



**SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM**  
UNIVERSITAS SCIENTIARUM SZEGEDIENSIS  
**MÉRNÖKI KAR**

***FUNGICID REZISZTENCIA A GABONAKUTATÓ KFT.  
KÍSÉRLETI PARCELLÁIRÓL SZÁRMAZÓ  
KALÁSZMINTÁKRÓL IZOLÁLT FONALAS GOMBÁK  
KÖZÖTT***

***TDK DOLGOZAT***

***Sipos Diána Mária***

*IV. évfolyamos gazdasági és vidékfejlesztési agrármérnök (BSc)  
hallgató*

*Témavezető:*

***Dr. Krisch Judit***

*Főiskolai docens*

*Konzulens:*

***Prof. Dr. Mesterházy Ákos***

***SZEGED***

***2011***

## ÖSSZEFOGLALÁS

A mai intenzív mezőgazdaság feltételei a nagy termés elérése mellett a kórokozóknak is kedveznek, így igen nagy a jelentőségük a növényvédő szereknek. Mindeközben a mikroorganizmusok egyre ellenállóbbá válnak. Célunk az volt, hogy olyan gombákat izoláljunk a Gabonakutató Kft. kísérleti parcelláiról származó búzákról, amelyek rezisztensek az Eminent 125 SL és a Prosaro fungicidek hatóanyagaira (tetrakonazol, protikonazol és tebukonazol), illetve akár hasznosítani is képesek azokat.

Huszonhárom gombát sikerült izolálni (tizenkettő a fungiciddal kezelt mintákról származott, tizenegy a kontroll csoportról). Majdnem az összes izolátum rezisztens volt az Eminentre, míg a Prosaroval szemben csak hat izolátum mutatott rezisztenciát (ezek mindegyike *Zygomycota* gomba volt). A *Fusarium*- és a *Penicillium* fajok érzékenyen reagáltak a Prosarora. Vizsgálatunk során megállapítottuk, hogy az Eminentet kilenc gomba képes megfelelő körülmények között szénforrásként hasznosítani, míg a Prosaro esetében ez nem fordult elő.

## ABSTRACT

The conditions of intensive farming - despite the achievement of high crop yield - are also favorable for plant pathogens, so the use of pesticides has a great importance. Meanwhile, the microorganisms are becoming more and more resistant. The aim of our study was the isolation of phyllosphere fungi from winter wheat varieties, growing on the experimental fields of Cereal Research Non-profit Company, which are resistant to the active ingredients of the fungicides Eminent 125 SL and Prosaro (tetrakonazol, protikonazol and tebukonazol), or even are able to utilize them.

We have managed the isolation of 23 fungal strains (twelve from the fungicide-treated fields and eleven from the control group). Almost all isolates were resistant to the Eminent, while against Prosaro only six isolates showed resistance (each of these fungi belongs to the *Zygomycota*). *Fusarium*- and *Penicillium* species showed sensitive response to Prosaro. Nine strains were able to grow on minimal medium containing Eminent as a sole carbon source and none of them was able to utilize Prosaro.

# TARTALOMJEGYZÉK

|                                                                                                                             |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>BEVEZETÉS.....</b>                                                                                                       | <b>1</b>  |
| <b>IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....</b>                                                                                             | <b>2</b>  |
| <b>1.1. Fungicidek általános tulajdonságai .....</b>                                                                        | <b>2</b>  |
| <b>1.1.1. Eminent 125 SL .....</b>                                                                                          | <b>2</b>  |
| <b>1.1.2. Tetrakonazol.....</b>                                                                                             | <b>4</b>  |
| <b>1.1.3. Prosaro .....</b>                                                                                                 | <b>4</b>  |
| <b>1.1.4. Tebukonazol .....</b>                                                                                             | <b>6</b>  |
| <b>1.1.5. Protiokonazol .....</b>                                                                                           | <b>6</b>  |
| <b>1.2. Gombák fungicid rezisztenciájának kialakulása .....</b>                                                             | <b>7</b>  |
| <b>1.3. Populációk közti kölcsönhatások.....</b>                                                                            | <b>8</b>  |
| <b>1.4. A növényen található mikroorganizmusok és kölcsönhatásuk a növényvel .....</b>                                      | <b>9</b>  |
| <b>1.5. A rizo- és filloszféra leggyakoribb baktériumai és gombái.....</b>                                                  | <b>9</b>  |
| <b>1.6. Felhasznált búzafajták jellemzése .....</b>                                                                         | <b>10</b> |
| <b>1.6.1. GK Békés .....</b>                                                                                                | <b>10</b> |
| <b>1.6.2. GK Kalász.....</b>                                                                                                | <b>11</b> |
| <b>1.7. Búzáról izolált gombatörzsek jellemzése .....</b>                                                                   | <b>11</b> |
| <b>1.7.1. Zygomycota törzs (Járomspórás gombák) .....</b>                                                                   | <b>11</b> |
| <b>1.7.2. Ascomycota törzs (Tömlős gombák).....</b>                                                                         | <b>12</b> |
| <b>ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....</b>                                                                                            | <b>13</b> |
| <b>2.1. Felhasznált anyagok, vegyszerek.....</b>                                                                            | <b>13</b> |
| <b>2.1.1. TGE táptalaj.....</b>                                                                                             | <b>13</b> |
| <b>2.1.2. Malátás táptalaj.....</b>                                                                                         | <b>13</b> |
| <b>2.1.3. Gram-festés anyagai .....</b>                                                                                     | <b>13</b> |
| <b>2.1.4. Vizsgált fungicidek.....</b>                                                                                      | <b>14</b> |
| <b>2.2. Kísérleti módszerek.....</b>                                                                                        | <b>14</b> |
| <b>2.2.1. Kísérlet előkészítése.....</b>                                                                                    | <b>14</b> |
| <b>2.2.2. Mintavétel és leoltás.....</b>                                                                                    | <b>15</b> |
| <b>2.2.3. A táptalajokon megjelenő mikroorganizmusok csoportosítása és<br/>            tisztatényészetek készítése.....</b> | <b>15</b> |
| <b>2.2.4. Tartós preparátumkészítése .....</b>                                                                              | <b>16</b> |
| <b>2.2.5. Gram-festés .....</b>                                                                                             | <b>16</b> |
| <b>2.2.6. Mikroszkópos megfigyelés .....</b>                                                                                | <b>16</b> |

|                                                                           |           |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.7. Rezisztenciavizsgálatok .....                                      | 16        |
| 2.2.8. A fungicidek szénforrásként való felhasználásának vizsgálata ..... | 17        |
| 2.2.9. Gomba-baktérium antagonizmus vizsgálata .....                      | 17        |
| 2.2.10. Baktériumok fungicid bontó képességének vizsgálata .....          | 17        |
| <b>EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS .....</b>                                      | <b>18</b> |
| 3.1. Izolált baktériumok .....                                            | 18        |
| 3.1.1. Telepek kódolása .....                                             | 18        |
| 3.1.2. Telepek jellemzése .....                                           | 18        |
| 3.1.3. Telepek mikroszkópos megfigyelése, Gram-festés eredménye .....     | 20        |
| 3.1.4. Baktériumok fungicid bontó képességének vizsgálata .....           | 21        |
| 3.2. Izolált gombák .....                                                 | 21        |
| 3.2.1. Telepek kódolása .....                                             | 21        |
| 3.2.2. Telepek makro- és mikroszkópos jellemzése .....                    | 22        |
| 3.2.3. Rezisztencia vizsgálatok .....                                     | 27        |
| 3.2.4. Fungicidek szénforrásként való felhasználásának vizsgálata .....   | 28        |
| 3.3. Antagonizmus vizsgálatok.....                                        | 29        |
| <b>ÖSSZEFOGLALÁS .....</b>                                                | <b>30</b> |
| <b>IRODALOMJEGYZÉK .....</b>                                              | <b>31</b> |
| <b>MELLÉKLET.....</b>                                                     | <b>33</b> |

## **BEVEZETÉS**

A mai intenzív mezőgazdaság már nem képzelhető el növényvédő szerek nélkül, amelyek meggátolják a haszonnövényeink károsodását. A termés nagy részét teszik tönkre a különböző kártevők. Ezt a veszteséget az egyre növekvő élelmiszerfogyasztás miatt minél inkább csökkenteni kell, ugyanakkor jelentős hangsúlyt kell fordítani az élelmiszerbiztonság kérdésére is. Ezért van szükség a megfelelő hatékonyságú és biztonságú peszticidek alkalmazására, melyek közül napjainkban a reakcióspecifikus szereket részesítik előnyben. Ezek a növényvédő szerek a kártevők egy-egy anyagcsere-folyamatára célzottan hatnak. A mikroorganizmusok ezekkel a szerekkel szemben könnyen rezisztenciát alakítanak ki, melynek következtében akár meg is növekedhet a rezisztens kórokozó gombák toxintermelése.

