

DEBRECENI EGYETEM

Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar

Növényvédelmi Intézet

Antagonista mikrogomba-törzsek hatékonyságvizsgálata növénypatogénnel szemben

Piti Alexandra Nóra

Növényorvos MSc hallgató

Konzulensek: Csótó András, tanszéki mérnök

Prof. Dr. Karaffa Erzsébet, egyetemi tanár

Debrecen

2022

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	3
Bevezetés	4
1.Témafelvetés	5
2. Szakirodalmi áttekintés	6
2.1. Biológiai védekezés	6
2.1.1 A biológiai védekezés fogalma	6
2.1.2. Biológiai védekezés mikroorganizmusok segítségével	7
2.1.3. Az antagonizmus	8
2.2. A vizsgált antagonista szervezetek	10
2.2.1. <i>Trichoderma</i> törzsek	10
2.2.2. <i>Clonostachys</i> törzsek	11
2.2.3. <i>Fusarium oxysporum</i>	12
2.3. A vizsgált patogének	13
2.3.1. <i>Oomycota</i>	13
2.3.2. <i>Ascomycota</i>	14
2.3.3. <i>Basidiomycota</i>	16
3. Anyag és módszer	17
3.1. Konfrontációs vizsgálat	17
3.1.1. A patogének konfrontációs vizsgálata	17
3.1.2. A konfrontációs teszt értékelése és statisztikai analízis	18
4. Eredmények és értékelésük	20
4.1. A gyors növekedésű patogének konfrontációs vizsgálata	20
4.1.1. <i>Aphanomyces cochlioides</i>	20
4.1.2. <i>Pythium acantophoron</i> (<i>Globisporangium acanthophoron</i>)	22
4.1.3. <i>Neofusicoccum parvum</i>	24
4.1.4. <i>Scytalidium circinatum</i>	26
4.1.5. <i>Eutypa lata</i>	28
4.2. A lassú növekedésű patogének konfrontációs vizsgálata	30
4.2.1. <i>Memnoniella</i>	30
4.2.2. <i>Truncatella angustata</i>	32
4.2.3. <i>Phaeoacremonium griseorubrum</i>	34
4.2.4. <i>Phaeoacremonium angustius</i>	36
4.2.5. <i>Fomitiporia mediterranea</i>	38

5. Következtetések és javaslatok	40
Összefoglalás	42
Irodalomjegyzék	43
Köszönetnyilvánítás	48
NYILATKOZAT	49
Ábrajegyzék	50
Táblázatjegyzék	50

Rövidítések jegyzéke

BCA	Biokontroll ágens (<u>b</u> io <u>c</u> ontrol <u>a</u> gent)
BCI	Biokontroll index (<u>b</u> io <u>c</u> ontrol <u>i</u> ndex)
BG	<u>B</u> io <u>e</u> <u>G</u> o, <i>Trichoderma</i> tartalmú készítmény
CR1	<u>C</u> lonostachys <u>r</u> osea, saját izolátum
CR2	<u>C</u> lonostachys <u>r</u> osea, génbanki tétel, CBS 113336
Fo	<u>F</u> usarium <u>o</u> xysporum
IPM	Integrált növényvédelem (<u>i</u> ntegrated <u>p</u> est <u>m</u> anagement)
KW	<u>K</u> ruskal- <u>W</u> allis
MAMP	Mikróbához kapcsolódó molekuláris mintázat (<u>m</u> icrobe- <u>a</u> ssociated <u>m</u> olecular <u>p</u> attern)
MW U	<u>M</u> ann- <u>W</u> hitney <u>U</u> -teszt
PDA	Burgonya dextróz agar (<u>P</u> otato <u>D</u> extrose <u>A</u> gar), táptalaj
TP	<u>T</u> rifender <u>P</u> ro, <i>Trichoderma</i> tartalmú készítmény
T4	<u>T</u> richoderma <u>a</u> froharzianum (TR0 <u>4</u> -es törzs)
T5	<u>T</u> richoderma <u>s</u> immonsii (TR0 <u>5</u> -ös törzs)

Bevezetés

A környezettudatos életmód és a környezetkímélő technológiával előállított termékek iránt folyamatosan nő a kereslet. Ennek megfelelően olyan fenntartható élelmiszer-rendszerek kialakítása szükséges, amelyek csökkentik a környezetszennyezést és elősegítik a biológiai sokféleség megőrzését. Az Európai Unió „termelőtől a fogyasztóig”, illetve az európai zöld megállapodás stratégiáinak egyik kiemelt célja a mezőgazdaság fenntarthatóvá és környezetbaráttá tétele. A „termelőtől a fogyasztóig” stratégia keretein belül az Unió a növényvédőszeresek kijuttatására vonatkozóan korlátozásokat és hatóanyag-kivonásokat eszközöl és 2030-ra 50%-kal kívánja csökkenteni a kémiai növényvédő szerek használatát (European Commission 2019, 2020).

A növényvédelem hatékony és környezetbarát megközelítése az integrált növényvédelem (IPM), melynek segítségével csökkenthető a növényvédőszer-felhasználás a termelékenység szinten tartása mellett. Az IPM alapelvei között szerepel a növényvédelem megelőzésre és tudományosan indokolt döntésekre való alapozása, illetve a nem kémiai módszerek előnyben részesítése. Az egyik ilyen alternatív módszer a biológiai növényvédelem.

