

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI



Szarvas József

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

BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM

Kertészettudományi Kar

Zöldség- és Gombatermesztési Tanszék

Budapest

2011

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: *Dr. Tóth Magdolna*
egyetemi tanár, DSc.
Budapesti Corvinus Egyetem,
Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

témavezető: *Dr. Győrfi Júlia*
habilitált egyetemi docens, PhD.
Budapesti Corvinus Egyetem,
Kertészettudományi Kar,
Zöldség- és Gombatermesztési Tanszék

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

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
Témavezető jóváhagyása

BEVEZETÉS

A kétspórás csiperkegomba [*Agaricus bisporus* (J.E. Lange)], kései laskagomba [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.] és a japán fagomba [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] csak szűk keresztmetszetét képviselik a termesztésbe vonható gombafajoknak. Mindenképpen szükségesnek tartom azonban az egyéb termeszthető gombafajok mélyrehatóbb megismerését, a termesztésbe vonás lehetőségeinek feltérképezését, a már kialakított termesztéstechnológia tökéletesítését, és a termesztés hazai lehetőségekre történő adaptálását. A munka során egy perspektivikus gombafajjal, az ördögsekér laskagombával [*Pleurotus eryngii* (DC.:Fr.) Quél.] folytattam kísérleteimet, amelyet az egyik legjobb ízű étkezési gombának tartanak, és emellett olyan előnyös tulajdonságokkal is rendelkezik, mint a viszonylag hosszú eltarthatósági idő, a relatíve kismértékű spóraszórás és a magasabb piaci ár stb.

A faj természetes élőhelyén fakultatív biotrófként, elsősorban az *Apiaceae* növény család bizonyos fajaival együtt jelenik meg. A növények gyökerén és szárán, mint gyenge parazita, illetve később, mint szaprobionta, fehérkorhasztó gomba fordul elő. Lényeges azonban, hogy az intenzív termesztés során nem igényli ezeknek a növényi alapanyagoknak a jelenlétét. A *P. eryngii* faj taxonómiai vonatkozásai kapcsán elmondható, hogy számos ellentmondás van a faj, pontosabban az ernyős virágzatú növények társaságában megjelenő *P. eryngii* fajkomplex populációinak taxonómiailag helyes megítélésében.

Napjainkban a világ termesztői és fogyasztói köreiben egyre népszerűbb az ördögsekér laskagomba. A világban mutatkozó fokozódó érdeklődés ellenére, néhány hazai hobbi és félüzemi próbálkozástól eltekintve, sajnos még nem beszélhetünk üzemi szinten folyó ördögsekér laskagomba termesztésről. A munkával egyrészt az alap kutatási, másrészt pedig a gombaipar gyakorlati vonatkozásaihoz kapcsolódóan szerettem volna új eredményeket elérni. Célom főként a hazai termesztők érdeklődésének felkeltése, és részükre a disszertációmban egy összefoglaló termesztési útmutató összeállítása volt.

A disszertációt tartalmi szempontból három részre kívántam 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 vizsgáltam, hogy segítsem a termesztési gyakorlatot. A harmadik tartalmi részben a faj beltartalmi értékeinek fokozási lehetőségeit kívántam megvizsgálni. Mindezek mellett szerettem volna megismerni a termesztési alapanyag és a termőtestek ásványi elem összefüggéseit, valamint a takarásnak az ásványos táplálkozásban és vízforgalomban betöltött szerepét.

CÉLKITŰZÉS

- 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 is, 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.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Elterjedés, élőhely és „gazdanövénykör”

Az ertyős virágzatúakkal asszociáltan megjelenő *Pleurotus*-fajokkal az északi félgömbön a 30. és 50. szélességi fok között találkozhatunk (ZERVAKIS & BALIS, 1996). Ezek a fajok elsősorban a Földközi-tenger szubtrópusi régióiban találhatóak meg, de föllelhetők Közép-Európában, Oroszországban, Ukrajnában, Közép-Ázsiában és Iránban. Előfordul sztyeppéken, száraz mezőkön, sőt akár a hegyvidéki zónákban is. A *P. eryngii* fajkomplex egyedülálló a nemzetségen belül, mert fakultatív biotrófként növekedik számos *Apiaceae* (*Umbelliferae*) család faján (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 (ZERVAKIS & BALIS, 1996, ZADRAZIL, 1974, LEWINSOHN et al., 2002, ZERVAKIS et al., 2001a,b; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

Taxonómia

A *P. eryngii* (De Candolle ex Fries) Quelet *sensu lato* taxonhoz kapcsolódó, bizonytalan taxonómiai minősítésű csoportok miatt bevezették az ún. „fajkomplex” koncepciót (ZERVAKIS et al., 2001a; BAO et al., 2004; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008).

A *P. eryngii* fajkomplexum több változatot és fajt foglal magába, amelyek 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).

Molekuláris biológiai vizsgálatok

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 gyakran a megoldást a nukleinsavak vizsgálatában látják. A gombák között legismertebb, leggyakrabban vizsgált régió a riboszómális génszterben található internal transcribed spacer (ITS) 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., 2007; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008; RODRIGUEZ ESTRADA & ROYSE, 2008; RODRIGUEZ ESTRADA et al., 2010).

A transláció elongációs faktor (EF1 α) és az RNS-polimeráz II második legnagyobb alegységét kódoló (*rpb2*) gének 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; RO et al., 2007; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008; RODRIGUEZ ESTRADA et al., 2010). A transláció elongációs faktor (EF1 α) egy kötő fehérje, amely riboszomális fehérjeszintézishez szükséges az eukarióta sejtekben. MARONGIU és munkatársai (2005) arról számoltak be, hogy az EF1 α génje (*tef1*) nukleotid szubsztitúciókat tartalmaz, melyek hasznosak lehetnek az *eryngii* és *ferulae* két változatának elkülönítésében.

Az RNS-polimeráz II második legnagyobb alegységének génje (*rpb2*) 12 erősen konzervált doménnel rendelkezik, melyek megfelelő primer feltapadási helyek lehetnek PCR során. Az *rpb2* gént (más genomi régiókkal) *Cortinarius* és *Inocybe* genus-ok fajainak identifikációjában is használták (FROSLEV et al., 2005; MATHENY, 2005). A munkám során, a saját izolátumainkon e két lókuszt szekvenciájának polimorfizmusait kívántam megvizsgálni a saját *P. eryngii* izolátumok vonatkozásában.