Vizsgálataink során két búzafajtáról, a GK Békésről és a GK Kalászról izoláltunk fonalas gombákat és baktériumokat. A kísérleti parcellákon két fungicidet alkalmaztunk, a terakonazol tartalmú Eminent 125 SL-t, továbbá a protiokonazol és tebukonazol tartalmú Prosarot. A kontroll csoportban nem kaptak fungicides kezelést a növények. Mely következtében búzánként három minta adódott (származott egy a kontroll csoportról, egy az Eminttel kezelt és egy a Prosaroval kezelt növényről).

Célkitűzésünk az volt, hogy megvizsgáljuk a Gabonakutató Kft. Kecskési kísérleti telepéről begyűjtött mintákról izolált fonalas gombák rezisztenciáját, esetleges fungicid bontó képességét. Mivel a növényeken élő baktériumok is képesek lehetnek a fungicidek lebontására, hasznosítására, és így kaput nyithatnak a kórokozók előtt, ezért megvizsgáltuk az izolált baktériumok fungicid bontó képességét is.

## **IRODALMI ÁTTEKINTÉS**

### **1.1. Fungicidek általános tulajdonságai**

A mezőgazdasági termelés növekedésével egyre fontosabbá válik olyan anyagok kifejlesztése, amelyek a haszonnövények védelmére szolgálnak. Segítségükkel nem csak a termés mennyisége növelhető, hanem megakadályozható a károsodást okozók elszaporodása. E célból peszticideket hoztak létre, amelyek más-más kórokozóval szemben nyújtanak védelmet. A gyomirtókat herbicideknek, a gombaölőket fungicideknek, a vírusirtókat viricideknek, a baktériumölőket baktericideknek és az állati kártevőket pusztító szereket zoocideknek nevezik. (A zoocid egy összefoglaló kifejezés, magába foglalja az összes állatok elleni szert. Például a rovarölő szereket inszekticideknek nevezik.)

Magyarországon a kultúrnövények gombák által okozott veszteségében nagy jelentőséggel bírnak a *Fusarium* fajok, ugyanis e gombák toxinjai igen kedvezőtlen élettani hatásokkal rendelkeznek (mind élelmiszer-, mind takarmánybiztonsági szempontból).

#### **1.1.1. Eminent 125 SL**

Az Eminent egy tetrakonazol tartalmú, széles hatásspektrummal rendelkező, folyékony, felszívódó gombaölő szer. Az összes fontos betegség ellen hatékonyan alkalmazható, és lombtrágyákkal gond nélkül kombinálható. Vizes bázisának köszönhetően nagy nyári melegben is használható, perzselési veszély nélkül.

#### **Jellemzői:**

- 125 g/l a tetrakonazol (hatóanyag) tartalma.
- Mérsékelten mérgező, irritatív.
- Méhekre nem, de a vízi szervezetekre már közepesen veszélyes.
- Élelmezés-egészségügyi várakozási ideje a kalászosokban 42 nap.
- Munkaegészségügyi várakozási ideje 0 nap.
- Felhasznált mennyisége: 0,8-1,0 l/ha.

***Hatásmechanizmusa:***

Az Eminent hatóanyaga a triazol típusú fungicidek csoportjába tartozik. Hatását ennek megfelelően úgy fejt ki, hogy a kórokozó gombák sejtmembránjának kiépülését gátolja. Ugyanis a tetrakonazol jelenlétében a gombák ergoszterol bioszintézise blokkolódni fog oly módon, hogy az acetyl-CoA nem képes szteránvázas vegyületekké alakulni.

Jó zsírolékonysága azonnali felszívódást biztosít a növényi bőrszöveten keresztül, kiváló vízlélekonysága gyors szállítódást eredményez a nedvkeringésben, míg gőz hatása az egyenletes eloszlás garantálja a növényen belül. (A készítmény a kipermetezést követően felszívódik a növénybe, és belülről védi azt.)

***Hatásspektruma:***

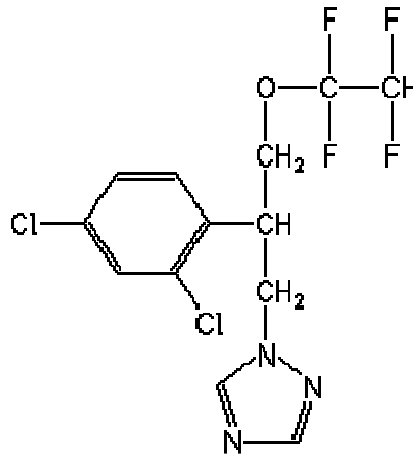
Rendkívül széles hatásspektrumával az Eminent jelentősen különbözik a szercsoport többi tagjától.

Biológiai hatása a következő kórokozók ellen terjed ki: kőüszög, törpeüszög, repülőüszög, szeptóriás levélfoltosság, rozsdabetegségek, *Fusarium* fajok, helmintospóriumos levélcsíkoltság, lisztharmat, cercosporás levélragya, réparozsda és ramuláriás levélfoltosság.

***Alkalmazástechnológiája:***

A védekezés gerincét a lisztharmat ellen kell igazítani. Az első kezelést a korai gyomirtással egy menetben, még a primer fertőzés bekövetkezése előtt kell elvégezni (ha nincsenek tünetek, akkor elegendő lehet a kontakt kén alkalmazása is). Azonban ha már a primer tünetek látszanak, akkor 0,8-1,0 l/ha dózisban használjuk (vagy kombinációját). A második kezelésnél a zászlós levél és a kalász megvédése a fontos, így a virágzás kezdetén végzzük el a permetezést (lisztharmat mellett más levélbetegségek ellen is hatékony). (Kwizda)

### 1.1.2. Tetrakonazol:



1. ábra: A tetrakonazol szerkezete. (C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>F<sub>4</sub>N<sub>3</sub>O) (www.alanwood.net)

### Humán vonatkozásai:

Akut toxicitása közepes, mérsékelt. Erősen rákkeltő anyag. Nem kolinészteráz gátló. Azonban a talajvizet potenciálisan szennyezi.

(PAN Pesticides Database)

### 1.1.3. Prosaro

A Prosaro tebukonazol és protiokonazol tartalmú, felszívódó gombaölő szer, mely kiválóan alkalmazható a levél- és kalászbetegségek ellen. Kiemelkedő hatékonysággal rendelkezik a kalászfuzáriózis megelőzésében, így nagyon jó a mikotoxinok felszaporodás ellen. Mindemellett jelentős termésfokozó és minőségjavító hatása is.

### Jellemzői:

- 125 g/l a tebukonazol és 125 g/l a protiokonazol (hatóanyag) tartalma.
- Bőrizgató hatása van, a születendő gyermeket károsíthatja (ártalmas).
- Méhekre nem veszélyes, de a vízi szervezetekre mérgező és a vízi környezetben hosszan tartó károsodást okozhat.
- Élelmezés-egészségügyi várakozási ideje a kalászosokban 35 nap.
- Munkaegészségügyi várakozási ideje 0 nap.

- Felhasznált mennyisége: 0,75-1,0 l/ha (vízbe juttatva 250-300 l/ha).

#### ***Hatásmechanizmusa:***

Csak úgy, mint az Eminent esetében a Prosaro is az ergoszterol bioszintézisét gátló gombaölő szer. Ennek következtében a kórokozó gomba nem lesz képes sejtmembránjának megfelelő kiépítésére.

Kiváló gyorsasággal szívódik fel a növénybe, a Prosaro alkalmazását követően az egy órán túl hulló csapadék gyakorlatilag már nem befolyásolja a készítmény hatékonyságát. Protiokonazol tartalmának köszönhetően preventív hatása hosszú, míg a tebukonazolnak kiváló kuratív tulajdonsággal rendelkezik, így lehetővé teszi a hatékony kezelés időszakának meghosszabbodását. (Amennyiben az időjárás miatt megkésne a kezelés, négy napos kuratív hatása akkor is garantálja a sikeres védekezést.)

#### ***Hatásspektruma:***

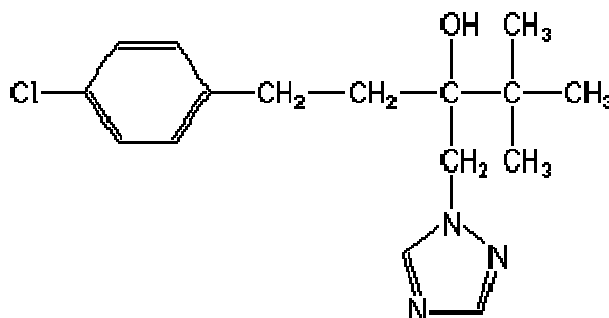
Kettős hatóanyag tartalmának köszönhetően eredményesen alkalmazható minden kalászos betegség ellen, illetve jelentős gombaölő hatása mellett a termésfokozó és a minőségjavító hatása is.