A biológiai védekezés a növényvédelem egy nagy mértékben kutatott és folyamatosan fejlődő ága, melyet több évszázada alkalmaznak (Darvas és mtsai, 2008). A biológiai védekezés a károsító populációjának kártételi küszöb alá csökkentése más élőlények segítségével. A modern biológiai növényvédelem egy multidiszciplináris tudományterületnek számít (Stenberg és mtsai, 2021). A hatóanyag-kivonások és dóziscsökkentések miatt a növénybetegségek ellen alternatív védekezési módokat kell feltárni, mint például a biokontroll ágensek (BCA) alkalmazása. Az Európai Unió meghatározása alapján a BCA-k a növénykárosítók (a zárlati károsítók is ideértve) ellen alkalmazott természetes ellenségek, antagonista szervezetek, „versenytársak”, vagy egyéb organizmusok (European Commission, 2021). Az antagonista szervezetek alkalmazása egy ígéretes módszer a növénybetegségeket előidéző mikroorganizmusok elleni védekezés terén.

A kísérletünkben szőlőből izolált antagonista mikrogombákat használtunk, amelyek a biológiai védekezésben felhasználhatóak lehetnek nemcsak a szőlő, hanem egyéb növények gombás fertőzései ellen is.

1.Témafelvetés

A környezetkímélő technológiák elterjedése és alkalmazásuk szükségessége miatt egyre nagyobb fontossággal bír a biológiai növényvédelem fejlesztése. A kémiai védekezés környezetszennyező és biodiverzitást csökkentő hatásai miatt alternatív megoldásokra van szükség a károsítókkal szemben. A fenntartható növénytermesztéshez elengedhetetlen a honos életközösségek megőrzése. Egy ilyen alternatív megoldás a biológiai védekezési módok alkalmazása. Az antagonista szervezetek használata jelentős lehet a fás növények, így a szőlő növényvédelmében is, hiszen az alkalmazható vegyszerek köre kimondottan szűk, és az endofiton kórokozókkal szembeni szisztemikus szerekkel történő kezelések élelmiszerbiztonsági kockázatokat is hordozhatnak. Az ilyen szerek további kockázata a rezisztencia kialakulása.

A bortermő szőlő (*Vitis vinifera*) nagy jelentőségű kultúrnövény Magyarországon és Európában, mind kulturális, mind gazdasági szempontból. Termesztése többezer éves múltra tekint vissza, felhasználása pedig kivált sokoldalú. A megfelelő minőségű termék elérése érdekében a növényvédelmi munkák fontos szerepet töltenek be (Rakonczás, 2014). A szőlő fertőző tökepusztulása egy betegségkomplexum, mely rendkívüli fenyegetést jelent a világ bortermő vidékeire. A komplexum több betegségből áll, amelyet számos kórokozó okoz. A fő betegségek közé az úgynevezett fekete kordonkar elhalás, a feketelábúság, az esca, a Petri-betegség, a botrioszfériás betegség és az eutipás elhalás tartozik. A betegségek a bortermő szőlő fás részeit támadják, ezáltal akadályozzák a növény anyagcseréjét. Elsősorban a teljes termőképességű, 7 évnél idősebb szőlőtőkéken jelenik meg (Bertsch és mtsai, 2013). Jelenleg nem ismert a betegségre rezisztens termesztett vagy vadon élő szőlőfajta (Wagschal és mtsai, 2008). A védekezést tovább nehezíti, hogy a kórokozók a szőlő szállítónyalábjait kolonizálják, a transzlokációt gátolva így a jelenleg engedélyezett szerek nem képesek hatékony fungicid hatást kifejteni.

A biokontroll ágensek kutatása és fejlesztése során számos tényezőt figyelembe kell venni. Az egyik ilyen tényező, hogy a lehetséges BCA környezeti igénye vagy ökológiai fülkéje (nis) a felhasználás területével meg kell egyezzen, vagy hasonlónak kell lennie (Jensen és mtsai, 2007).

A szőlőből izolált antagonista szervezetek hatékonyságát kívántuk megvizsgálni a szőlő fertőző tökepusztulását okozó patogének ellen, továbbá egyéb gombatörzsek ellen is. A petespórás gombák közül a talajból fertőző *Aphanomyces cochlioides* és *Pythium acantophoron* elleni hatékonyságot is megvizsgáltuk. A vizsgált tömlősgomba kórokozók között szerepel egy *Memnoniella/Stachybotrys* faj és a fás részeket kolonizáló *Phaeoacremonium angustius*, *Phaeoacremonium griseorubrum*, *Eutypa lata* és a *Neofusicoccum parvum*, illetve a *Scytalidium circinatum*. A bazídiumos gombák közül az esca komplexum tagja, a *Fomitiporia mediterranea* patogént vizsgáltuk. A potenciális antagonista mikrogombák hatékonyságát forgalomban levő készítményekkel is összevetettük. A kísérlet célja a már szabadalom alatt álló *Trichoderma* készítmények termékpálya támogatása, továbbá a *Clonostachys rosea* saját izolátum lehetséges termékfejlesztésének megalapozása. A kísérletek elvégzéséhez szükséges gombákhoz a kutatócsoportunk epidemiológiai felmérései során gyűjtött mintákból és génbanki izolátumokból jutottunk hozzá. A lehetséges antagonista gombák hatékonyságát konfrontációs teszt segítségével mértük fel.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. Biológiai védekezés