Mikovírusok

A mikovírusok többsége dsRNS örökítőanyaggal rendelkezik (GHABRIAL, 1998; GHABRIAL & SUZUKI, 2009), és jellemző rájuk, hogy hiányzik az extracelluláris fertőzési út, elsősorban hifaasztomózisokkal terjednek. A termesztett gombák esetében a mikovírusok komoly termésvesztést okozhatnak, így vizsgálatukra számos módszer létezik (EM, elektroforézis, ELISA stb.). A vizsgálati módszerek között egy érzékeny és specifikus immunoblot módszer használatáról is beszámoltak (GEÖSEL et al. 2008). Munkám során ez utóbbi módszerrel próbáltam képet kapni arról, hogy izolátumaink között mutatkozó jelentős különbségek háttérben állhatnak-e dsRNS mikovírusok.

Termesztés

A faj termesztésével kapcsolatos első kísérletek az 1950-es években Magyarországon kezdődtek meg (KALMÁR, 1960; SZILI & VÉSSEY, 1980; SZILI, 1994). Ma a termesztési lehetőségeket többféleképpen csoportosíthatjuk;

termesztés helye alapján: indoor, outdoor, semi-indoor; az alapanyag kiszerezése alapján: zsákos, blokkos, üveges, ládás; az alapanyag hőkezelése alapján: sterilizálás, száraz hőkezelés, nedves hőkezelés; takarás vonatkozásában: takarás nélkül és takart alapanyagon történő termesztés (RODRIGUEZ ESTRADA & ROYSE, 2005; RODRIGUEZ ESTRADA, 2008). Ezek kombinációjával több termesztési módszer kidolgozására van lehetőség, azonban hazánkban a nedves hőkezelésre adaptált biztonságos termesztéstechnológiának lenne létjogosultsága. Alapanyagok vonatkozásában mezőgazdasági és erdészeti melléktermékekből származó lignocellulóz alapanyagok jöhetnek számításba, azonban az optimális biológiai hatékonyság (BE, %) elérése érdekében szükséges az alapanyagok dúsítása.

Fémek dúsulása, akkumulációja

Bizonyos gombafajok meghatározott ásványi elemeket képesek felhalmozni vagy akkumulálni (vegetatív micéliumban és termőtesteikben). Amennyiben ez humán táplálkozási szempontból esszenciális elem, mikroelem, abban az esetben termesztői szinten lehetőség van a gomba beltartalmi értékeinek fokozására az alapanyagba juttatott elemek révén.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Gyűjtés

Novaj, Eger Felnémet-Pásztorvölgy, Bogács, Tószeg, Kecskemét és Heves körzet füves területeiről termőtesteket gyűjtöttünk be. Az izolátumok tiszta tenyészeit álszövetleoltással vagy spórafelvétel révén alakítottam ki. A fenntartást papálcikán, perlites anyagkeveréken és folyékony nitrogénben végeztem el.

Izolátumok rokonsági kapcsolatainak vizsgálata RAPD módszerrel

DNS izoláláshoz SHURE és munkatársai (1983) által közölt protokoll, általunk gombára optimalizált, változatát alkalmaztam. A RAPD vizsgálatok során OpA és OpB primersorozatot (Operon Technologies) használtam. A RAPD ujjlenyomatok eredményei alapján végeztem el a primerek szelekcióját. A sávok előfordulását vagy hiányát binárisan kódoltam. A primerenként összeállított binárisan kódolt mátrixból a távolságmátrixot a PHYLTOOLS segítségével készítettem el Nei-Li koefficienst alkalmazva. A mátrixból a PHYLIP program csomag NEIGHBOR programjával készítettem neighbor-joining fát (FELSENSTEIN, 1995; NEI & LI, 1979).

A *tefla* és *rpb2* lókuszok részleges szekvenenciaanalízise

A *tefla* és *rpb2* gének részleges szekvenenciaanalízisét végeztem el a változatok elkülönítése és polimorfizmusok keresése céljából. Mindkét régiót PCR módszerrel amplifikáltam. Az amplikonokat tisztítottam és szekvenáltam. ClustalX program segítségével végeztem el a szekvenciák illesztését. A nukleotid eltéréseket BoxShade programmal tettem láthatóvá, értelmezhetővé. Elvégeztem a szekvenciák BLAST keresését az NCBI adatbankjában (GenBank). Az *rpb2* szekvenencia-adatok ismeretében kerestem a PCR-RFLP alapján történő differenciálás lehetőségét a törzsek között.

dsRNS mikovírusok keresése

Tizenhat törzs nukleinsav kivonásaihoz a növényi nukleinsav kivonatok készítéséhez általánosan használt protokoll (LUKÁCS, 1994) átdolgozott változatát alkalmaztam. A nukleinsavakat 5%-os nem denaturáló PAGE segítségével választottam el. A blotolást Semi-Dry (BioRad) készülékkel végeztem Zeta Probe (BioRad) membrán alkalmazásával. A membránt dsRNS-specifikus J2 monoklonális ellenanyaggal, majd „Goat Anti Mouse IgG (H+L)” (Jackson

Immunoresearch, USA) alkalikus foszfatázzal konjugált másodlagos ellenanyaggal inkubáltam. Az immunoblot előhívásához BCIP-NBT oldatot használtam.

Vegetatív micélium-növekedési tesztek

A kísérletben agar-lemezeken *in vitro* vizsgáltam a 15 törzs növekedését különböző hőmérsékleten (5-35 °C-on, öt fokos lépcsőnként), kémhatáson (pH=4-9 közötti értékeken, 0,5-es lépésekben), fényben és sötétben inkubálva, levegőn és oxigéntől elzárta, valamint változó ozmotikum koncentráció (NaCl: 1%, 2%, 3%, 4%, 5% és glükóz: 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 17,5%) mellett.

Törzs-összehasonlító termesztési vizsgálatok

Tizenhat törzs szemcsírájával a következő összetételű, steril alapanyagot oltottam be (légszáraz alapanyagra vonatkoztatva): bükk fűrészpor 65%; búzakorpa 17%; bükkfa-forgács 9%; gipsz 3,5%; szója dúsító (Promycel 480) 5,5%. A keverék nedvességtartalma 60% volt. A 25 °C-os átszövetést követően, 10 °C-ra helyeztem a zsákokat, majd takartam tőzeges takarófolddal 3 cm vastagságban, végül fátyolfóliával fedtem. A primordiumok megjelenését követően, eltávolítottam a fóliát. A termőidőszakban a hőmérsékletet 15-20 °C-ra emeltem, a CO₂ szintet 800 ppm-re csökkentettem, a relatív páratartalmat 90-95% közötti értéken tartottam. Permetezéssel naponta nedvesítettem a termőfelszínt, padozatot és a falakat.