Biológiai hatása a következő kórokozók ellen terjed ki: lisztharmat, rozsdabetegségek, szeptóriás levélfoltosság, pirenofórás levélfoltosság, szeptóriás kalászfoltosság, kalászfuzáriózis és más kalászbetegségek.

#### ***Alkalmazástechnológiája:***

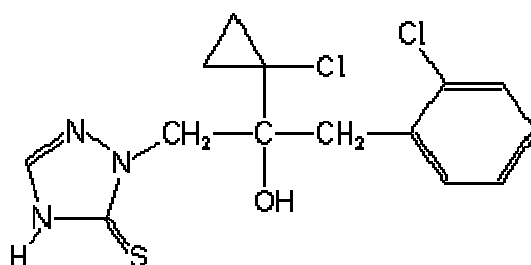
A készítményt elsősorban megelőző jelleggel szokták alkalmazni, a búza szárbaindulása és virágzása közötti időszakban egyszer, vagy kétszer kell kijuttatni (a betegség és egyéb tényezők alapján megválasztott dózisban). Az optimális kijuttatási idő, illetve dózis függ a megcélzott betegségtől és a fertőzés veszélyre ható tényezők meglététől.

- Levélbetegségek ellen az első kezelés a búza egy szárcsomós állapota és a zászlólevél kiterülése közötti időszakban történik meg.
- Kalászfuzáriózis ellen a kikalászás vége és a fővirágzás közötti időszakban javasolt a permetezés, magasabb dózisokban. (*Fusarium* veszélyes időszakban 1,0 l/ha dózis javasolt.) (Bayer)

**1.1.4. Tebukonazol:****2. ábra:** A tebukonazol szerkezete. (C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>3</sub>O) (www.alanwood.net)**Humán vonatkozásai:**

Akut toxicitása mérsékelt, közepes. Lehetséges rákkeltő. Nem kolinészteráz gátló. Feltételezetten romboló hatása van a belső elválasztású mirigyekre. A talajvizet potenciálisan szennyezi.

(PAN Pesticides Database)

**1.1.5. Protiokonazol:****3. ábra:** A protiokonazol szerkezete. (C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>OS) (www.alanwood.net)**Humán vonatkozásai:**

Akut toxicitása nem ismert. Nem rákkeltő, nem kolinészteráz gátló. Talajvíz szennyező hatása kérdéses.

(PAN Pesticides Database)

## 1.2. Gombák fungicid rezisztenciájának kialakulása

A '70-es évek előtt széles hatáskörű fungicideket használtak, melyek igen hatékonyak bizonyultak a mikroorganizmusok ellen, nem volt jellemző a rezisztencia kifejlődése sem. Viszont egyik legjelentősebb hátrányuk az volt, hogy sokáig megmaradtak a környezetben. (Élelmiszer- és takarmánybiztonsági szempontból ez igen negatívan hatott.) Így lassan elkezdtek forgalomba kerülni a reakcióspecifikus peszticidek ('60-as évektől már megtalálhatók voltak a piacokon). Ezek az új szerek egy-egy anyagcsere-folyamatra hatnak, ahol általában az anyagcsere-folyamatot katalizáló enzim gátlása valósul meg. Azonban a kórokozók ezekkel szemben gyakran rezisztenciát alakítottak ki.

**Rezisztencia:** Egy stabil, öröklött tulajdonság, általában egy egyszeri, vagy többszörös génmutáció eredménye. A rezisztencia kialakulásában a szelekciós nyomásnak szerepe van. Ha ugyanazt a fungicidet ismételt, egymás után többször alkalmazzák, akkor az a rezisztensek felhalmozódásához fog vezetni, és a végül azok fognak a domináns csoporttá válni. (A rezisztenciának sok fokozata van, míg az eléri a komplett ellenállóképességet.)

A rezisztencia kifejlődésének módjai:

- Megváltozik a célmolekula, így a fungicid nem tud hozzákötődni.
- Egy helyettesítő enzim lép működésbe, melynek hatásspektruma hasonló a fungicid által tönkrített célenziméhez.
- A célenzim túlműködése következik be, mely során a fungicid képtelen lesz az összes hatástalanítására.
- Multi-drog rezisztencia pumpa segítségével a gombasejt el fogja tudni távolítani magából a fungicidet, azonban energia-befektetést (ATP) igényel ez a folyamat.
- A gomba lebontja a fungicidet, akár annak hasznosítására is képes lesz. (Zonghua et al., 2005.; Hill, 1978.)

Vigyázni kell azonban arra, hogy megfelelő mennyiségben alkalmazzuk az adott fungicidet, ugyanis amennyiben dózisa nem halálos, akár emelheti is néhány faj mikotoxin termelését. (Például tebukonazol esetében nem halálos dózis emelte a *Fusariumok* és az *Aspergillusok* mikotoxin termelését.) (D'mello et al., 1998.)

### 1.3. Populációk közti kölcsönhatások

Az egyes populációk között kölcsönhatások lépnek fel, melyek többfélék lehetnek. Ez létrejöhet a növény és a rajta megtelepedő mikroorganizmus között, ekkor közvetlen hatással vannak egymásra. Azonban kialakulhat kapcsolat a növényen élő mikrobiotikumok között is, ebben az esetben közvetetten hatnak a növényre. Ezek a kapcsolatok lehetnek:

**Mutualizmus:** Mindkét fél számára előnyös kapcsolatot jelent. Két fajtája van.

- **Szimbiózis:** Szoros a kapcsolat a két populáció között. (Például *Rhizobium* baktériumok a pillangós virágúak gyökérgümőiben.)
- **Protokooperáció:** A szervezetek nem függenek egymástól, önállóan is képesek élni, vagy ideiglenesen élnek együtt és hatnak egymásra. (Például egy mikroorganizmus az adott növény felületén, ezáltal kizárva a patogéneket, tápanyagért cserébe.)

**Kommentalizmus:** Az egyik résztvevőnek előnyös, a másiknak közömbös a kapcsolat. Idetartozik a legtöbb növényen élő mikroba. A növénytől élőhelyet és tápanyagokat kapnak, azonban nem befolyásolják a növény életét.

**Neutralizmus:** A résztvevők teljesen közömbösek egymás számára. Általában nem ez a jellemző a növény-mikroorganizmus kapcsolatban.

**Antagonizmus:** Vagy az egyiknek, vagy mindkét résztvevőnek hátrányos kapcsolatot jelent.

- **Kompetíció (versengés):** Általában a tápanyagért, vagy az élőhelyért történik a versengés. Az eredménye, hogy az egyik fél növekedése, szaporodása, biológiai aktivitása vagy éppen fertőző képessége csökken.
- **Parazitizmus:** Szoros együttélés, ami csak az egyik résztvevőnek kedvező, a másiknak kifejezetten hátrányos. (Például a növény és a növénypatogén kapcsolata.)
- **Predáció (ragadozás):** Inkább az állatvilágra jellemző.
- **Kémiai antagonizmus:** Példaként felhozható, amikor az egyes mikroorganizmusok antibiotikumokat vagy különböző extracelluláris bontóenzimeket termelnek egymás ellen. Ilyen bontóenzimek lehetnek a proteázok (fehérjebontók), a kitinázok, vagy a glükánázok (cellulózbontók). (Pal et al., 2006.)

#### **1.4. A növényen található mikroorganizmusok és kölcsönhatásuk a növényvel**

A növények jó élőhelyet biztosítanak a mikroorganizmusok számára, mely tekintetében két területet különböztetünk meg, a rizoszférát (gyökér) és a filloszférát (szár, levél).

A növényen található mikrobák lehetnek kórokozók, szaprofiták, vagy hasznosak. A hasznos mikroorganizmusokat két csoportba oszthatjuk:

- Bio-termésmnövelők (Például a *Rhizobium* baktériumok a pillangós virágúak gyökérgümőiben.)
- Biopeszticidek (Gátolják a kórokozók megtelepedését, így a betegségek okozását. A „védelmet” különböző módon alakíthatják ki: vetélkednek a tápanyagokért, vagy elfoglalják az élőhelyet, vagy antimikrobiális anyagot termelnek.)

Felléphetnek bizonyos kölcsönhatások a növény és a baktériumok között, melynek első lépéseként a baktérium felismeri a növényt, majd valamilyen módon hozzákapcsolódik a növényhez. (Különböző fimbriák, pilusok vagy vegyületek alkalmazásával.) Ezt követően, második lépésként kolonizálják a növény felszínét. Ez úgy zajlik le, hogy vagy mikrotelepek jönnek létre, vagy összefüggő biofilmet képeznek a növény felületén. A kolonizációnak nagy fontossága van mind a megbetegítésben, mind a hasznos hatásban. A növény-baktérium kölcsönhatásban a baktériumok ugyanazokat a mechanizmusokat használják, akár hasznosak, akár károsak. Ezek általános kölcsönhatások, minden eukarióta szervezettel hasonló kölcsönhatásba fognak lépni, többek között a kórokozó gombákkal is. (Lugtenberg et al., 2002.)