2.1.1 A biológiai védekezés fogalma

A biológiai védekezés a parazitoid, ragadozó, patogén, antagonista vagy kompetitor populációk alkalmazása egy károsító populációjának mérséklése érdekében, melynek segítségével az általuk okozott károkat is csökkentjük. A biológiai védekezés számos károsítóra kiterjedhet, így a növénybetegségekre, rovarokra, gyomokra és akár gerincesekre is. Kialakulhat a populációk természetes kölcsönhatása és emberi beavatkozás útján is (Van Driesche és mtsai, 2012). Évszázadok óta ismerünk ilyen növényvédelmi módszereket, azonban a biológiai védekezés csupán a tizenkilencedik századra vált tudományosan elfogadottá. A korai módszerek általában állati kártevők elleni védekezésre irányultak a ragadozók betelepítése által, mely egyes esetekben sikeres voltak, más esetekben azonban kárt okoztak a helyi életközösségekben (Huffaker, 2012). A biológiai védekezésnek alapvetően négy formáját különíthetjük el. A klasszikus biológiai védekezés során egy nem honos károsító eredeti elterjedési területéről gyűjtött biokontroll ágenssel biztosítunk hosszútávú védekezést. A

konzervációs biológiai védekezés célja olyan stratégiák kidolgozása, amely a már fennálló biológiai védekezést erősíti. Ilyen módszer például az olyan növényvédő szerek kijuttatása, amely nem tesz kárt a BCA populációban, vagy olyan élőhely kialakítása, amely segíti a BCA fennmaradását, szaporodását vagy betelepülését. A természetes védekezésben nem szükséges növényvédő szer kijuttatása, amennyiben a természetes ellenségek egyedsűrűsége megfelelő. Az augmentatív védekezés során a BCA-kat tömegszaporítják és juttatják ki relatíve rövidtávú védekezés érdekében. Ezt elsődlegesen a növénypatogének és fonálférgek ellen alkalmazzák, de az ízeltlábú kártevők ellen is széles körben elterjedt módszer (Heimpel és Mills, 2017).

A sikeres, modern biológiai védekezéshez nemzetközi összefogás szükséges a kutatások terén. A biológiai védekezés egy olyan területe a növényvédelemnek, amely számos egyéb tudományterület eredményeit hasznosítja, mint az alkalmazott ökológia, etológia, genetika, populációdinamika és nem utolsósorban a taxonómia (Huffaker, 2012). A biológiai védekezés legújabb és egyben legszélesebb értelmezésében nemcsak a növényi kórokozók és kártevők elleni közvetlen antagonista hatásokat, hanem az élő szervezetek és származékaik alkalmazását is magában foglalja, melyek segítségével közvetett úton rezisztenciát alakíthatunk ki (Ons és mtsai, 2020).

2.1.2. Biológiai védekezés mikroorganizmusok segítségével

A növényvédőszer-maradék mentes élelmiszerek előállítása és a kialakuló energiaválság megköveteli, hogy a kultúrnövényeket minél kevesebb vegyszer kijuttatásával védjük meg a kórokozóktól (Sundh és mtsai, 2012). A növénybetegségek elleni biológiai védekezés során biokontroll ágenseket alkalmazunk, melyek általában gombák, baktériumok, vírusok, vagy ezek kombinációi. Ezeket a szervezeteket általában a rizoszféra vagy az endofiton populációkból izolálják, majd az ígéretesnek mutatkozókat tovább tesztelik *in vitro*. Természetesen az *in vitro* növekedésgátlás nem feltétlen határozza meg a BCA hatékonyságát, mivel számos egyéb hatásmódról is beszélhetünk (O'Brien, 2017).

A mikroorganizmusok segítségével kialakított védekezés egyik módja a rezisztencia kialakítása. A mikroorganizmusok általi, rezisztenciát indukáló ingereket MAMP-oknak (microbe-associated molecular pattern) nevezzük. Ezeket specifikus sejten kívüli receptorok ismerik fel és a növényi sejtekben molekuláris szignálútvonakat aktiválnak (Boller és Felix,

2009). Az így kialakuló védekezési mechanizmusok közé sorolható a reaktív oxigénformák, fitoalexinek, fenolvegyületek és patogenezishez kapcsolódó fehérjék termelése, illetve a fizikai határok kialakítása sejtfal- és kutikulamódosulások által (Wiesel és mtsai, 2014).

2.1.3. Az antagonizmus

Minden biotikus kölcsönhatást, amely negatív hatással bír a patogénekre, antagonizmusnak nevezünk (Feichtmayer, 2017). Köhl és munkatársai (2019) közvetett és közvetlen antagonista hatásmódokat különítenek el.

Közvetett antagonizmus – versengés a forrásokért

A BCA-k esetében a versengést a BCA és a patogén ökológiai fülkéje közötti átfedésként értelmezzük. Az antagonista általában hatékonyabban veszi fel a tápanyagokat, mint a patogén, így képes csökkenteni a patogén populációját (Lahlali és mtsai, 2022). Egyes mikroorganizmusok, mint az élesztők és baktériumok poliszacharid tokot képeznek, amely elősegíti a tapadásukat a gyümölcsök felületéhez, ezzel kiszorítva a patogéneket (Spadaro és Gullino, 2004). A versengésen alapuló BCA-k csökkentik a sebzés helyén rendelkezésre álló tápanyagokat, és megakadályozzák a kórokozókat a tápanyagfelvételben, így azok nem képesek csírázni, növekedni és megfertőzni a gazdanövényt (Lahlali és mtsai, 2022). A szénhidrátokon és nitrogénforrásokon kívül a vas is korlátozó tényező lehet a mikroorganizmusok növekedésében. Számos mikroba termel alacsony molekulású siderofórokat, melyek nagy affinitással rendelkeznek a vas ionokra nézve (van Loon, 2000). Ilyen vegyület például a *Rhodotorula glutinis* nevű élesztőgomba által termelt rodotorulsav, amely elősegítette az alma kékpenész (*Penicillium expansum*) elleni védekezést a szüret után (Calvente és mtsai, 2001).