A termesztés végén törzsenként meghatároztam a 100 kg szubsztrátumra vonatkoztatott átlagos termésmennyiséget, termőtest-számot, termőtest-tömeget, szedési napokat, a biológiai hatékonyságot (BE = a friss gomba tömegének (FGT) és a száraz alapanyag tömegének (ST) a hányadosa × 100) és a produktivitást (P = a friss gomba tömege (FGT) és a szubsztrátum friss tömegének (SFT) hányadosa × 100) (STAMETS, 2000; ANDRADE et al., 2007). A törzsekről fejlődési stádiumonként fotódokumentációt és szöveges leírást készítettem a legfontosabb jellemzőik figyelembevételével.

Meghatároztam a törzsek kiindulási és letermett alapanyagainak a szárazanyag-tartalmát és nitrogéntartalmát, majd három kérdésre kerestem a választ: a) Összefügg-e a szubsztrátum száraz tömegének vesztesége a termésmennyiséggel? b) Megfigyelhető-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 végeztem, amelyhez SPSS 15 programot használtam.

Takarásra vonatkozó természetstechnológiai fejlesztések

A kísérletek során választ kerestem arra, hogy sterilizált szubsztrátumon milyen hozam és termésminőség nyerhető, ha a fajt takarás nélkül termeszttem, vagy különböző takaróanyagokat, takaróanyag-keverékeket különböző rétegvastagságban alkalmazok.

Az átszövetett dúsított lignocellulóz alapanyag-blokkokat takartam tőzeg alapú takaróanyag-keverékkel, kőporral, valamint tőzeges takaró föld és kőpor 1:1 arányú keverékével. Kontrollként takaratlan blokkokat használtam. A takarás vastagsága 1, 2 és 3 cm volt. Vizsgáltam a termés mennyiségét, a termőhullámok alakulását.

Elemdúsulás vizsgálata a termőtestekben

A vizsgálatok során 50, 150, 300 és 600 ppm elemmennyiséget tartalmazó szubsztrátumokat állítottam össze, a humán táplálkozás szempontjából esszenciálisnak számító három elem, a cink, a mangán és a szelén vegyületeinek segítségével. A PES törzs termesztését követő első hullámból származó termőtesteket daraboltam, szárítottam, porítottam, majd salétromsavas roncsolásnak vettem alá. Az elemek mennyiségi meghatározását ICP-MS (Perkin Elmer Elan DRC II.) műszerrel végeztem. Meghatároztam a fémek dúsulásának a mértékét a faj termőtesteiben, a szubsztrátumba juttatott mennyiségek függvényében. EMF („*factor of element mobilization*”) értékeket (EMF = a gomba

elemtartalma a kísérleti kezelésből / a gomba elemtartalma a kontroll kezelésből) és EMF* értékeket ($EMF^* = \frac{\text{a gomba elemtartalma az adott kezelésből}}{\text{a gomba elemtartalma a megelőző kezelésből}}$) határoztam meg a dúsulás vagy akkumuláció számszerűsítésére (RÁCZ et al., 1996; RÁCZ & OLDAL, 2000).

A szubsztrátum minőségének hatása a gomba beltartalmi értékeire

A faj a lignocellulóz alapanyag-keverék felszínéről is képes termőtesteket képezni, azaz takarás nélkül is termeszthető. Ettől függetlenül egyértelműen látszik a takarás termésmennyiségre gyakorolt pozitív hatása. A faj esetében, még ma sem ismerjük pontosan, hogy a takarásnak mi a pontos szerepe. Egyesek szerint a hatása a szubsztrátum kiszáradásának megakadályozása, továbbá a termesztőház környezeti szélsőségeinek tompítása. Annak ellenére, hogy a szubsztrátum felszínéről szabadon is fejlődhetnek a termőtestek, nem szűkíthető le a takaró föld szerepe pusztán fenti magyarázatokra. Véleményem szerint a takaró földnek szerepe lehet az ásványos táplálkozásban és a vízfelvételben egyaránt.

Vizsgálataim során abból indultam ki, hogy amennyiben a takart blokkról származó termőtestekben magasabb az elemek mennyisége, akkor a takaró földnek szerepe van a faj ásványos táplálkozásában is. Mivel az ásványos táplálkozás vízfelvétellel párosul, úgy ez egyben igazolná a takaró föld vízforgalomban betöltött szerepét is. Ezek mellett fogyasztói és termesztői szempontból sem közömbös, ha a gomba magasabb beltartalmi értékkel rendelkezik.

A kísérletben a PES jelű törzset használtam föl. A vizsgálat során három alapanyagból származó termőtestek elemtartalmát vizsgáltam: 1. *szubsztrátum*: sterilizált szecskázott szalma alapanyag; 2. *szubsztrátum*: fűrészpor forgács keverék 37,6%; szalma 11,28%; főzött rozs 48,9%; gipsz 2,25%, takarás nélkül; 3. *szubsztrátum*: a 2. alapanyag-keverékkel megegyezik, azonban átszövetést követően 3 cm vastagságban takartam tözeges takaró földdel. Az elemvizsgálatokat az előző pontban foglaltaknak megfelelően végeztem el, továbbá meghatároztam a termőtestek nyershamu és nyersfehérje-tartalmát is.

Kórokozó és kompetítor szervezetek regisztrálása

A munka során izoláltam azokat a szervezeteket (baktériumok, mikoparazita és kompetítor penészek), amelyekkel a disszertációban szereplő kísérleteimben találkoztam. Ezeket az alapanyagról és a termőtestekről izoláltuk és zömében nemzetség szinten identifikáltam.