Kölcsönhatásba léphet a baktérium a gombával is, melynek során nemcsak negatív hatás jelentkezhet, hanem akár segíthetik is egymást. Például úgy, hogy a baktérium olyan anyagot termel, ami lebontja a fungicidet és így a gomba képes lesz megtelepedni a gombaölővel kezelt növényen. (Erre a felismerésre jutott Eifert Tímea szakdolgozati kísérletezése során, amikor fungicid bontó baktériumot tudott izolálni a Gabonakutató Kft. kísérleti parcelláiról származó mintáiról.)

#### **1.5. A rizo- és filloszféra leggyakoribb baktériumai és gombái**

##### **A rizoszféra leggyakoribb baktériumai:**

- *Serratia*-fajok
- *Azospirillum*-fajok

- *Bacillus*-fajok

#### ***A filloszféra leggyakoribb baktériumai:***

- *Pseudomonas*-fajok
- *Erwinia (Pantoea)*-fajok
- *Bacillus*-fajok
- *Agrobacterium*-fajok

A növények esetében elsősorban a gombák a kórokozó fajok (százhusz kórokozó gombanemzetség található, harminc vírus- és mindössze nyolc baktériumnemzetség). A kalászosokon *Fusarium*, *Gabonalsztharmat*, illetve *Aspergillus* és egyéb fajok alkotják a kórokozó flórát. (Montesinos et al., 2002.)

### **1.6. Felhasznált búzafajták jellemzése**

#### **1.6.1. GK Békés**

Kedvező minőségi mutatókkal és termőképességgel rendelkező, zömében javító minőségű fajta. A termesztési és az éghajlati anomáliákhoz jól alkalmazkodik, így az ország bármely búzaterületén eredményesen termeszthető.

Gyors kezdeti fejlődésű, félig elhajló levélzetű. Megbízható fagy és télállósággal rendelkező fajta. Szárazságtűrése is megfelelő. Bokrosodó képessége az átlagosnál jobb. Átlagos magassága 85-95 cm. Kalásza szálkás, érett állapotban elhajló, színe sárga. A búzaszem telt orsó alakú, teljes éréskor acélos, piros színű.

Termőképességére jellemző a hektáronkénti 5,0-7,5 tonna termés. Minőségi jellemzői a következők: ezerszem tömege 40-45 g, hektoliter tömege 80-83 kg, A1-A2 sütőipari besorolású (melyek közül kiemelkedik a stabilan magas és jó minőségű nedves siker és fehérje tartalma).

Jó kezdeti fejlődése következtében vetése október második felében ajánlott. Vetőmagszükséglete (ezerszemtömegétől függően) 220-240 kg/ha. Szalmája a megdőléssel szemben közepesen ellenálló, ezért tavaszi beállottság alapján, a szárcsökkentő használata

javasolt. Lisztharmat és rozsdabetegségekkel szembeni rezisztenciája jó, azonban az egyéb levél- és kalászbetegségekkel (*Fusarium*) szembeni megelőző védekezés indokolt.

### **1.6.2. GK Kalász**

Az egész ország területén eredményesen termesztethető fajta. Köztermesztési, malomipari és kereskedelmi szempontból keresett.

Abiotikus stressz rezisztenciája jó-kiváló. Levelei félig felállóak, színük világoszöld. Gombabetegségekkel szembeni rezisztenciája jó-közepes. Magassága 85-90 cm, állóképessége jó. Kalásza tar, kissé elvékonyodó, éréskor félig elhajló, sárga színű.

Termőképességére jellemző a hektáronkénti 5,0-7,8 tonna termés. Minőségi jellemzői a következők: ezerszem tömege 40-45 g, hektoliter tömege 80-83 kg, piros szemű, B1-A2 sütőipari besorolású.

Vetési ideje október második felében optimális. Vetőmagszükséglete (ezerszemtömegétől függően) 225-250 kg/ha. Az eltérő termesztési körülményekhez jól alkalmazkodik. Általános rezisztenciális tulajdonságai jók (szár- és levélrozsdá ellenállósága az átlagosnál jobb), azonban az időjárástól és az állománytól függően minimum egyszeri megelőző fungicides kezelése javasolt. (Gabonakutató Kft.)

## **1.7. Búzáról izolált gombatörzsek jellemzése**

### **1.7.1. Zygomycota törzs (Járomspórás gombák)**

A törzs az úgynevezett szárazföldi gombák első nagy csoportját öleli fel, mivel életciklusok során sem a szexuális, sem a vegetatív fázisban nem igénylik a víz jelenlétét.

Az ebbe a törzsbe tartozó gombák többsége szeptum nélküli micéliummal rendelkezik és sejtfaluk kitint tartalmaz. Ivartalan szaporítósejtjeik a sporangiumokban képződő sporangiospórák; mivel nem képesek aktív mozgásra, többségük passzívan terjed. Szexuális folyamataikra a zigospóra képzés a jellemző, amely spórák gametangiális kopuláció révén keletkeznek. A diploid zigospóra általában egy hosszabb nyugalmi szakasz után mobilizálódik. Az idetartozó gombák nem mindegyikénél ismert a szexuális ciklus, de a karakterisztikus morfológiai bélyegeiknek köszönhetően besorolásukkor ez nem okoz gondot.

A *Zygomycota* törzsnek két osztálya van, a *Zygomycetes* (fejes penészek) és a *Trichomycetes*. Ez a két osztály sok eltérést mutat mind morfológiai, mind ökológiai szempontból is. Ezen okokból kifolyólag előfordul, hogy több rendszerező a második osztályt önálló taxonként, a valódi *Zygomycotáktól* elkülönítve taglalja. (Ebbe a törzsbe tartoznak a *Mucor* -, valamint a *Rhizopus* fajok.)

### **1.7.2. *Ascomycota* törzs (Tömlős gombák)**

A *Basidiomycota* és az *Ascomycota* törzseket egy közös ősből vezetik le, sok hasonló tulajdonságuk alapján. Az *Ascomycota* csoport a legnagyobb gombacsoport (az összes ismert gomba 30%-a ide tartozik; amennyiben a valószínűleg *Ascomycota* rokonsággal rendelkező imperfekt gombákat is ide soroljuk, 60%). A törzs fajainak legjellegzetesebb, közös tulajdonsága az aszkusz- és az askospóráképzés. Az aszkuszokban általában nyolc askospóra található (bár számuk fajtól függően egytől akár ezerig is terjedhet).

Ahogy azt már a *Zygomycotáknál* láttuk, az aszkomicétáknak is két különböző reprodukív fázis van. Az egyik a szexuális szaporodás, az aszkusz- és askospóráképzés, a másik az aszexuális szaporodás, amikor a micéliumokon spórák képződnek. A *Zygomycotáktól* eltérően az *Ascomycotákat* kizárólag a szexuális struktúra alapján osztályozzák, rendszerezik. Néhány fajnak csak a szexuális formája ismert (így nem okoz gondot a taxonómusoknak). Többségükénél azonban csak az aszexuális forma ismert, így ezeket külön csoportban tartják számon (a *Deuteromycota* vagy a *Fungi Imperfecti* mesterséges taxonban). (Ebbe a törzsbe tartoznak az *Alternaria*-, az *Aspergillus*-, a *Fusarium*- és a *Penicillium* a fajok is.) (Kevei et al., 1999.; Kevei, Kucsera 2010.)

## **ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK**

### **2.1. Felhasznált anyagok, vegyszerek**

#### **2.1.1. TGE táptalaj (1000ml):**

- 10,0 g glükóz
- 5,0 g pepton
- 2,5 g élesztőkivonat
- 30,0 g agar-agar

#### **2.1.2. Malátás táptalaj (1000ml):**

- 20,0 g glükóz
- 10,0 g pepton
- 20,0 g maláta
- 30,0 g agar-agar
- 0,05 g antibiotikum

#### **2.1.3. Gram-festés anyagai:**

- Gram-festék
- Steril víz
- Lugol-oldat
- 96%-os alkohol
- Szafranin-oldat

#### 2.1.4. Vizsgált fungicidek:

A vizsgálatokhoz alkalmazott fungicidek adatait az **1. számú táblázat** tartalmazza.

A táptalajokat az egyes vizsgálatok elvégzéséhez kiegészítettük megfelelő mennyiségű fungiciddel (Eminent, Prosaro).