Közvetlen antagonizmus

Hiperparazitizmus: Az élősködőkön élősködő szervezeteket hiperparazitáknak nevezzük (Agrios, 2005). A mikoparazitizmus pedig az a folyamat, amely során egy gomba egy másik gombán élősködik (Lahlali és mtsai, 2022). A biotróf mikoparazitizmus során a hiperparazita gomba hausztóriumok segítségével táplálkozik a gazdaszervezet elpusztítása nélkül. A nekrotróf hiperparaziták – főként sejtfalbontó enzimek termelésével – elpusztítják a gazdaszervezetet. Ezek az enzimek általában kitinázok, β -1,3-glükánázok és proteázok, a petesporás gombák hiperparazitái esetében pedig cellulázok (Jeffries, 1995). A leggyakrabban tanulmányozott mikoparaziták a *Trichoderma* és a *Clonostachys* nemzetségek tagjai. Ezen gombák antagonista törzsei változó gazdakörrel rendelkeznek. Megtapadásra és fertőzésre

alkalmas struktúrákat hoznak létre, majd sejtfalbontó enzimekkel elpusztítják a gazdaszervezetet, gyakran antimikrobiális hatású másodlagos anyagcseretermékekkel kombinálva. A hiperparazita szervezetek alkalmazásának előnye, hogy a rezisztencia kialakulásának kockázata alacsony, azonban ezek a mikróbák nagy mértékben függenek a környezeti feltételektől (Köhl és mtsai, 2019).

Antibiózis anyagcseretermékek által: Az antimikrobiális anyagcseretermékek a mikroorganizmusok által termelt szerves, kis molekulatömegű vegyületek heterogén csoportjába tartozó másodlagos metabolitok, amelyek káros hatással bírnak más mikroorganizmusok növekedésére vagy anyagcsere-tevékenységére (Thomashow és mtsai, 1997). Az antagonista gombák közül kiemelendők a *Trichoderma* és *Clonostachys* nemzetségek, melyek számos antimikrobiális anyagot termelnek, mint a gliovirin, gliotoxin, viridin (Ghorbanpour és mtsai, 2018). Az antibiotikumok a talajban nem stabilak. A biokontrollban használt organizmusok által termelt antibiotikus hatású anyagok felezési ideje a talajban 0,25 és 5 nap közé tehető (Arseneault és Filion, 2017).

Hipovirulencia: A patogén egy törzsének csökkent fertőzőképessége, melyet egy átvihető kettős szálú RNS okoz (Agrios, 2005). A *Hypoviridae* családba tartozó, gombákat fertőző vírusokat például sikeresen alkalmazzák a *Cryphonectria parasitica*, a gesztenyerák okozója ellen (Double és mtsai, 2018).

Egyéb metabolitok: Számos BCA termel olyan anyagcseretermékeket, amelyek gátolják a patogén növekedését és életfolyamatait. Ezen anyagcseretermékek közé tartoznak a lítikus enzimek, melyek képesek lebontani a polimervegyületeket, mint a kitin, cellulóz, hemicellulóz, fehérjék és a DNS (Heydari és Pessarakli, 2010).

Köhl és munkatársai (2019) szerint a különböző mikrobiális biokontroll ágensek hatásmódok szerinti elkülönítése nem mindig egyértelmű. A *Trichoderma* fajok például képesek antimikrobiális anyagcseretermékek termelésére, illetve a hiperparazitizmusra is. Ezen felül a *Trichoderma harzianum* T39-es törzse képes olyan proteázokat termelni, amelyek a patogének enzimeit (exo- és endogalakturonáz, pektin metil észteráz, pektát liáz, kitináz, β -1,3-glukanáz, kutináz) gátolják. A legtöbb BCA-t csupán egyetlen hatásmódra vizsgálják és az

engedélyeztetési eljárás során is a fő hatásmódot kell feltüntetni a Európai Bizottság 283/2013/EU alapján (European Commission, 2013).

2.2. A vizsgált antagonista szervezetek

2.2.1. *Trichoderma* törzsek

A biológiai védekezésben szinte leggyakrabban használt *Trichoderma* fajokat a világ minden részén megtaláljuk a talajban, korhadékban és egyéb növényi eredetű szerves törmelékben. A nemzetség tagjait gyors növekedés jellemzi és nagy mennyiségű, zöld színű konídiumot képeznek (Howell, 2003). Biokontroll aktivitásukat számos hatásmódon keresztül fejti ki, mint a parazitizmus, antibiózis és a versengés. Képesek a növény védelmi mechanizmusait is serkenteni (Sharon és mtsai, 2011). A *Trichoderma* fajok opportunisták, avirulens növény-szimbiontákra tekinthetők (Harman és mtsai, 2004). Egyes *Trichoderma* fajok endofiton életmódot is képesek folytatni. A mikoparazitizmus során a patogén hifájába hatoló haustóriumokat képeznek (Bailey és Melnick, 2013). Antagonista hatásukat lítikus enzimek termelésével is képesek kifejteni, melyek között találunk cellulózbontó enzimeket, exo- és endo- β -1,3-glükánázt, xylanázt, kitinázt, endo- és exokitinázt is (Sood és mtsai, 2020).

2.2.1.1. *Trichoderma afroharzianum* és *Trichoderma simmonsii*

A *Trichoderma afroharzianum* (korábban *T. harzianum* Rifai; TR04-es törzs) és a *Trichoderma simmonsii* (TR05-ös törzs) gombákat a Tokaji Borvidéken található tarcali régióban izolálták Furmint szőlőből (Kovács és mtsai, 2021). A *Trichoderma afroharzianum* és a *T. simmonsii* a MycoBank és az NCBI adatbázisa szerint az Ascomycota törzsbe, Hypocreales rend Hypocreaceae családba, a *Trichoderma harzianum* fajkomplexbe tartoznak. A *T. afroharzianum* konídiumtartói egymástól távol helyezkednek el és örvösen elágaznak. A *T. simmonsii* rendelkezik ivaros stádiummal is: először zöld, majd sötétbarna és fekete sztrómát képez (Chaverri és mtsai, 2015).