EREDMÉNYEK

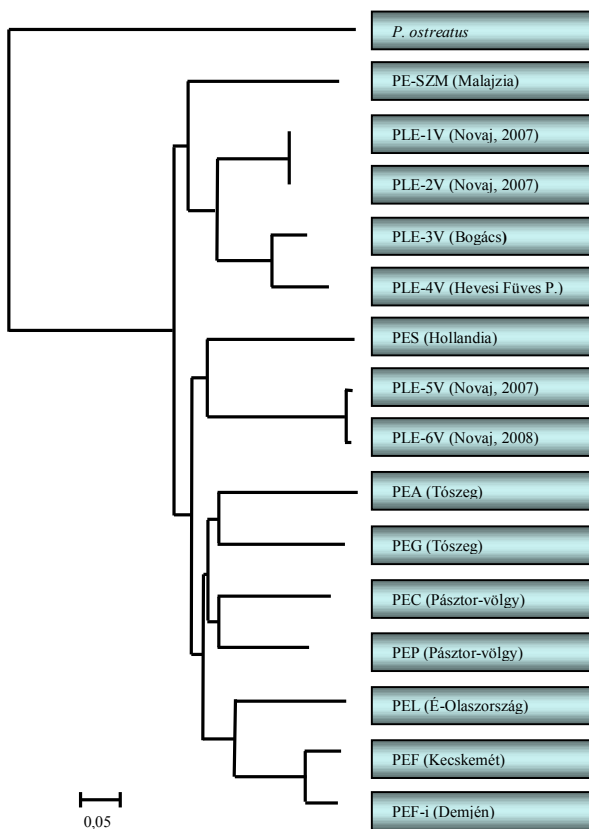
Izolálások eredményei

A gyűjtések eredményeképpen hazai területekről 12 db *P. eryngii* törzset tudtam izolálni, és további három tenyészet törzsgyűjteményi anyagból állt rendelkezésre. Utóbbiak származása: Hollandia, Malajzia és Észak-Olaszország. A törzsfenntartási módszerek közül a krioprezerváció, valamint a perlites törzsfenntartás jól használható, azonban a pálcikás törzsfenntartás kevésbé, mivel a törzsek jelentős részének a növekedése leállt a faanyagon.

RAPD vizsgálat eredményei

RAPD reakciókat követően hat olyan primert (OpA 05, OpA 07, OpA 10, OpA 13, OpA 18, OpB 10) választottam ki, amelyekkel a törzsek relatíve jól detektálható és értékelhető, ugyanakkor több törzs esetében megfelelő differenciáló mintázatot adtak. 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 izoláltam. 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 valószínűleg két egymást követő évben gyűjtöttem be ugyanazon területről. Egyes primerek törzsre jellemző mintázatot adtak, így adott törzs jellemzésére is alkalmasak lehetnek. Ezeket az eredményeket a jövőben hasznosíthatják a nemesítők, csiragyártók törzsvagy fajtavédelem céljaira.

Az 1. ábrán látható, RAPD mintázatra szerkesztett neighbor-joining fa jól szemlélteti a főként hazai eredetű, természetű *P. eryngii* törzsek rokonsági kapcsolatait. Látható, hogy a törzsek két nagy csoportba tartoznak: a malajziai törzssel 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.



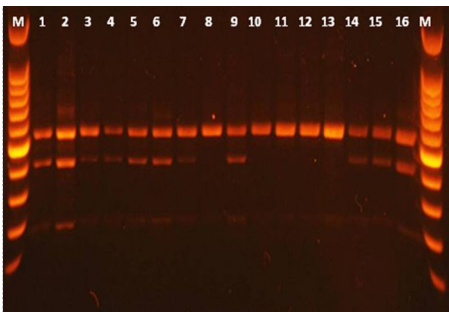
1. ábra. A RAPD analízis eredményein alapuló, Neighbor-Joining program (NEI & LI, 1979) segítségével készített dendrogram. A skála a törzsek közötti genetikai távolságot reprezentálja.

A *teflα*, *rpb2* régiók szekvencia analízisének eredményei

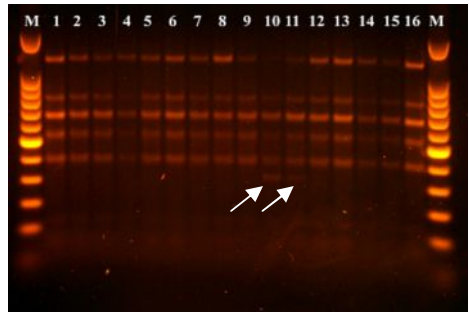
A *teflα* gén szekvencia analízisének eredményeként teljes azonosságot tapasztaltam a törzsek között, míg az *rpb2* génnek szekvencia adataiban néhány ponton nukleotidcserét figyeltem meg. Az irodalmi forrásokban nem találtam arra vonatkozóan adatokat, hogy milyen mértékű polimorfizmus mellett, valamint milyen szekvencia adatok alapján lehet az izolátumokat varietas szinten identifikálni. Annyi azonban látható, hogy a két lókuszt részleges szekvencia analízisének eredményeként, a rendelkezésre álló izolátumok esetében kismértékű polimorfizmus tapasztalható.

Mindkét régió szekvencia adatainak BLAST-ját követően nem várt eredményeket kaptam. Megállapítottam, hogy jelen formájukban az NCBI oldalán található hiányos, archivált szekvencia adatok nem nyújtanak megbízható összehasonlítási-azonosítási alapot a *P. eryngii* izolátumok azonosításához. Látható, hogy a fajjal és változataival kapcsolatos molekuláris biológiai munkának ma is komoly korlátai vannak.

Az *rpb2* nukleotid polimorfizmusai alapján két restriktív enzimmel (BsmAI és TspDTI) sikerült a saját izolátumokat két-két csoportra osztani az RFLP mintázat alapján, amelyet a 2. és 3. ábra mutat.



2. ábra. BsmAI enzimmal végzett hasítás eredménye.



3. ábra. TspDTI enzimmal 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)

dsRNS vizsgálatok eredményei

Az általam használt immunoblot eljárással három ismétlést követően sem tudtam mikovírusokra utaló dupla-szálú RNS-eket kimutatni a törzsekben. Az eredmények alapján tehát arra következtethetünk, hogy a rendelkezésre álló törzsek egyike sem fertőzött, így a jelentős növekedésbeli, termésbeli különbségek háttérében nem dsRNS mikovírusok állnak.

A vegetatív micélium növekedési tesztjeinek eredményei

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. 25 °C-on, ami egyben a faj hőmérsékleti optimuma, a napi növekedési ütem törzsektől függően 2,35 – 12 mm. A legintenzívebb növekedést a PEC és PEFi törzsek mutatták, míg a leglassabbat a PEP törzs. 20-25 °C-on egyes ördögszekér laskagomba törzsek (pl.: PEC, PEFi, PEA) hasonlóan növekedtek, mint a K 357 (*P. ostreatus*) kontroll.