**1. táblázat:** A vizsgálatok során alkalmazott növényvédő szerek. (Ocskó et al., 2011.)

| Kereskedelmi név | Hatóanyag             | Kémiai név                                                                                               |
|------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Eminent 125 SL   | 125 g/l tetrakonazol  | 1-[2-(2,4-diklorofenil)-3-(1,1,2,2-tetrafluoroetoxi)propil]-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol                    |
| Prosaro          | 125 g/l tebukonazol   | $\alpha$ -[2-(4-klorofenil)etil]- $\alpha$ -(1,1-dimetiletil)-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-etanol         |
|                  | 125 g/l protiokonazol | 2-[2-(1-klorociklopropil)-3-(2-klorofenil)-2-hidroxipropil]-1,2-dihidro-3 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-tion |

## 2.2. Kísérleti módszerek

### 2.2.1. Kísérlet előkészítése

A Gabonakutató Kft. kísérleti parcelláin különböző fungicid kezeléseket végeztünk el búzafajtákon. Az adott fajtát megfelelő védőfelszerelésben lekezeltük a vizsgálatban szereplő vegyszerekkel. Ennek célja az volt, hogy a Gabonakutató Kft. tesztelni tudja

búzatörzseinek, illetve a fungicideknek a *Fusarium*-rezisztenciáját. A folyamat fontosabb lépései: parcella kezelése fungiciddal (kontroll esetében természetesen nem volt ilyen jellegű kezelés), majd 1-2 nap elteltével búzacsokrok lepermetezése *Fusarium*-gomba izolátumokkal. Ezt követően a csokrokat 2 napra polietilén zacskós lezárással inkubáltuk, végül a fertőzöttség mértékét bonitálással határoztuk meg (3-4 alkalom).

### **2.2.2. Mintavétel és leoltás**

A mintákat a Gabonakutató Kft. Kecskés telepi kísérleti parcelláiról gyűjtöttük be egy héttel a permetezést követően, a lehető legcsíraszegényebb körülmények között. Különböző fajtahoz tartozó (GK Békés, GK Kalász) és eltérő kezeléseken átesett (kontroll, Eminenttel kezelt, Prosaroval kezelt) búzákat választottunk ki.

A kalázmintákra steril zacskót húztunk, majd a szárat egy fertőtlenített ollóval elmetsettük és a zacskót bezártuk.

A talajmintákat egy sterilizált kanállal (két kanálnyi mennyiség), 5-10 cm mélységből vettük, amit előre kifertőtlenített befőttes üvegbe helyeztünk, és steril fedővel lefedtük.

Ezt követően megtörtént a minták azonnali feldolgozása a laborba érkezés után. A talajmintákból kimértünk egy-egy grammot és 90 ml steril vízzel jól összekevertük, majd állni hagytuk. Petri-csészébe öntött táptalajokra (TGE, malátás) helyeztük a kalázmintákat és 1 ml talajoldatos vizet. Majd inkubátorba (30°C) helyeztük a mintákat és vártuk azok felnövekedését. (A baktériumok 1 nap alatt megjelennek, míg a gombáknak akár 3 nap is szükséges.)

### **2.2.3. A táptalajokon megjelenő mikroorganizmusok csoportosítása és tisztatenyészetek készítése**

A telepeket alakjuk, színük és méretük alapján feljegyeztük. A baktériumok és a gombák esetében is ugyanúgy leírtuk a jellemzőiket a telepeknek és elneveztük őket.

Ezt követően ferde agarra oltottuk át a szemmel jól elkülöníthető telepeket oltókacs segítségével. Első lépésként a kacs sterilizálását végeztük el, amit addig tartottunk függőlegesen lángba, amíg az vörösen nem izzott. A lehűtött kaccsal mintát vettünk, majd sterilizáltuk a pipetta száját és átoltottuk az izolátumot. A pipetta száját kupakolás előtt ismét lefertőtlenítettük. Végző lépésként megszáritottuk a láng aljánál a kacsot és ezután sterilizáltuk le.

#### **2.2.4. Tartós preparátumkészítése**

Láng felett néhányszor áthúzza zsírtalanítottuk a tárgylemezt. Majd cseppentettünk rá egy csepp vizet és egy kacsnyi baktériumkenetet mostunk bele. Végül láng felett 5-6-szor áthúzza szárítottuk.

#### **2.2.5. Gram-festés**

A baktérium mintából készített tartós preparátumot Gram-festéssel festettük 1-2 percig, majd csap alatt vízzel leöblítettük. Lugol-oldatot cseppentettünk rá és fél percig állni hagytuk. Ezután ismét leöblítettük vízzel. 96%-os alkohollal mostuk elszíntelenedésig, amit vízzel öblítettünk le. Szafranin-oldattal fél percig utófestettük és vízzel öblítettük. Ezt követően szárítottuk és végül immerziós lencsével vizsgáltuk. A vizsgálatlan köszönhetően elkülönítettük a baktériumokat, mivel a Gram pozitívak megtartották a festéket (lilás színben jelentek meg a mikroszkóp alatt), míg a Gram negatívakból ki tudtuk mosni a festéket az alkohollal (a sejtek vörös színt mutattak).

#### **2.2.6. Mikroszkópos megfigyelés**

A baktériumok és a gombák esetében is végeztünk mikroszkópos vizsgálatot a pontosabb beazonosításhoz. Mintát vettünk minden telepéből, majd mikroszkóp alatt megvizsgáltuk azokat. A gombákat 400x-os, míg a baktériumokat 1000x-es nagyítással figyeltük meg.

A gombák esetében elsősorban az ivartalan, de amennyiben látható volt, abban az esetben az ivaros szaporító képleteket figyeltük meg és jegyeztük fel. Az azonosításukat segítette Pintér Csaba „Mikrofotóatlasz kultúrnövények gombakórokozóiról” című könyve.

#### **2.2.7. Rezisztenciavizsgálatok**

A vizsgálat végrehajtásához megfelelő mennyiségű fungicid hatóanyaggal kiegészített malátás táptalajt alkalmaztunk. Ezt úgy értük el, hogy a területre (l/ha) meghatározott kiszórando mennyiséget átszámoltuk a Petri-csésze felületére. Ezt követően elkészítettük a malátás táptalajt, majd mikor az agar már kéz meleg volt, hozzákevertük az előzetesen meghatározott mennyiségű fungicidet.

A táptalajok 1x, 2x, 5x és 10x mennyiségű gombaölő (Eminent, Prosaro) tartalmaztak. A telepekről levett mintát három pontba beszúrással a tápközegre oltottuk, majd inkubálás

következett 30°C-on. Akkor tekintettünk rezisztensnek egy törzset, ha a fungicides talajon megjelentek a telepek és telepátmérője 1 cm-nél nagyobbak voltak.

#### **2.2.8. *A fungicidek szénforrásként való felhasználásának vizsgálata***

Csak a rezisztensnek tekintett telepek esetében történt meg a leoltás. Ezt a vizsgálatot a Mikrobiológiai Tanszék végezte el. A vizsgálatot minimál táptalaj segítségével végezték, ahol az egyedül csak a fungicid jelentette a szén- és nitrogénforrást. Akkor tartottuk pozitívnak az eredményt, ha a megjelent telepek átmérője elérte vagy meghaladta az 1 cm-t.

#### **2.2.9. *Gomba-baktérium antagonizmus vizsgálata***

Az összes izolátum esetében megtörtént a leoltás TGE táptalajra, ahol megnéztük a gombák és a baktériumok viszonyát. A baktériumból kenetet vettünk és azt a Petri-csésze közepére egy vonalban szélesztettük, úgy hogy elválassza a csésze két oldalát. Ezt követően a jobb-, illetve a baloldalra egy pontba leoltottuk a gombákat. Szobahőmérsékleten hagytuk a Petri-csészéket mindaddig, amíg megjelentek a telepek. Végül mindegyik mintát lefényképeztük és lejegyeztük az eredményeket.

#### **2.2.10. *Baktériumok fungicid bontó képességének vizsgálata***

Vizes szuszpenziót készítettünk az érzékeny gombák és az összes baktérium felhasználásával. Mind a gombából, mind a baktériumból egy-egy oltókacsnyi mintát vettünk és steril vízbe mostuk, majd jól összekevertük. Ezt követően a szuszpenzióból pipetta segítségével rácsepegtettünk három cseppet a fungicides táptalajra, ami kétszeres sűrűségű Prosarot tartalmazott. (Csak a Prosaro esetében vizsgáltuk meg a baktériumok fungicid bontását, mivel az Eminenttel kevert táptalajokon a gombák mindegyike felnőtt.)

## ***EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS***

### ***3.1. Izolált baktériumok***

Összesen 10 eltérő telepalakú baktériumot sikerült a búzakalászkokról izolálnunk.

#### ***3.1.1. Telepek kódolása***

A kísérleteink során izolált baktériumok jelölésére egy betűkből és számokból álló rendszert vezettünk be. Az első betű jelöli a búzafajtát, amelyről az adott mikroorganizmust izoláltuk (B-Békés, K-Kalász). A második betű a minta származási helyét jelöli az adott búzafajtáról (K-kalász, T-talaj). A harmadik betű az adott fajta fungicides kezelésének típusát jelenti (E-Emiment, P-Prosaro). A szám pedig az adott izolátum sorszáma. Volt olyan baktérium, amely mindkét búzafajtán és mindkét kezelés esetén megegyezett. Annak jelölésénél öt betű található, ahol az első két betű a búzafajtát, a harmadik betű a származási helyét az adott búzafajtáról és az utolsó két betű a fungicides kezelés típusát jelöli.

