoklávozó kocsikra kell helyezni. A sterilizálás 121 °C-on, 3-4 óráig (vagy magasabb hőmérsékleten rövidebb ideig) történik.

Becsírázás

A sterilizálást, majd az alapanyag-keverék 20-25 °C-ra történő lehűtését követően, nagy tisztaságú térben kell a szubsztrátumot beoltani a gombacsírával. A szaporítóanyag az oltó lyukakba kerül. Az oltás folyamatát lehet gépesíteni, azonban a palackok a kézzel történő oltása is megoldható. Az oltási ráta 4-8% (pontosabban az oltásra kiképezett oltólyuk nagyságától függ a felhasználható csíra mennyisége).

Átszövetés (inkubáció)

Az optimális átszövetési hőmérséklet 25 °C. Az átszövetés ideje függ a törzstől, az alapanyag összetételétől, fizikai, kémiai paraméterétől, a hőmérséklettől és a csírázási rátától. Ez lehet 8-10 naptól 20-25 nap, de átlagosan 12-16 nap (optimálistól eltérő körülmények között akár 28-35 nap). Az átszövetés optimális környezeti igényei: 25 °C-os alapanyag-hőmérséklet, 90-95%-os relatív páratartalom, 5000-20000 ppm CO₂ szint. Az átszövetés során a faj nem igényel fényt.

Kaparás

Az átszövetés végén, a szubsztrátum felszínén légmicélium alakul ki. A fedelek eltávolítását követően, aszeptikus körülmények között gyakran ezt a felszíni réteget - amely magába foglalja a légmicéliumot és a szubsztrátum néhány mm-es felszíni rétegét – lekaparják (japán - „kinaki”, angol - „scratching”). Ennek a célja, hogy elősegítse a termésindukciót és az egyidejű termésfejlődést. A kapart felszín tiszta vízzel történő finom permetezése szintén elősegítheti a termőrefordulást. (Megjegyzés: Az üveges termesztés esetén nem alkalmazunk takarást.)

Érlelés és termésindukció

Ez az időszak az átszövetéstől a termőtest-kezdemények megjelenéséig tart. Időtartama 4-5 nap. A kaparást követően az üvegeket célszerű perforált fóliával fedni, ugyanis a kisméretű alapanyagok könnyen kiszáradhatnak. Az érlelés és termésindukció optimális környezeti igényei: hőmérséklet 10-15 °C, relatív páratartalom 95-100%, CO₂ szint 500-1000 ppm, fény 500-1000 lux. Miután az üvegben megjelennek a primordiumok, a perforált fólia teljesen eltávolítható.

Termésfejlődés

Ebben a termesztési szakaszban számos „tűfej” alakul ki a szubsztrátum felszínén, de átlagosan csak 3-4 fejlődik értékesíthető termőtestté. A termésfejlődés szakaszában a következő környezeti feltételeket kell biztosítani: hőmérséklet 15-21 °C, relatív páratartalom 85-90%, CO₂ szint 500-1500 ppm, fény 500-1000 lux.

Szedés

A gombák megközelítőleg 13-16 nappal a kaparás után szedhetők. A gombákat azelőtt kell betakarítani, mielőtt a kalapjuk ellapulna, pereme kiterülne és megindulna az intenzív spóraszórás. A termesztőhelyiségben az „üvegek” tálcákban vannak (16 üveg/ tálca) elhelyezve. Távol-Keleten szedés előtt az üvegeket tartalmazó tálcákat gyakran futószalagra helyezik, és a szedés helyére szállítják. A szedők csavaró mozdulattal távolítják el a termőcsokrot és ládába helyezik. A termőtesteket 10 °C-on előhűtik, majd 1-3 °C-on tárolják. Az üzemi szintű PP-palackos termesztés esetén a biológiai hatékonyság átlagosan 70% körül mozog. Egyes termőtestek, akár 150 grammok is lehetnek kifejlődött állapotban. Az „üveges” módszer használatával egy termőhullámot takarítanak be.