A kémhatás vonatkozásában tág tűrőképesség jellemzi a fajt, azonban a törzsek átlagában két pH optimum figyelhető meg: az egyik optimum a savas pH = 4,5, a másik a lúgos pH = 7,5-8,5 tartományban tapasztalható. A két pH optimum feltételezhetően jobb alkalmazkodást, túlélést biztosít a fajnak a természetes élőhelyén. A tág tűrőképesség ellenére a törzsek között *in vitro* megfigyelhetők növekedési különbségek, amelyek főképp a szélsőséges (pH = 4-4,5-5) tartományban jelentkeznek.

A fény/sötét vizsgálatokban megállapítható, hogy a sötét inkubáció fokozta a vegetatív micélium növekedését minden törzs esetében. Ez egyrészt igazolja, hogy a természetés vegetatív fázisában (átszövetés) nem igényli a fény jelenlétét, másrészt a fekete színű zsákok használata előnyös lehet a természetés ezen szakaszában.

Az anaerobitász tolerancia vonatkozásában megállapítható, hogy – annak ellenére, hogy a gombák aerob, fakultatív anaerob szervezetek – a törzsek az egyhetes teljes oxigénmentes gázösszetételben is viszonylag jól növekedtek, megtartva életképességüket és a törzsekre jellemző növekedési ütemeiket. A jó anaerobitász tolerancia lehetővé teszi a termesztésben a levegőtlen, kompaktabb alapanyagok sikeres átszövetését.

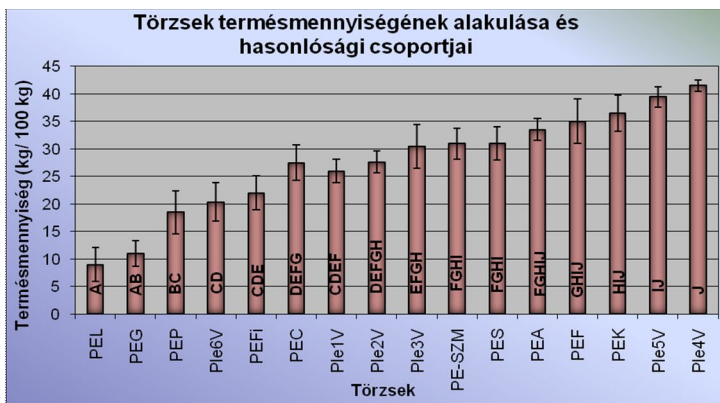
A NaCl emelkedő mennyiségei esetében egyre lassabb növekedés volt tapasztalható, azonban 4%-nál jelentős gátlás volt megfigyelhető, 5%-os koncentrációnál pedig a növekedés teljesen leállt. A glükóz esetében 15%-os koncentrációnál jelentős gátlást, 17,5%-nál teljes növekedésleállást tapasztaltam.

Törzs-összehasonlító vizsgálatok eredményei

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 átlagos száma 1488 db, a termőtestek átlagos tömege pedig a fajra vonatkoztatva 19,95 g volt. A törzsenkénti termésmennyiségről a 4. ábra nyújt áttekintést.

A fentiekkel összhangban, a biológiai hatékonyság kapcsán 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 letermelt alapanyagok tömegviszonyaival számolt biológiai hatékonyság 98,41% és produktivitás 44,36% volt.

Tizenhat törzsről készült részletes fotódokumentáció termesztési fázisonként, amelyben minden törzs termesztési szempontból legfontosabb adatait is föltüntettem. A használt törzsek közül minőség és mennyiség tekintetében két törzset tartok alkalmasnak üzemi szintű termesztésre: PES és PEF.



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

A szubsztrátum száraz tömegének vesztese és a termésmennyiség közötti összefüggése kapcsán, a Pearson-féle korrelációs együtthatót vizsgálva megállapítható, hogy a tömegvesztés és az összes termés között közepesenél 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.

A szubsztrátum nedves tömegének vesztese, valamint a termésmennyiség kapcsán a Pearson-féle korrelációs együtthatót vizsgálva megállapítható, hogy a két jelenség között közepesenél erősebb pozitív korreláció ($r = 0,655$) áll fenn, amely kevesebb, mint 1% szignifikancia-szinten teljesül ($\alpha = 0,6\%$).

A termésmennyiség és a nitrogéntartalom között szintén szignifikáns a korreláció, amely negatív irányú, a közepesenél 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 letermelt szubsztrátum nitrogéntartalma magasabb, a nagyobb termésmennyiséget biztosító törzsek esetében pedig alacsonyabb maradt.

Takarásra vonatkozó kísérletek eredményei

A takaróanyagokkal, különféle vastagságban takart blokkok több termést adtak, mint a takaratlanok (1. táblázat). A takarásnak tehát egyértelműen pozitív hatása volt a termés mennyiségre, annak ellenére, hogy a faj a lignocellulóz alapanyagról is képes termőtestet képezni. A 100% őrlt mészkőporral takart blokkoknál az 1 cm vastagon takart blokkok adták a legtöbb termést. A „hagyományos takaróanyagnál” a 3 cm vastagságban takart blokkok teremték 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 találtam magyarázatot.

1. 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% őrlt 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	-	

*Mészkőpor = a szemcse nagyság átlagosan 1 mm volt;
„hagyományos” takaróanyag = 90% tőzeg és 10% őrlt mészkőpor.

A termőidőszak összesen 34 napon át tartott. Takarás után, a 14. napon kezdtem 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. Az esetek többségében az I. és II. terméshullámból származó termés az összetermés 80-90%-át adta, így a takarással történő termesztés esetén két hullámot célszerű megvárni. Az I. és a II. terméshullám között 5-8 nap telt el, mialatt csak kevés mennyiségű „köztes gombát” szedtem. A papírral lefedett blokkokon 2-3 nappal korábban jelent meg a micélium, mint a takaratlanoknál. Kísérleteim alapján a borzolás alkalmazását még nem tudom egyértelműen javasolni.

Mikroelem-dúsulás vizsgálatok eredményei

A cink esetében a kontroll termőtestekben 25 mg/kg sz.a. cinktartalmat mértem. A legmagasabb, 40,03 mg/kg sz.a. mennyiséget a 300 ppm-es kezelésből származó termőtestekből tudtam visszamérni. A további eredményeket a 2. táblázat mutatja be. A termésmennyiségre a 300 ppm-es kijuttatás nem volt lényeges hatással, azonban a 600 ppm kezelés esetén a termés mennyisége jelentősen lecsökkent (18 kg/100 kg).