#### ***3.1.2. Telepek jellemzése***

##### **BKTEP-1:**

- Matt fehér baktérium.
- Táptalaj színét nem változtatta.

##### **BKTEP-2:**

- Apró, vízszerű telep.
- Táptalajt sárgás-zöldre színezte.

##### **BKE-1:**

- Fehér, kör alakú, sima szélű, matt telep.
- Táptalaj kismértékben sárgult.

**BKE-2:**

- Szabálytalan alakú, nyálkás, fehéres színű baktériumtelep.
- Táptalaj pasztellsárgás elszíneződését idézte elő.

**BKP-1:**

- Apró, gombostűfejnyi átlátszó telep.
- Talaj sárgult.

**BKP-2:**

- Szabálytalan alakú, nyálkás, fehéres baktérium. (Kinézete hasonlít a BKE-2 baktériumtelepéhez.)
- A táptalaj erősebb sárgás elszíneződése.

**BTE-1:**

- Fonálszerűen szétfutó telep. (Lehetséges, hogy sugárgomba.)
- Táptalaj színét nem befolyásolta.

**BTP-2:**

- Narancssárgás, szabályos, kerek telep.
- Táptalajt is narancssárgára színezte.

**KKP-1:**

- Rózsaszín, nyálkás, szabálytalan baktériumtelep.
- Táptalaj színét nem változtatta meg.

**KKP-2:**

- Nyálkás, szétfolyó telep. (Kinézete hasonlít a BKE-2 baktériumhoz.)
- Táptalajt rózsaszínűre színezte.

**3.1.3. Telepek mikroszkópos megfigyelése, Gram-festés eredménye**

Idősebb korban a baktériumok elveszíthetik Gram pozitív tulajdonságukat. Amennyiben ez bekövetkezik, akkor Gram-változó szervezetnek nevezik azt a baktériumot.

**BKTEP-1:**

- Gram pozitív hosszú egyenes pálcák, amelyek láncokban állnak Spórák figyelhetők meg, tehát spórázó baktérium. (valószínűleg *Bacillus sp.*).

**BKTEP-2:**

- Gram negatív apró pálcák vannak a háttérben, de látszik néhány Gram pozitív hosszú, töredezett pálca is, valószínűleg együtt élő baktérium konzorcium.

**BKE-1:**

- Gram pozitív kokkusz.

**BKE-2:**

- Gram negatív rövid pálca.

**BKP-1:**

- Gram negatív kokkusz.

**BKP-2:**

- Gram negatív apró pálca.

**BTE-1:**

- Gram pozitív pálca, talán spórás.

**BTP-2:**

- Gram negatív nagyon apró pálca. (Úgy néz ki, mintha kokkusz lenne.)

**KKP-1:**

- Gram negatív kokkusz, időnként láncban áll.

**KKP-2:**

- Gram negatív rövid pálca.

**3.1.4. Baktériumok fungicid bontó képességének vizsgálata**

A vizsgálat során nem találtunk olyan baktériumot, amely lebontotta volna a gombaölő szert.

**3.2. Izolált gombák**

Összesen 23 gombát sikerült izolálnunk a különböző kezeléseken átesett búzafajtákról. 12 gomba származott a fungiciddel lepermetezett növényekről, 11 pedig a kontroll csoportról származott.

**3.2.1. Telepek kódolása**

A kísérleteink során izolált gombák jelölésére egy betűkből és számokból álló rendszert vezettünk be. Az első betű az alkalmazott táptalaj típusát adja meg (M-malátás agar, T-TGE agar). A második betű jelöli a búzafajtát, amelyről az adott mikroorganizmust izoláltuk (B-Békés, K-Kalász). A harmadik betű a minta származási helyét jelöli az adott búzafajtáról (K-kalász, T-talaj). A negyedik betű az adott fajta fungicides kezelésének típusát jelenti (E-Emiment, P-Prosaro, K-kontroll). A szám pedig az adott izolátum sorszáma.

### 3.2.2. Telepek makro- és mikroszkópos jellemzése

#### M-BKK-1:

- Fehér, bolyhos, kutyaszőrszerű telep.
- Osztatlan fonalak, amelyek elágaznak. Gömb alakú spóratartó tokok, enyhén ovális spórák.
- *Zygomycota*-faj.

#### M-BKK-2:

- Alapjában fekete, felül szürkés, bolyhos, kutyaszőrszerű felszínű telep.
- Szabályos gömb alakú spóratartó tok. Sok, kicsit ellipszis alakú spóra. Osztatlan fonalak, amelyek elágaznak.
- *Zygomycota*-faj, ***Mucor irregularis*** (A Mikrobiológiai Tanszéken készült meghatározás alapján.)

#### T-BKK-1:

- Magasan kiemelkedő, szürke alapon fekete fejes telep.
- Sötét színű, nagy sporangiumok. Jellegzetes rizoidok.
- *Rhizopus*-faj.

#### T-BKK-2:

- Fehér szélű, barna telep, ami kutyaszőrszerű.
- Osztatlan fonalak, amelyek elágaznak. Gömb alakú spóratartó tokok, enyhén ovális spórák.
- *Zygomycota*-faj.

**T-KKK-1:**

- Magasan kiemelkedő, szürke alapon fekete fejek.
- Jól fejlett rizoidok, nagy fekete sporangiumfej.
- *Rhizopus*-faj.

**T-KKK-2:**

- Sötétbarna, közepén fehér, bolyhos, kutyaszőrszerű telep.
- Osztatlan fonalak, amelyek elágaznak. Gömb alakú spóratartó tokok, enyhén ovális spórák.
- *Zygomycota*-faj, ***Mucor irregularis*** (A Mikrobiológiai Tanszéken készült meghatározás alapján.)

**M-KKK-1:**

- Szegregált színű telepek (szürke, rózsaszín, sárgás-barna részek), kicsit bolyhos.
- Csak fonalszövetek figyelhetők meg.
- Nem tudtuk meghatározni, hogy melyik fajba tartozik.

**M-KKK-2:**

- Rózsaszín alapon fehér bolyhos telep.
- Csak fonalak találhatók.
- *Fusarium*-faj.

**M-KKK-3:**

- Fehér színű, sugárirányban ráncos, táptalajra simuló telep.
- Csak gombafonalak szövete látható. Idősebb tenyészetben gömbszerű konídium fejek.
- *Aspergillus*-faj.

**M-KKK-4:**

- Poros felszínű, fehér szélű, sárgás-zöldes telep.
- Gömb alakú fejen, konidiumok helyezkednek el sorban. Osztott fonalak.
- *Aspergillus*-faj.

**M-KKK-5:**

- Rózsaszín alapon, fehér bolyhos telep.
- *Fusarium*ra jellemző konidiumok.
- *Fusarium*-faj.

**M-BKE-1:**

- Szürke, bolyhos, gyorsan növő, kutyaszőrszerű telep.
- Inkább csak gombafonalak látszódnak.
- *Zygomycota*-faj.

**M-BKE-2:**

- Fehér, erősen bolyhos, szürke alappal. Táptalajt pirosra színezte.
- Csak gombafonalak szövédéke figyelhető meg.
- *Fusarium*-faj.

**M-BKP-1:**

- Fehér, bolyhos felszínű, szétfutó telep.
- Osztott gombafonalak, ecetszerű konídium fej.
- *Penicillium*-faj.

**M-BTP-1:**

- Fehér színű, zöld közepű, szabályos kerek telep.

- Dobverőszerűen megvastagodott konídium fejek.
- *Aspergillus*-faj, ***Aspergillus clavatus***. (A Mikrobiológiai Tanszéken készült meghatározás alapján.)

#### **T-BTE-2:**

- Sárga közepű, fehér színű, kör alakú telep. Nem nagyon bolyhos, széle felé laposodik. Középe a talajt rózsaszínre festette.
- Jellegzetes ecetszerű konídium-tartók.
- *Penicillium*-faj.

#### **M-KKP-1:**

- Fehér, bolyhos felszínű telep. Táptalajt rózsaszínűre festi.
- Gombafonalak szövédéke, nem láthatók konidiumok.
- *Fusarium*-faj. (A kísérletezés során kipusztult.)

#### **M-KKP-2:**

- Barna közepű, szélén fehér, barnás-zöld telep.
- Jellegzetes kézigránát alakú makrokonidiumok.
- *Alternaria*-faj. (A kísérletezés során kipusztult.)

#### **M-KTP-1:**

- Egész táptalajt befutó, fehér, magasan növvő telep, fekete konidiumfejekkel.
- Fekete, hatalmas sporangiumok, jól látható rizoidok.
- *Rhizopus*-faj.

#### **M-KTP-2:**

- Fehér, sugárirányú, virágszerű közepű, széle felé színtelenedő telep.