A TrichoImmun mikrobiológiai készítmény összetevői. A törzsek azonosítása ITS1 és 2 régiók, valamint *tef 1* szekvencia alapján történt. Növekedésük 30 °C-on a leggyorsabb. Ezen törzsek a „Biopeszticid gombatörzsek és készítmények” P1800012/18 szabadalom alá tartoznak. Több kórokozó ellen is bizonyított a biokontroll hatékonyságuk és a szőlőben kijuttatott peszticidekkel szemben is megfelelő toleranciát mutatnak (Kovács és mtsai, 2021).

2.2.1.2. BioGo

A BioGo egy kétkomponensű mikrobiológiai készítmény, amely Magyarországon termésnövelő szerként van engedélye. A szer gomba és baktérium komponensekből áll. A szerben található gombafajok a *Trichoderma asperellum* és a *T. harzianum*, míg a baktériumok *Azotobacter vinelandii* és a *Streptomyces albus*.

A *T. harzianum* Rifai a MycoBank és az NCBI szerint is a korábban tárgyalt *T. harzianum* fajkomplexbe tartozik. A gomba széles körben alkalmazott a különböző biokontroll, termésnövelő és biostimulátor készítményekben. Számos előnyös tulajdonsága igazolt, például a védekezési mechanizmusok indukálása és a növekedés serkentése (Rubio és mtsai, 2017).

A *T. asperellum* (CBS 433.97) tömlősgomba az NCBI és a MycoBank adatbázisa szerint az *Ascomycota* törzsbe, *Hypocreales* rend *Hypocreaceae* családba tartozik (Samuels és mtsai, 1999). Széles körben elterjedt biokontroll ágensnek számít, több növénybetegség ellen alkalmazzák. Optimális növekedési hőmérséklete 25-30 °C közé tehető. A fialidok szögletesen elágazó csigákba rendeződnek (Samuels és mtsai, 2010).

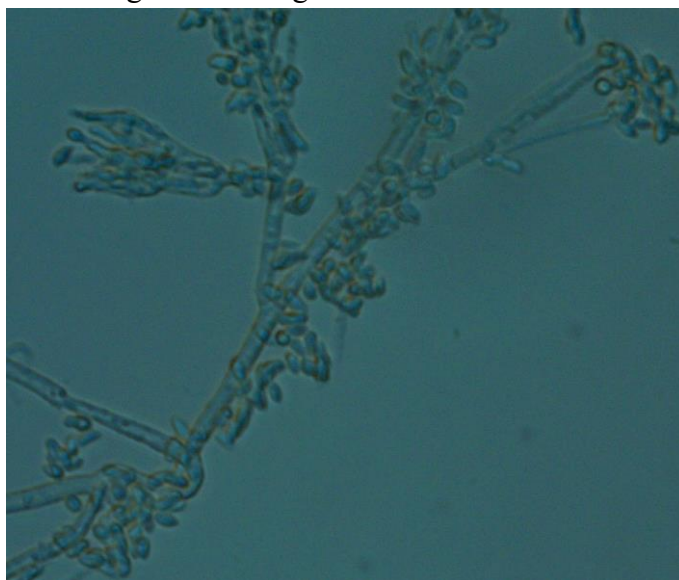
2.2.1.3. Trifender Pro

A Trifender Pro egy mikrobiológiai készítmény, amelynek Magyarországon termésnövelő szerként van engedélye. A készítmény *T. asperellum* gomba T34 (EP 1400586 B1 illetve CECT No. 20417 illetve NCAIM 200/2015) törzsét tartalmazza, melynek taxonómiai besorolása a fent említett fajjal megegyező. Ez a törzs az egyik legismertebb biokontroll aktivitása miatt. Számos talajból fertőző kórokozó ellen hatékornak bizonyult mint a *Fusarium oxysporum* és a *Rhizoctonia solani* (Segarra és mtsai, 2010; Trillas és mtsai, 2006). A telepek növekedését koncentrikus gyűrűzöttség jellemzi (Fernández és mtsai, 2017).

2.2.2. Clonostachys törzsek

A *Clonostachys rosea* az *Ascomycota* törzs, *Hypocreales* rend, *Bionectriaceae* családba tartozik a MycoBank és az NCBI adatbázisai szerint. Korábbi nevén *Gliocladium roseum* volt, azonban átsorolták a *Clonostachys* nemzetségbe (Schroers és mtsai, 1999). A *C. rosea* a világon széles körben elterjedt és gyakran kutatott mikoparazita. Törzseit változatos helyekről izolálták, leggyakrabban talajból, de megtalálták már többféle növényen is, mint az árpa, hagyma, szamóca, rózsa és kakaó (Sun és mtsai, 2020).

Életciklusa során konídiumot és klamidospórát képez. Telepei sötétben szürkésfehérek, világosban pedig sárga-narancssárga színűek. *Penicillium*-szerű “másodlagos” konídiumtartót (1. ábra) és *Verticillium*-szerű “elsődleges” konídiumtartót képez (Sutton és mtsai, 1997; Schroers és mtsai, 1999). A *C. rosea* sokféle kórokozó elleni biológiai védekezésben fontos szerepet játszik, többek között *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium* és *Sclerotinia* fajok ellen. Biokontroll aktivitása fonálférgek ellen is igazolt. A fő biokontroll hatásmódjai a sejtfalbontó



1. ábra: *Clonostachys rosea* penicillium-szerű konídiumtartója fénymikroszkóp alatt, 60x-os nagyítás

enzimek (kitináz, glükánáz, proteáz), antibiotikumok és toxinok termelése és a növényi rezisztencia indukálása (Sun és mtsai, 2020). A vizsgálatban két *C. rosea* faj szerepelt, az egyiket kutatócsoportunk szőlőből izolálta, míg a másik génbanki eredetű volt (CBS 337.29).