2. táblázat. A cink dúsulási vizsgálataival kapcsolatos adatok.

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

A mangánkezelés kapcsán a kezeletlen kontroll termőtestekben 4,13 mg/kg sz.a. mangántartalmat mértem. A legmagasabb, 7,3 mg/kg sz.a. termőtestbeli mennyiség a 300 ppm-es kezelésnél volt tapasztalható. A kontrolltól magasabb termésmennyiséget mértem az 50 ppm-es kezelés esetében, ami a mangán-peroxidáz (MnP) enzimre gyakorolt pozitív hatás eredményeként is értelmezhető lehet. A magasabb mangánmennyiség jelenléte esetében a termésmennyiség átlagosan 25 kg/100 kg körül mozgott, lényegesen nem változott. További eredmények a 3. táblázatban láthatóak.

3. 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 szeléndúsulás eredményeinek kiértékelése során három szempontot vettem figyelembe. A biológiai vonatkozások kapcsán megállapítható, hogy a szubsztrátum 600 ppm-es kezelése esetén, a faj (PES törzse) jelentős mértékben képes a szelént a termőtestekben fölhalmozni (520,03 mg/kg sz.a.) a kontrollal (0,15 mg/kg sz.a.) szemben (4. táblázat). A természetői vonatkozások kapcsán, kizárólag a 300 ppm-es kezelés jöhet csak szóba, mivel a 600 ppm-es kezelés esetében a termés mennyisége jelentősen lecsökken, míg 300 ppm mennyiségnél nem tapasztaltam jelentős termésmennyiség-csökkentő hatást. Amennyiben a fogyasztói oldalt is vizsgáljuk, megállapítható, hogy 100 g nyers gomba elfogyasztásával, 100%-os abszorpciót feltételezve, a gomba szeléntartalma már 50 ppm-es kezelés esetében is $13,8 \times$ meghaladja az ajánlott napi beviteli mennyiséget ($RDA_{Se} = 55 \mu g$). A szelén mennyisége tehát a kezelés függvényében humántoxicitási veszélyeket rejthet magában. Ettől függetlenül a megfelelő szelénmennyiség szubsztrátumba keverésével a gomba friss formában funkcionális gombatermékként, táplálékkiegészítőként is felhasználható, vagy részét képezheti a különböző funkcionális élelmiszerfejlesztéseknek.

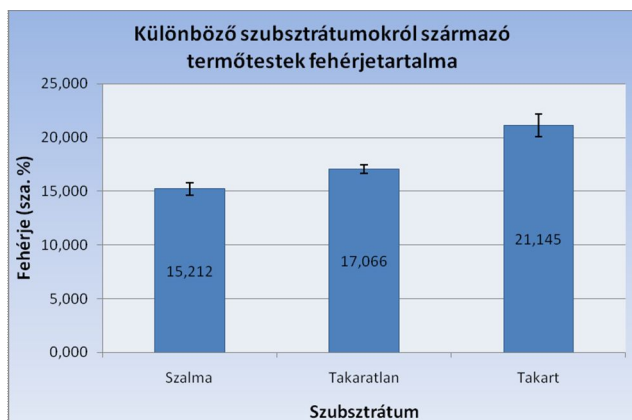
4. táblázat. A szelén dúsulási vizsgálataival kapcsolatos adatok.

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

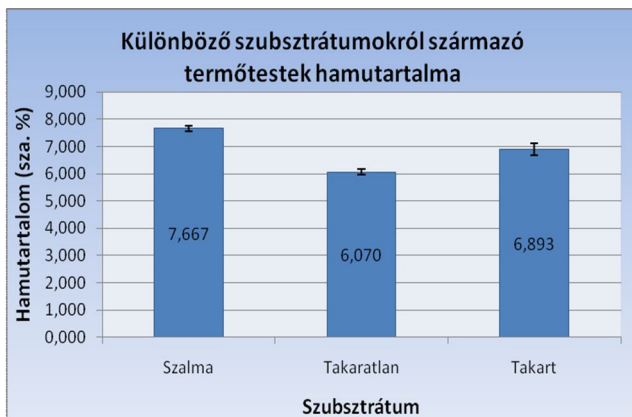
A szubsztrátum hatásának vizsgálata az ásványi elem összetételre

Amennyiben a két lignocellulóz alapanyagon fejlődő termés elemösszetételét hasonlítjuk össze a takart és nem takart blokkokon, megállapítható, hogy a 22 kiértékelésbe bevont vizsgált elemből 19 elem (Al, As, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, P, Se, Sr, Ti, V, Zn) esetében mérhető nagyobb mennyiség a takart blokkok termőtesteiben. Ez egyrészt azt jelenti, hogy a takarás hozzájárul a termőtestek elemtartalmának növekedéséhez, azaz a gomba ásványos táplálkozásában fontos szerepe van a takaró földnek. Ebből a megállapításból pedig az következik, hogy a takaró földnek a gomba vízforgalmában is szerepe van. Ezzel sikerült kiegészíteni a takaró föld hatásáról szóló ismereteket, miszerint a takarás szerepe pusztán a blokkokból történő vízvesztés megakadályozása, és a környezeti hatások tompítása lenne.

Az is megfigyelhető volt, hogy amíg a dúsított lignocellulóz alapanyagról származó termésnek magasabb a fehérjetartalma (5. ábra), addig a szalma alapanyagról származó termésnek a hamutartalma lényegesen magasabb (6. ábra).



5. ábra. A faj különböző alapanyagokról származó termőtesteinek fehérjetartalma.



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

Kórokozó szervezetek a termesztésben

A kísérletek során a következő kórokozó csoportokkal találkoztam: *Pseudomas*-fajok (baktériumos kalapfoltosság), mikoparazita *Trichoderma*-, *Penicillium*-fajok, valamint a kétspórás csiperketermesztésből is ismert *Dactylium* sp., azaz pókhálós penészgomba. Az alapanyagról izolálhatók voltak *Aspergillus*-fajok, járomspórás gombák és egyéb imperfekt gombák, amelyeket hagyományos módszerekkel nem tudtam faji szinten azonosítani.