Ürités

Az üvegeket a termés eltávolítását követően ürítik ki, és mossák el. Ma már kifejlesztettek automatizált szubsztrátum eltávolító gépeket, amelyek föllazítják a letermett alapanyagot és kiöntik. Az eltávolított letermett szubsztrátum kisebb részét új alapanyag-keverék előállításánál föl lehet használni. Lehetőség van továbbá komposztálására, talajba keverésére, vagy környezetvédelmi célú felhasználására.

2. Zsákos termesztési módszer

Különböző kapacitású filterekkel rendelkező (0,5-3,0 kg, maximum 5 kg), elsősorban polipropilén zsákokat kell beszerezni (pl. Mycelia, Belgium). A zsákokat körülbelül a kapacitásuk háromnegyed részéig kell az alapanyaggal megtölteni. A betöltött alapanyagot sterilizálni (1,5 - 3 óra, 121 °C), majd ezt követően egy éjszakán át hűteni szükséges. A 28 °C alá hűlt zsákokat be kell oltani a gombacsírával. A zsákokat nagy tisztaságú térben kell beoltani, zárni és homogenizálni. Az átszövetés átlagos ideje 15-25 napig terjed 23-25 °C-os hőmérsékleten. Ezt követően a hőmérsékletet lecsökkentik 10-18 °C-ra, primordium indukció céljából. A zsákokat a primordiumok kialakulását követően kinyitják, majd ezt követően fokozatosan fejlődnek ki a termőtestek. Az érett gombák a tűfej-képződést követően 6-7. napon belül kifejlődnek. Általában csak az első termőhullámot várják meg a termesztők, mielőtt a szubsztrátumot kitermelik.

3. Takarásos termesztési módszer

A klimatikusan kevésbé kontrollált termesztési környezetben, a szubsztrátum vízvesztésének csökkentésének megakadályozására célszerű takarást végezni. A magas nedvességtartalmú takaróföld véd a kiszáradás ellen, csökkenti a vízvesztést. A szubsztrátumba történő utólagos vízpótlás már nem lehetséges. A szubsztrátumot blokkokba tömörítik, autoklávozható fóliában vagy zsákban sterilizálják (1,5-3 óra 121 °C-on) vagy pasztörizálják. A csírázás a blokkok minden részén történő beoltásával valósul meg, hegyes átszövetett fapálcikával (plug), vagy szemcsírával, majd a zsákokat lezárják. Miután a szubsztrát átszövetése megvalósult, a takaró réteget 1,5-3 cm vastagságban rá kell rétegezni a szubsztrátumra. Lehetőség van különböző takaróanyagok használatára (tőzeg, homok, talaj stb.) Ezzel a módszerrel akár 3 terméshullám is nyerhető. A takarás termésmennyiségre gyakorolt pozitív hatása egyértelműen igazolt.

4. Outdoor termesztési módszer

A módszert főként Olaszországban alkalmazzák. A táptalajt tartalmazó műanyag zsákokat pasztörizálják, beoltják, majd indoor inkubálják. Miután a szubsztrátumban az átszövetés teljesen végbemegy, a műanyag zsákokat eltávolítják, és a táptalajt egy, a szabadban kialakított árokban helyezik el, majd bevonják a szabadban lévő talajjal. Az ágyak köré, védelem céljából fémszerkezetre erősített árnyékolókat építenek. Az öntözést időszakosan hajtják végre. Annak ellenére, hogy a *P. eryngii* fejlődése ilyen körülmények között követi a szezonális megjelenést, az *outdoor* termesztési idő elnyújtható a megfelelő klímájú helyekre történő telepítéssel. Az *outdoor* termesztési módszer használható arra, hogy a zsákos termesztésből kitelepített blokkokat így helyezzük el és még további terméshez jussunk.