Forrás: saját fénykép

2.2.3. *Fusarium oxysporum*

A *Fusarium oxysporum* a MycoBank és az NCBI szerint az Ascomycota törzs, Hypocreales rend, Nectriaceae család, *Fusarium oxysporum* fajkomplexumba tartozik. A *F. oxysporum* a gyökérszónában gyakran megtalálható. Léteznek nem patogén törzsei, melyeket lehetséges BCA-ként alkalmazni. Kiemelendő azonban, hogy ezek a törzsek azon törzsek, amelyek az inokulált növényeken nem voltak képesek betegséget előidézni. A *F. oxysporum* nagyszámú patogén törzse ismert, melyek fajspecifitást mutatnak. Egyes törzsek képesek tracheomikózist és gyökérrothadást okozni, mások viszont csupán a gyökérbe hatolnak be, anélkül, hogy tüneteket idéznének elő (Fravel és mtsai, 2003). A szupresszív talajokban a nem patogén fuzárium törzsek antagonistaként viselkednek a patogén fuzáriumokkal szemben. A

„Crimson Sweet” görögdinnye fajta monokultúras termesztése például lehetővé teszi az antagonista fuzárium fajok felhalmozódását a talajban, melynek eredményeképp a fuzáriumos hervadás megjelenésének mértéke csökken, ahelyett hogy nőne (Agrios, 2005). Az antagonistának tekinthető, nem patogén fuzárium fajok rezisztenciát indukálnak a növényekben és versengenek a patogén fajokkal a szénforrásokért, illetve a fertőzési pontokért, ezzel csökkentve a betegségek megjelenését. A faj nagy genetikai variabilitása és széles gazdanövényköre miatt azonban alapos vizsgálatok szükségesek a használatukkal járó kockázatok felméréséhez (Sajeena és mtsai, 2020).

2.3. A vizsgált patogének

2.3.1. Oomycota

2.3.1.1. Aphanomyces cochlioides

Az *Aphanomyces cochlioides* Drechsler egy talajból fertőző petespórás gomba. A MycoBank szerint az Oomycetes törzs, Saprolegniales rend, Leptolegniaceae családba tartozik, az NCBI adatbázisa szerint az Oomycota törzs, Saprolegniales rend Saprolegniaceae családba tartozik (Drechsler, 1928). A cukorrépa csírapusztulását és gyökérrothadását okozza. Gazdanövényei közé tartozik még a spenót, mángold és egyéb vadon élő rokonaik is (Harveson és mtsai, 2007). Életciklusa során rövid ideig életképes és mozgásra képes zoospórát, illetve a hosszú ideig életképes nyugvó oospórát képez. A meleg és nedves talajokban a gyökérváladékok hatására az oospórák csírázni kezdenek és hifát képeznek, amellyel közvetlenül képesek megfertőzni a gyökeret. A hifa képes zoospórák képzésére is, melyek a talajban található víz segítségével a növény gyökeréhez úsznak, becsisztálódnak, csíráznak és megfertőzik a növényt. A fertőzés után a kórokozó megöli a gyökér szöveteit és a tünetek megjelennek (Dyer és Windels, 2003; Islam és mtsai, 2002). A fiatal növényekben csírapusztulást okoz, az idősebb növényeken elsősorban a leveleken figyelhetők meg a tünetek. A levelek sárgák és törékenyek, perzseléshez hasonló tünetekkel. A karógyökéren nedves léziók jelennek meg, melyek idővel kiszáradnak és elhalnak. Súlyos fertőzés esetén a kórokozó képes teljesen elpusztítani a karógyökeret (Windels és Lamey, 1998). A kísérletben felhasznált törzs a Fungal Biodiversity Centre (CBS) génbankjából származik (CBS 477.71).

2.3.1.2. *Pythium acanthophoron*

A gombát mai nevén *Globisporangium acanthophoron* Sideris-ként ismerik és mind a MycoBank, mind az NCBI adatbázisa szerint az *Oomycota* törzs, *Pythiales* rend *Pythiaceae* családba tartozik (Uzuhashi és mtsai, 2010). A telep világos és kör alakú, optimális növekedési hőmérséklete 30°C (Veterano és mtsai, 2018). Gazdanövényei a búza és rozs (Dewan és Sivasithamparam, 1988), ananász, bab, fenyőfajok. A gazdanövényeken levél- vagy gyökérrothadást okoz, azonban a legtöbb növénnel szemben gyenge patogénnek számít (Hall, 1991). A kísérletben felhasznált törzs ugyancsak a Fungal Biodiversity Centre (CBS) génbankjából származik (CBS 337.29).

2.3.2. *Ascomycota*

2.3.2.1. *Eutypa lata*

Az *Eutypa lata* (Pers) a Mycobank és az NCBI adatbázisa szerint az *Ascomycotas* törzs, *Xylariales* rend, *Diatrypaceae* családba tartozik. A patogén a szőlő fertőző tökepusztulás betegségkomplexumba tartozó betegséget, az eutipás elhalást okozza. A gomba a szekunder sejtfalban fejlődve üregeket képez (Larignon és mtsai, 2009). A gomba sebzéseken keresztül hatol be a növénybe, és a fás részeket fertőzi. Évek múltával megfigyelhetővé válik a betegségre jellemző ék alakú nekrózis a kordon és a szár keresztmetszetében (Guériun-Dubrana, 2013). A kórokozó gyakran megtalálható az egészséges tőkékben is, és egy eutipin nevű fenolvegyületet termel, melyet fitotoxikus vegyületként tartottak számon. Új kísérletek azonban azt igazolják, hogy a vegyület serkenti a növény védekezési reakcióit, és a betegség tünetei csak akkor alakulnak ki, ha a növény stressz alatt áll (Guan és mtsai, 2022).