A kártevők közül különböző *Diptera*-lárvák okoztak rágást az alapanyagban és a termőtestekben. Vektorként az imágóknak (*Phoridae*, *Sciaridae* stb.) lehet nagyobb jelentősége. Az alapanyagban és a termőtesteken előfordulnak még különféle atkafajok is.

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

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.
2. Hazai izolátumokon először végeztem *teflα* és *rpb2* lókuszok esetében szekvenciaanalízist polimorfizmusok keresése és a változatok elkülönítése céljából.
3. Az *rpb2* lókusz szekvenciaadataira alapozva, kidolgoztam a törzsek egyszerű differenciálását PCR-RFLP módszerrel.
4. Az immunoblot módszer egy speciális alkalmazásával megállapítottam, hogy a vizsgálatok során használt 16 törzsből nem fordulnak elő - a gombákban egyébként meglehetősen gyakori - dsRNS speciestek, 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.
6. Tizenhat izolátum részletesen dokumentált összehasonlító termesztési kísérleteit végeztem el, így képet kaphattam a faj különböző törzseinek jellemzőiről.
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 természetőház 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.

ÖSSZEFOGLALÁS

A disszertációmban az ördögsekér laskagomba (*Pleurotus eryngii*) gombafajjal végeztem a kísérleteimet, amely kiváló ízéről ismert. Tizenhárom törzset gyűjtöttem be magyarországi területekről, és három külföldi eredetű törzs pedig, hazai törzsgyűjteményi anyagból állt a rendelkezésemre. Az izolátumok rokonsági kapcsolatait RAPD-PCR módszerrel vizsgáltam meg, amelynek eredményeképpen, rokonsági kapcsolatokat tükröző, neighbor-joining fát állítottam össze. Elvégeztem az izolátumok *tef1 α* , *rpb2* lókuszain belül található egy-egy régió szekvenciaanalízisét, melynek eredményeképpen kismértékű polimorfizmust tapasztaltam a törzseink között és megállapítottam, hogy a legnagyobb adatbázisok szekvencia adataira támaszkodva is, rendkívül bizonytalan a változatok

identifikációja. Az *rpb2* lókuszt nukleotid eltéréseire alapozott PCR-RFLP módszerrel a törzseket két csoportra tudtam bontani.

Az általam használt immunoblot módszerrel egyetlen törzsben sem sikerült mikovírus-fertőzésre utaló dsRNS molekulákat kimutatni.

Az *in vitro* növekedési kísérletek nyomán képet kaptam a törzsek, valamint a törzsek átlagából, a faj vegetatív életszakaszának ökológiai igényeiről, amelyek a termesztési vonatkozások tekintetében is értékes információkat nyújtanak. Elvégeztem a tizenhat izolátum részletesen dokumentált törzs-összehasonlító termesztési kísérleteit, így képet kaptam a faj különböző törzseinek jellemzőiről.

A takarásra vonatkozó kísérleteim alapján látható, hogy a takaróanyag vastagsága, összetétele a biológiai hatékonyság fokozásának további lehetőségét jelentheti. Megállapítottam, hogy a takarás alkalmazása, illetve mellőzése befolyásolja a termőtestek fehérje és ásványi anyag tartalmát, továbbá, hogy a takaró földnek szerepe van a faj ásványos táplálkozásában és vízforgalmában.

Az alapanyaghoz adott cink, mangán és szelén különböző koncentrációinak nyomán megállapítható, hogy a faj általam használt törzse (PES) nem képes jelentős mennyiségben halmozni a cinket és a mangánt, ugyanakkor a szelént nagyobb mennyiségben dúsítja a termőtestekben, sőt az alkalmazott koncentrációtól függően, ennek mértéke humán toxicitási veszélyeket is hordoz magában.

KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

A jelenleg folyó taxonómiai viták végére átfogó molekuláris biológiai, speciációs és koevolúciós kutatások tehetnek pontot. A jövőben szükség van a vad törzsek *screening*-jére, és célszerű lenne a nemesítési munkálatokat is elkezdeni. A szelekciós és nemesítési munka eredményeként szükség lenne az üzemi törzsek, hibridek levédésére, amelyhez a molekuláris biológiai módszerek szintén nélkülözhetetlenek lesznek.

A hazai mezőgazdasági és erdészeti melléktermékekre alapozott termesztés vonatkozásában kulcsfontosságú a lignocellulóz alapanyag nitrogéntartalma, a

hőkezelés módja és a takarás alkalmazása. Magyarországon, a nedves hőkezeléssel előállított alapanyag-keveréknek lenne létjogosultsága, tekintettel arra, hogy a hazai alapanyag-előállítók többsége erre a technológiára rendezkedett be.

Szükség van a pontos termesztéstechnológia meghatározására, sőt a jövőben célszerű lehet a törzs-, esetleg fajtaspecifikus termesztéstechnológiák kidolgozása. A természetes fejlődés szinkronitásának fokozása, valamint a csokrosodás (mint fajra jellemző sajátság) csökkentése szintén szerepelhet a jövő szakmai céljai között. Fontos, hogy a termés vonatkozásában pontos minőségi követelményeket határozzunk meg, minőségi osztályokat állítsunk föl. Nagy jelentősége lenne a faj hazai népszerűsítésének, majd ezt követően, a hazai fogyasztói preferenciák feltérképezésének.

FELHASZNÁLT IRODALOM

1. 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.
2. 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.
3. CANDUSSO, M. & BASSO, M.T. (1995): Analisi comparativa di *Pleurotus eryngii* e *P. nebrodensis*. *Docum. Mycol.*, 25, 119-128.
4. FELSENSTEIN, J. (1995): PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.57c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
5. 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.

6. GEŐSEL, 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.
7. GHABRIAL, S.A. & SUZUKI, N. (2009): Viruses of plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 47, 353–384.
8. GHABRIAL, S.A. (1998): Origin adaptation and evolutionary pathways of fungal viruses. *Virus Genes* 16, 119-131.
9. KALMAR Z. (1960): Termesztési kísérletek ördögsekér-tölcsérgombával. *Kísérletügyi Közlemények, Kertészet* 52/c kötet, 4, 119-125.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. MATHENY P. B. (2005): Improving phylogenetic interference of mushrooms with RPB1 and RPB2 nucleotide sequences (*Inocybe*; Agaricales). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 35, 1-20
16. 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.