A *P. eryngii* var. *eryngii* összes termesztési módszeréhez a következő klimatikus feltételeket kell irányadónak tekinteni:

	Hőmérséklet (°C)	Páratartalom RH (%)	CO ₂ (ppm)	Fényigény (lux)
Átszövetés	24-26	90 – 95	5000 – 20000	-
Primordium indukció	10 – 15	95 – 100	500 – 1000	500 – 1000
Termőtest fejlődés	15 -21	85 - 90	500-1500	500 – 1000

Kártevők, tünetek

A dúsított alapanyag használata speciális kockázatot rejt magában, ugyanis ez a szubsztrátum nem szelektív az ördögszekér laskagomba számára. Ennek megfelelően versengő penészgombák, vagy baktériumok képesek megtelepedni benne.

A termőtesteken a magas relatív páratartalom esetén megjelenik a *Pseudomonas*-os, baktériumos kalapfoltosodás. A kalapokon sötét, nedves, zsíros tapintású foltok láthatóak.

A termőtesteken megfigyelhetők a zöldpenészek, mint a *Trichoderma*-fajok, *Penicillium*-fajok és takarásos termesztés esetén a pókhálós penész (*Dactylium* sp.). Az alapanyagon számos versengő penészgomba telepedhet meg, a leggyakoribbak: *Penicillium*-, *Aspergillus*- és *Mucor*-fajok.

Kártevők közül a „gombalegyek”, „gombaszúnyogok”, és más kétszárnyúak lárvái és imágói okozhatnak problémát, elsősorban rágásukkal, és mint vektorok. A penészes alapanyagokon és a termőtesteken megjelenhetnek atkák is.

Kilátások

Az ördögszekér laskagomba Európában és az Amerikai Egyesült Államokban még ma sem kellően ismert faj, annak ellenére, hogy 1997-óta fokozatosan nyeri meg a termesztőket és a fogyasztókat. Jelenleg mindkét kontinensre főként Kínából, és Koreából importálják a gombát. Szakácsok, akik kipróbálták a fajt, kiválóra értékelték ízéért, megjelenéséért és tárolhatósági idejéért. Számítani lehet arra, hogy a jövőben termesztőink körében, élelmiszerboltokban, éttermekben egyre gyakrabban lehet majd találkozni az ördögszekér laskagombával.

Sikeres termesztést kívánunk!

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

1999-től a Quality Champignons Kft-nél kaptam lehetőséget arra, hogy részletes szakmai ismereteket szerezzek a gombatermesztés teljes vertikumáról. A kft-nél eltöltött közel tíz éves gyakorlati tapasztalat eredményeként széleskörű rálátást szerezhettem a kertészettudomány ezen roppant nehéz, de nagyon szép területére. Ezt a lehetőséget hálásan köszönöm Rácz József ügyvezető igazgató úrnak, aki az előrelépés és a szakmai fejlődés minden lehetőségét megadta a számomra. Nagyon köszönöm volt munkatársaim segítségét, biztatását, támogatását, akik közül külön szeretnék köszönetet mondani dr. Hajdú Csabának, Vastagné Csorba Máriának, Huiet Irénkének, Magyar Zsófiának, Villás Gergelynek, Bujdosó Lászlónak, és Szabó Tamásnak.

Nagyon köszönöm dr. Terbe István tanszékvezető úrnak a támogatását, bizalmát és a lehetőséget, hogy a Budapesti Corvinus Egyetem Zöldség- és Gombatermesztési Tanszékén lehettem Ph.D. hallgató. Hálásan köszönöm konzulensemnek, dr. Győrfi Júliának, hogy már a gyakorlati évek során is arra biztatott, hogy a sok közös munkának a folyamányaként doktori képzésben vegyek részt. Köszönöm az évek során nyújtott támogatását, segítségét. Nagyon hálás vagyok dr. Lukács Noémi professzor asszonynak és dr. Halász Krisztiánnak (BCE, Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszék) a dsRNS munkában nyújtott önzetlen segítségéért. Köszönettel tartozom dr. Varga Jánosnak (Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológia Tanszék) a RAPD eredmények feldolgozásában, és a neighbor-joining fa szerkesztésében nyújtott segítségéért. Hálás vagyok Boncsér Erzsébetnek, a Doktori Iskola tudományos ügyintézőjének, hogy az iskola zűrzavaros útvesztőjében segített kiigazodni, és véget nem érő kérdéseimmel mindig fordulhattam hozzá.