2.3.2.2. *Memnoniella/Stachybotrys*

A kutatócsoportunk által izolált gomba ITS 1,2 szekvenálás alapján nem különíthető el egyértelműen, mivel egyezést mutat a *Stachybotrys chartarum*, *Memnoniella echinata* (*Stachybotrys echinata*) és a *Memnoniella longistipitata* gombákkal is. A *Memnoniella* a *Stachybotrys* szinonim nemzetsége. A Mycobank és az NCBI adatbázisa szerint az *Ascomycota*, törzs, *Hypocreales* rend, *Stachybotryaceae* családba tartozik.

Egyes *Stachybotrys* fajok, mint a *Stachybotrys chartarum*, tüdőbetegséget okozó mikotoxinokat termelnek és nedves környezetben gyakran előfordulnak akár beltérben is (Wang és mtsai, 2015). A gombát szójából, dohányból, árpából és egyéb, cellulózban gazdag növényi maradványokból is izolálták (Li és mtsai, 2002).

2.3.2.3. *Neofusicoccum parvum*

A *Neofusicoccum parvum* a MycoBank és az NCBI adatbázisai szerint az *Ascomycota* törzs *Botryosphaeriales* rend, *Botryosphaeriaceae* családba tartozik (Crous és mtsai, 2006) a botrioszfériás betegség egyik kórokozója a szőlő fertőző tőkepusztulás betegségkomplexumban. A fertőzött növények ágai elhalnak, vegetatív növekedésük csökken. Habár klorotikus foltok vagy alaki elváltozások is megfigyelhetők a leveleken, a betegség fő tünete a kordonkar szöveti elhalása és a szállítónyalábok elszíneződése (Fontaine és mtsai, 2016). A gomba telepe először fehér, majd 3-4 nap múlva a telep közepétől kiindulva olajszürkére vált. Vastag légmicéliumot képez (Pavlic és mtsai, 2009).

A kórokozó számos fitotoxint is termel, melyek a dihidrotolukinon, epoxilakton, dihidroizokumarin és hidroxibenzoészav vegyületcsoportokba tartoznak (Abou-Mansour és mtsai, 2015).

2.3.2.4. *Phaeoacremonium angustius*

A *P. angustius* a MycoBank és az NCBI adatbázisa szerint az *Ascomycota* törzs, *Toginiales* rend, *Toginiaceae* családba tartozik (Crous és mtsai, 1996). A gomba egy fás szövetet kolonizáló kórokozó (Gierl és Fischer, 2017). A *Phaeoacremonium* fajok a szőlő tőkepusztulás betegségkomplexum Petri-betegségével és az esca komplexummal is összefüggésbe hozhatók (Fontaine és mtsai, 2016).

2.3.2.5. *Phaeoacremonium griseorubrum*

A *P. griseorubrum* a MycoBank és az NCBI adatbázisa szerint az *Ascomycota* törzs, *Toginiales* rend, *Toginiaceae* családba tartozik (Mostert és mtsai, 2005). A gombát leggyakrabban oportunista humánpatogénként tartják számon, mely szubkután bőrbetegséget okoz (Arora és mtsai, 2018). A gomba ugyanakkor növénypatogénként is megjelenhet a fás szövetekben, ahol nekrotizist okoz. Gazdanövényei között szerepelnek a *Prunus* fajok (Damm és mtsai, 2008) és a szőlő (Essakhi és mtsai, 2008) is.

2.3.2.6. *Scytalidium circinatum*

A *S. circinatum* a MycoBank és az NCBI szerint *Ascomycota* törzs, *Leotiomycetidae* subcl., *Helotiales* rendbe tartozik (Sigler és Wang, 1990).

A *Scytalidium* fajokat fás szövetet lebontó gombaként tartják számon, azonban képesek kedvezőtlen körülmények között is megélni, például bányákban. Egyes fajok, mint a *S. album*

scytalidin nevű antibiotikumot is termelnek, amely tulajdonságuk miatt antagonistaként is vizsgálják őket (Held és mtsai, 2020).

2.3.2.7. *Truncatella angustata*

A vizsgált *Truncatella angustata* a MycoBank szerint az *Ascomycota* törzs, *Amphisphaerales* rend, *Sporocadaceae* családba, az NCBI szerint pedig az *Ascomycota* törzs, *Xylariales* rend, *Sporocadaceae* családba tartozik (Liu és mtsai, 2019). Szinonim neve a *T. truncata*. A gomba a szőlő fertőző tökepusztulásával hozható összefüggésbe. A szőlőtőke keresztmetszetében V alakú nekrosis figyelhető meg. A gomba PDA táptalajon piszkosfehértől barnáig terjedő telepeket hoz létre. Konídiumai négysejtűek (Arzanlou és mtsai, 2013). A gombát Kazahsztánban vadrózsán is megtalálták, melyen levélfoltosságot idézett elő (Eken és mtsai, 2009). Hollandiában a Topáz almafajtáról is izolálták, amelyen betakarítás utáni rothadást és léziókat idézett elő (Wenneker és mtsai, 2017). Iránban olívában is megtalálták, ahol szintén a gyümölcs rothadását okozta (Arzanlou és mtsai, 2012). A gomba (+)-6-hidroxiramulozin nevű fitotoxikus vegyületet is termel, ami a szőlőn nekrozist okoz, azonban paradicsom növényen nem okozott tüneteket (Cimmino és mtsai, 2022). A gomba fenazin-1-karboxilsavat is termel, amely antifungális hatást mutat a szőlő fertőző tökepusztulását okozó patogénnel szemben (Cimmino és mtsai, 2021).