17. 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.
18. RÁCZ, L. & OLDAL, V. (2000): Investigation of uptake process in a soil mushroom system by AES and AAS methods. *Microchem. J.*, 67, 115-118.
19. 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.
20. RO, H.S., KIM, S.S., RYU, J.S., JEON, C.O., LEE, T.S. & LEE, H.S. (2007): Comparative studies on the diversity of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*: ITS sequence analysis, RAPD fingerprinting, and physiological characteristics. *Mycol. Res.*, 111, 710-715.
21. RODRIGUEZ ESTRADA, A.E. & ROYSE, D.J. (2005): Cultivation of *Pleurotus eryngii* in bottles. *Mushroom News*, 53, 10–19.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. SHURE, M., WESSLER, S. & FEDOROFF, N. (1983): Molecular identification and isolation of the Waxy locus of maize. *Cell*, 35, 225-233.
27. STAMETS, P. (2000): Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Ten Speed Press, Berkeley, pp. 55-57.

28. SZILI, I. & VÉSSEY, E. (1980): A csiperke és más gombák háztáji termesztése. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, p. 113.
29. SZILI, I. (1994): Gombatermesztés. Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 143-144.
30. VENTURELLA, G. (2000): Typification of *Pleurotus nebrodensis*. *Mycotaxon*, 75, 229-231.
31. ZADRAZIL, F. (1974): The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae*, and *Pleurotus eryngii*. *Mushroom Sci.*, 9, 621-652.
32. 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.
33. ZERVAKIS, G., KATSARIS, P., IOANNIDOU, E., LAHOVARIS, E. & PHILIPPOUSSIS (2001b): Facultative biotrophic basidiomycetes produce high quality edible mushrooms. *Phytopathol. Mediterr.*, 40, 190.
34. 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.

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 Élelmiszertechológiai Tanszék; Budapesti Corvinus Egyetem, Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszék.

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

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

IF-os folyóiratban megjelent publikáció

J. SZARVAS, A. GEÖSEL, K. PÁL, Z. NAÁR, J. GYÖRFI (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.

Lektorált folyóiratban megjelent angol nyelvű publikációk

J. SZARVAS, Z. NAÁR, A. GEÖSEL, J. GYÖRFI (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.

J. SZARVAS, K. PÁL, A. GEÖSEL, J. GYÖRFI (2011): Comparative studies on the cultivation and phylogenetics of King Oyster Mushroom (*Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quél.) strains. *Acta Sapientiae* „in press”.

Lektorált folyóiratban megjelent magyar nyelvű publikációk

SZARVAS J., GEÖSEL A., SZABÓ A., NAÁR Z., GYÖRFI J. (2010): Ördögsekér laskagomba törzsek *in vitro* vizsgálata. *Kertgazdaság*, 41 (1): 27-31.

SZARVAS J., GYÖRFI J. (2011): Ördögsekér laskagomba (*Pleurotus eryngii*) izolátumok összehasonlító termesztési kísérletei. *Kertgazdaság*, “in press”.

Konferencia kiadványban megjelent magyar nyelvű teljes cikkek

SZARVAS J., GEÖSEL A., GYÖRFI J., SIPOS L., KÓKAI Z. (2009): Az ördögsekér laskagomba (*Pleurotus eryngii*) és a kései laskagomba (*P. ostreatus*) összehasonlító érzékszervi profilanalízise. *Erdei Ferenc V. Tudományos Konferencia*, szeptember 3-4. Kecskemét, 1155-1158.

SZARVAS J., GEÖSEL A., SZABÓ A., NAÁR Z., GYÖRFI J. (2010): Ördögsekér laskagomba (*Pleurotus eryngii* (DC.: FR.) QUÉL.) törzsek abiotikus környezeti tényezőkre adott tolerancia-válaszának vizsgálata. *Agrár- és Vidékfejlesztési Szemle* 5 (1): 559-566. (CD-mellékleten a teljes cikk) ISSN: 1788-5345.

Konferencia összefoglalók magyar nyelven

SZARVAS J., VASTAGNÉ CSORBA M., HAJDÚ CS., VILLÁS G. (2007): Laskagombafajták elkülönítése tervezett primerek segítségével. *Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak*, november 7-8. Budapest, Konferencia Kiadvány, 372-373.

SZARVAS J., GEÖSEL A., KOVÁCS V., PÁL K., GYÖRFI J. (2009): Vad ördögcsékér laskagomba (*Pleurotus eryngii*) törzsek termesztési vizsgálatai. *Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak*, október 28-30. Budapest, Konferencia Kiadvány, 342-343.

SZARVAS J., GEÖSEL A., GYÖRFI J., NAÁR Z., HILYÁKNÉ-KADLOTT M. (2009): Ördögcsékér laskagomba (*Pleurotus eryngii*) törzsek vegetatív életszakaszának autökológiai vizsgálata. *Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak*, október 28-30. Budapest, Konferencia Kiadvány, 344-345.

Konferencia összefoglalók angol nyelven

J. SZARVAS, A. GEÖSEL, S. RAPI, Z. NAÁR, J. GYÖRFI, A. KISS (2009): Improvement of the nutrition value of the king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) by trace elements added to the substrate. *EuroFood Chem Conference XV.*, 5-8 July, Copenhagen, Denmark, Book of Abstracts, 141.

J. SZARVAS, K. KALOCZKAI, K. PÁL, Z. NAÁR, J. GYÖRFI (2010): Investigation of the effects of powdered "king oyster mushroom" (*Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quél.) and its extracts on probiotic bacteria. *International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics*, 15 - 17 June, Kosice, Slovakia, Book of Abstracts, 68.

Könyv, könyvfejezet

SZARVAS J. (2010): Gombaipari kutatások molekuláris biológiai módszerei. In: Györfi Júlia (szerk.), Gombabiológia gombatermesztés, Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 78-113.

Előadások

J. SZARVAS (2009): Comparative studies on parameters influencing the production of King Oyster Mushroom (*Pleurotus eryngii*), *Day of Hungarian Science*, 18th November, 2009. Eszterházy Károly College, Eger, Hungary.

J. SZARVAS (2010): Investigation of the effects of powdered "king oyster mushroom" (*Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quél.) and its extracts on probiotic bacteria. *International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics*, 15 – 17th June, 2010. Kosice, Slovakia.

J. SZARVAS (2010): Studies on prebiotic effect, as well as active agent-profile of *Pleurotus eryngii* extracts. *Day of Hungarian Science* „Developments for safe and sustainable food industry”, Section: „Novel functional food varieties, food microbiological and PCR-base studies” 25th November, 2010. Eszterházy Károly College, Eger, Hungary.