- Gombafonalak szövédéke, némelyik fonal vége bunkószerűen megvastagodott. Fehér, steril hifa, e miatt nem lehet meghatározni, hogy milyen fajba tartozik. (A Mikrobiológiai Tanszéken készült meghatározás alapján.)

#### **M-KKE-1:**

- Közepén fekete poros, nagyon bolyhos, szélén kisimuló, barnás-fehér, kutyaszerű telep.
- Gömb alakú konidiumok és konidiumfejek.
- *Zygomycota*-faj, ***Mucor irregularis*** (A Mikrobiológiai Tanszéken készült meghatározás alapján.)

#### **M-KTE-1:**

- Alul szürkés, felfelé fehéredő, közepén kiemelkedő, szürkés-fehér konidiumfejes, bolyhos, kutyaszerű telep.
- Sok tojásdad spóra, szabályos gömb alakú, világos színű, burokkal körülvett sporangium.
- *Zygomycota*-faj, ***Mucor circinelloides*** (A Mikrobiológiai Tanszéken készült meghatározás alapján.)

#### **T-KTE-1:**

- Világosbarna közepű, széle felé kilaposodó, fehéredő, kutyaszerű telep.
- Sok apró spóra, gömb alakú sporangiumok.
- *Zygomycota*-faj.

### 3.2.3. Rezisztencia vizsgálatok

**2. táblázat:** Rezisztencia vizsgálatok Eminent és Prosaro tartalmú malátás táptalajon.

|         | 1xE | 2xE | 5xE | 10xE | 1xP | 2xP | 5xP | 10xP |
|---------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|
| M-BKK-1 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +++ | +++  |
| M-BKK-2 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +++ | +++  |
| T-BKK-1 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | 0   | 0    |
| T-BKK-2 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +++ | ++   |
| T-KKK-1 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +   | +    |
| T-KKK-2 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +++ | +++  |
| M-KKK-1 | +++ | +++ | ++  | ++   | ++  | ++  | +   | 0    |
| M-KKK-2 | +++ | +++ | ++  | ++   | +   | 0   | 0   | 0    |
| M-KKK-3 | +++ | +++ | +++ | +++  | +   | 0   | 0   | 0    |
| M-KKK-4 | +++ | +++ | +++ | +++  | 0   | 0   | 0   | 0    |
| M-KKK-5 | +++ | +++ | +++ | ++   | 0   | 0   | 0   | 0    |
| M-BKE-1 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +   | 0    |
| M-BKE-2 | +++ | ++  | +   | +    | +   | 0   | 0   | -    |
| M-BKP-1 | ++  | ++  | ++  | ++   | 0   | 0   | 0   | -    |
| M-BTP-1 | +++ | +++ | +++ | +++  | 0   | 0   | 0   | -    |
| T-BTE-2 | +++ | +++ | +++ | +++  | ++  | +   | +   | +    |
| M-KKP-1 | ++  | ++  | +   | -    | ++  | ++  | 0   | -    |
| M-KKP-2 | ++  | ++  | +   | -    | ++  | ++  | ++  | +    |
| M-KTP-1 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +   | -    |
| M-KTP-2 | ++  | ++  | +   | +    | +   | +   | +   | -    |
| M-KKE-1 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +++ | ++   |
| M-KTE-1 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +++ | ++   |
| T-KTE-1 | +++ | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +++ | +    |

**Jelmagyarázat:** „+” – megjelentek a telepek; „++” – a megjelentek telepek növekedtek is; „+++” – az egész táptalajt benőtte a gomba; „0” – nem jelentek meg a telepek; „-” – nem lett megvizsgálva az adott gomba rezisztenciája.

A kísérletben majdnem minden *Zygomycota*-faj rezisztensnek bizonyult mindkét növényvédő szerrel szemben. A *Fusarium*-, illetve *Penicillium*-fajok jó ellenállást mutattak a tetrakonazol felé, azonban a tebukonazol és protiokonazol esetében érzékenyen reagáltak.

### 3.2.4. Fungicidek szénforrásként való felhasználásának vizsgálata

**3. táblázat:** A fungicidek szénforrásként való felhasználásának vizsgálata minimál táptalajon.

|         | Eminent | Prosaro |
|---------|---------|---------|
| M-BKK-1 | +       | -       |
| M-BKK-2 | +       | -       |
| T-BKK-2 | +       | -       |
| T-KKK-2 | +       | -       |
| M-KKK-1 | +       | -       |
| M-KKK-3 | +       | -       |
| M-BKE-1 | -       | -       |
| M-BTP-1 | +       | -       |
| M-KTP-2 | +       | -       |
| M-KKE-1 | -       | -       |
| M-KTE-1 | -       | -       |
| T-KTE-1 | +       | -       |

**Jelmagyarázat:** „+” – az adott gomba képes volt a fungicidet szén- és nitrogénforrásként hasznosítani; „-” – az adott gomba nem volt képes a fungicid hasznosítására.

A kísérlet során kiderült, hogy az Eminentre rezisztens gombák többsége képes azt megfelelő körülmények között szén- és nitrogénforrásként is hasznosítani, míg a Prosarot az általunk vizsgált gombák egyike sem volt képes lebontani.

### 3.3. Antagonizmus vizsgálatok

#### 4. táblázat: Gomba-baktérium antagonizmus vizsgálata.

|         | BKTEP-1 | BKTEP-2 | BKE-1          | BKE-2 | BKP-1 | BKP-2 | BTE-1          | BTP-2 | KKP-1 | KKP-2 |
|---------|---------|---------|----------------|-------|-------|-------|----------------|-------|-------|-------|
| M-BKK-1 | +       | -       | + <sup>+</sup> | +     | +     | +     | *              | +     | +     | +     |
| M-BKK-2 | +       | -       | + <sup>+</sup> | -     | +     | +     | *              | +     | +     | +     |
| T-BKK-1 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| T-BKK-2 | +       | +       | -              | +     | +     | +     | *              | +     | +     | -     |
| T-KKK-1 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| T-KKK-2 | +       | +       | -              | +     | +     | +     | *              | +     | +     | -     |
| M-KKK-1 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| M-KKK-2 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | - <sup>+</sup> | +     | +     | +     |
| M-KKK-3 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | + <sup>-</sup> | +     | +     | +     |
| M-KKK-4 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | + <sup>-</sup> | +     | +     | +     |
| M-KKK-5 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | -              | +     | +     | +     |
| M-BKE-1 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| M-BKE-2 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| M-BKP-1 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| M-BTP-1 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| T-BTE-2 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| M-KTP-1 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| M-KTP-2 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| M-KKE-1 | +       | +       | -              | -     | +     | +     | +              | +     | +     | +     |
| M-KTE-1 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | *              | -     | +     | +     |
| T-KTE-1 | +       | +       | +              | +     | +     | +     | + <sup>-</sup> | +     | +     | +     |

**Jelmagyarázat:** „+” – nem befolyásolta a gomba növekedését a baktérium; „-” – a baktérium visszaszorította a gombát; „<sup>+</sup>” – a baktérium szétfutott; „<sup>-</sup>” – visszahúzódott a baktérium; „\*” – a gomba és a baktérium is kölcsönösen visszahúzódott.

## ÖSSZEFOGLALÁS

A növények felülete kiváló élőhelyet biztosít a mikroorganizmusok számára, melyek kölcsönhatásba lépnek a növénnel és egymással. A kölcsönhatások eredménye lehet káros, közömbös vagy jótékony hatással a növényre. A mikroorganizmusok egymás növekedésére is hatással vannak, versenyezhetnek a tápanyagért, de előfordulhat, hogy segítik egymást. A mai mezőgazdaságban növényvédő szereket alkalmazunk azért, hogy kivédhessük a mikroflóra negatív hatásait. Azonban napjainkra egyre több kórokozó válik rezisztenssé a peszticidekkel szemben, különösen a gombák. Célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a búzáról izolált gombák rezisztenciáját, valamint a gombák és a baktériumok esteleges fungicid bontó képességét.

Huszonhárom gombát sikerült izolálni, tizenkettő a fungiciddal kezelt mintákról származott, tizenegy pedig a kontroll csoportról. Az izolátumok az általunk vizsgált búzafajták kalászáról, illetve talajából származtak. (Kivéve a kontroll csoport esetében, mivel ott nem volt lehetőségünk talajmintát venni.) A talajból és a búza felületéről izolált gombák faji összetételében nem volt nagy különbség, valószínűleg azért, mert azokat csíra korából hozta magával a növény. (Két gomba nemzetséget csak a kalászáról tudtunk izolálni, melyek a következők: *Alternaria* és *Fusarium*.)

A fungicides kezelésem átesett mintákról származó *Fusarium*ok között volt mindkét permetezőszerre rezisztens izolátum, míg a kezeletlenek között csak Eminentre rezisztens gombát találtunk. Az Eminent esetében mind a tizenegy kontroll csoportról származó izolátum felnőtt, míg a Prosaronál csak hat kezeletlen mintáról származó gomba tudott növekedni (*Zygomycota* gombák).