Köszönöm jelenlegi munkahelyemen, az Eszterházy Károly Főiskolán dr. Kiss Attila (Élelmiszerkémiai és Biokémiai Tanszék) és dr. Naár Zoltán (Mikrobiológia és Élelmiszertechnológia Tanszék) tanszékvezető uraknak a támogatását, hogy folytathattam a kutatási témámat. Nagyon köszönöm kollégáimnak, Hilyákné Kadlott Máriának a sok-sok segítségét, türelmét és támogatását. Szintén köszönöm Szén Orsolya, Fejes Zsuzsanna és Prónay Judit kolléganőimnek a szakmai feladatokban nyújtott önzetlen segítségét.

A doktori iskola ideje alatt két kiváló barátra is szert tettem, akik nagy szakmai tudásuk és szerénységük mellett mindig önzetlen, szakmai és baráti segítséget nyújtottak a számomra. Nagyon köszönöm dr. Pál Károly (EKF, Mikrobiológia és Élelmiszertechnológia Tanszék) és Geösel András (BCE, Zöldség- és Gombatermesztési Tanszék) barátaimnak, hogy bármikor fordulhattam hozzájuk kérdéseimmel, problémáimmal. Nagyon köszönöm továbbá Szabó Annának a támogatását, a doktori iskola éve alatt nyújtott önzetlen segítségét.

Köszönöm a szakdolgozó hallgatóimnak, Soltész Beátának és Kovács Lajosnak, hogy munkájuk egy-egy kis szegmensével hozzájárultak a dolgozat elkészüléséhez.

Végül, de nem utolsó sorban hálásan köszönöm édesanyámnak, feleségemnek és két pici gyermekemnek, Eszternek és Máténak a támogatását, türelmét, mert ez nélkülük nem sikerülhetett volna. Köszönöm feleségemnek, hogy erőn felül segített a munkámban és a nehézségek ellenére, együtt mindent meg tudtunk oldani.

A kutatómunkában szereplő elemvizsgálattal kapcsolatos termesztést, a mintaelőkészítéseket, valamint az alábbiakban szereplő publikációk megjelentetését a TÁMOP 4.2.1/B-09/1/KMR/-2010-0005 jelű pályázat támogatta.

Szarvas, J., Naár, Z., Geösel, A., Györfi J. (2010): *In vitro* investigation of King Oyster Mushroom [*Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quél.] strains in vegetative growing phases. *International Journal of Horticultural Science*, 16 (2): 47-53.

Szarvas, J., Geösel, A., Pál, K., Naár, Z., Györfi, J. (2011): Comparative studies of the cultivable king oyster mushroom [*Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quél.] isolates by RAPD-PCR method. *Acta Alimentaria*, 40 (Suppl.), 214-221.

Kutatóhelyek:

A laboratóriumi vizsgálatok kutatóhelyei: Quality Champignons Kft. Fajtakutató Laboratórium, Molekuláris Biológiai Laboratórium és Gombacsíra Üzem; Eszterházy Károly Főiskola, Élelmiszerkémiai és Biokémiai Tanszék; Eszterházy Károly Főiskola, Mikrobiológiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék; Budapesti Corvinus Egyetem, Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszék.

Termesztési kísérletek lebonyolításának helyszínei: Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Karának üvegháza; Quality Champignons Kft. Fajtakísérleti Központ.