Az izolátumok az Eminenttel szemben mutattak nagyobb rezisztenciát. Még 10x dózisé Eminent mellett is tizenkilenc gomba növekedett zavartalanul, szemben a Prosaroval, ahol csak hat volt képes növekedni (amelyek mindegyike a *Zygomycota* csoportba tartozott). Azonban a *Fusarium*-fajok telepátmérői mindkét vegyszer hatására csökkentek.

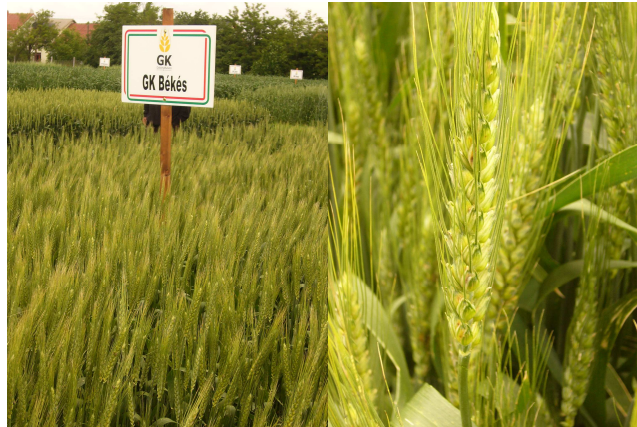
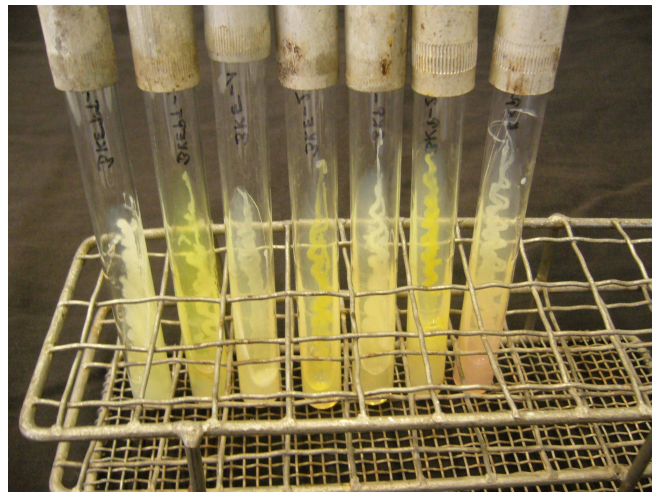
Vizsgálataink során azt is megállapítottuk, hogy megfelelő körülmények között kilenc gomba (tizenkét gombából) képes szén- és nitrogénforrásként hasznosítani az Eminentet, míg a Prosaros minimál táptalajon egy gomba sem növekedett.

A rezisztens gombák kialakulása nagyon fontos kérdés élelmiszerbiztonsági szempontból. Mivel nemcsak gyakrabban, nagyobb mennyiségben szükséges a fungicides permetezés, hanem az irodalmi adatok alapján a rezisztens gombák mikotoxin termelése növekedhet is. A rezisztencia kialakulást megelőzendő érdemes lehet sűrűbben cserélni a használt gombaölőket, ugyanis az élelmiszer tömegtermelés elképzelhetetlen peszticidek nélkül.

## ***IRODALOMJEGYZÉK***

- D'Mello, J. P. Felix; Macdonald, Ann M. C.; Postel, David; Dijksma, Wilko T. P.; Dujardin, Aude and Placinta, Cristina M. (1998.) Pesticide use and mycotoxin production in *Fusarium* and *Aspergillus* phytopathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 741–751.
- Eifert, Tímea (2008.) Búzakalásról izolált baktériumok lehetséges fungicid bontó képességének vizsgálata, Szakdolgozat, Szeged.
- Hill, I. R. (1978.) Microbial Transformation of Pesticides In: Hill, I. R. and Wright, S. J. L. (eds) *Pesticides Microbiology* Academic Press, London. pp. 137-183.
- Kevei, F.; Kucsera, J.; Varga, J. és Vágvölgyi, Cs. (1999.) *Fejezetek a mikológiából*, JATEPress, Szeged.
- Kevei, Ferenc és Kucsera, Judit (2010.) *Mikrobiológia I.*, JATEPress, Szeged.
- Lugtenberg, B.; Chin-A-Woeng, T. and Bloemberg, G. (2002.) Microbe–plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie van Leeuwenhoek*. 81: 373–383.
- Montesinos, E.; Bonaterra, A.; Badosa, E.; Francés, J.; Alemany, J.; Llorente, I.; Moragrega, C. (2002.) Plant-microbe interactions and the new biotechnological methods of plant disease control. *Int. Microbiol.* 5: 169-175.
- Ocskó, Zoltán; Erdős, Gyula és Molnár, Jenő (2011.) *Növényvédő szerek, termésnövelő anyagok 2011.*, Agrinex, Budapest.
- Pal, K.K. and McSpadden Gardener, B. (2006.) Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*. Vol. 02: 1-25.

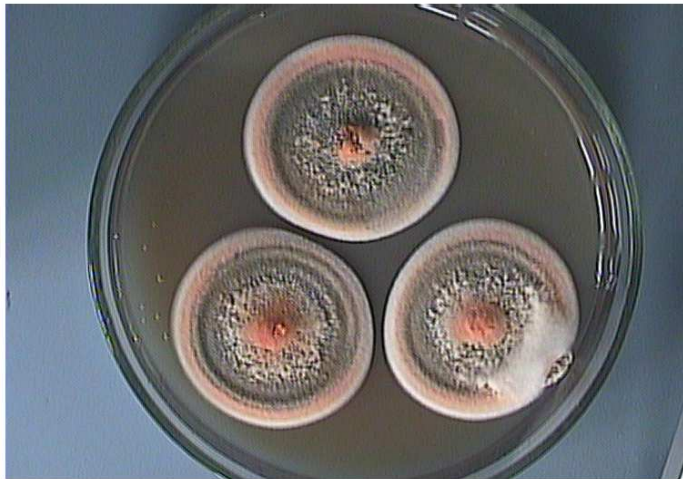
- Pintér, Csaba (1997.) Mikrofotóatlasz kultúrnövények gombakórokozóiról, Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest.
- Zonghua Ma and Michailides TJ. (2005.) Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular diagnosis of resistant genotypes of phytopathogenic fungi. Crop Protection 24:853-863.
- [www.alanwood.net](http://www.alanwood.net) 2011. 09. 27.
- [www.bayercropscience.hu](http://www.bayercropscience.hu) 2011. 09. 20.
- [www.gk-szeged.hu](http://www.gk-szeged.hu) 2011. 09. 20.
- [www.kwizda.hu](http://www.kwizda.hu) 2011. 09. 20.
- [www.pesticideinfo.org](http://www.pesticideinfo.org) 2011. 09. 27.

**MELLÉKLET****1. kép:** GK Békés**2. kép:** GK Kalász**3. kép:** Néhány izolált baktériumok: BKEPT-1, BKEPT-2, BKE-1,

BKE-2, BKP-1, BKP-2 és KKP-2 (balról jobbra haladva).



**4. kép:** *Zygomycota* izolátum fényképe.



**5. kép:** T-BTE-2 fényképe 1x Eminentes táptalajon (8 naposan).



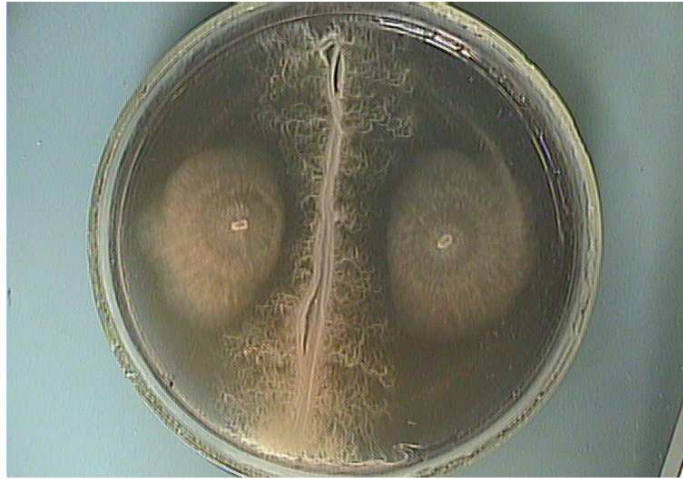
**6. kép:** T-BTE-2 fényképe 1x Prosaros táptalajon (8 napos).



**7. kép:** M-KKK-4 fényképe 10x Eminentes táptalajon (11 napos).



**8. kép:** M-KKK-4 fényképe 10x Prosaros táptalajon (16 napos).



**9. kép:** Kölsönös visszahúzódás a baktérium (BTE-1) és a gombák (M-BKK-1 és M-Bkk-2) részéről is. (Antagonizmus vizsgálat.)