2.3.3. *Basidiomycota*

2.3.3.1. *Fomitiporia mediterranea*

A *Fomitiporia mediterranea* M. Fisch. a MycoBank és az NCBI adatbázisa *Basidiomycota* törzs, *Hymenochaetales* rend, *Hymenochaetaceae* családba tartozik (Fischer, 2002). A *F. mediterranea* az esca betegség egyik fő kórokozója. Az esca betegségkomplexum legtipikusabb tüneti megjelenése a szőlő fás részeiben jelentkező nekrosis, illetve a levelek csíkossága (Bruno és Sparapano, 2007). A termőteste reszupinátus, kemény és fás, melynek széle sárgásbarna és ovális bazídiospórákat tartalmaz. Optimális növekedési hőmérséklete 30 °C-ra tehető. Laboratóriumi körülmények között nem spórázik. Széles gazdanövénykörrel rendelkezhet, gazdái közé tartozik a szőlő, babér, akác, azonban kevés növényen írták le, mivel a szőlő gazdasági jelentősége nagyobb (Moretti és mtsai, 2021).

3. Anyag és módszer

3.1. Konfrontációs vizsgálat

3.1.1. A patogének konfrontációs vizsgálata

A kísérletben felhasznált patogének szőlőmintákból lettek kitenyésztve, melynek fajmeghatározása riboszómális ITS 1 és 2 szakaszok elemzésével készült. A vizsgált patogének közül a *A. cochlioides* és a *P. acantophoron* génbanki eredetűek. A saját izolátumok a következők: *T. angustata*, *F. mediterranea*, *Memnoniella* sp., *N. parvum*, *S. circinatum*, *E. lata*. A *Phaeoacremonium* fajok az említett módszerrel csupán fajpárra voltak azonosíthatók, így ezek további identifikálásra szorulnak. Ebből kifolyólag a kísérletben a fajpár 1. táblázatban megnevezett tagját használjuk.

Fajpár tagjai	Használt név
<i>Phaeoacremonium angustius</i> <i>Phaeoacremonium viticola</i>	<i>Phaeoacremonium angustius</i>
<i>Phaeoacremonium griseorubrum</i> <i>Phaeoacremonium rubrigenum</i>	<i>Phaeoacremonium griseorubrum</i>

1. táblázat: A fajpárra azonosított *Phaeoacremonium* fajok kísérletben használt nevei

Forrás: saját táblázat

A tesztet PDA (Potato Dextrose Agar, Scharlau) táptalajon végeztük és a kontroll tenyészeteket is ezen a táptalajon készítettük. Dugófúró segítségével 0,5 cm átmérőjű korongot helyeztünk a patogén és az antagonista tiszta tenyészeiből a táptalajra egymástól 4 cm távolságra. Kontrollként a 0,5 cm átmérőjű telepet a Petri-csésze felezővonalának középpontjára helyeztük. A kísérlet előkészítését lamináris fülkében végeztük. A kísérletet háromszoros ismétléssel végeztük el. A kísérlet során 5 napon át 25°C –on, sötétben inkubáltuk a vizsgált mikroorganizmusokat. A telepek növekedését tolómérő segítségével az első naptól kezdve minden nap megmértük a Petri-csésze vízszintes felezővonala mentén és megfigyeltük a tesztorganizmusok egymásra gyakorolt hatását is.

A lassú növekedésű patogénjeink esetében módosítottuk a módszert. A patogén 0,5 cm átmérőjű telepét PDA táptalajra helyeztük a Petri-csésze vízszintes felezővonala mentén, a

középponttól 1,5 cm-re. A kísérletet a statisztikai értékelés pontosítása érdekében ezen patogének esetében négyszeres ismétléssel végeztük. A patogéneket 25°C –on, sötétben inkubáltuk, amíg a telep a középpontot el nem érte, majd a patogéntől 3 cm-re lehelyeztük az antagonista szervezetet is. Ezt követően minden nap megmértük a telepek átmérőjét.

3.1.2. A konfrontációs teszt értékelése és statisztikai analízis

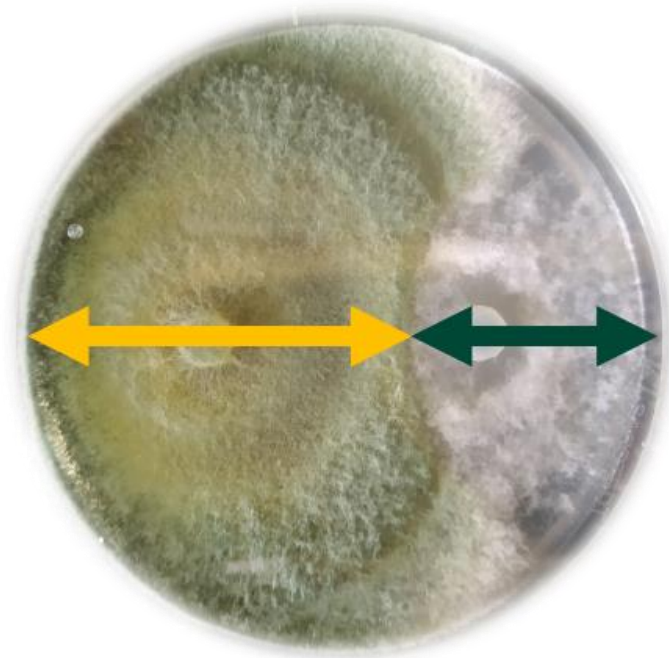
A mérések közül a 4. és 11. napot választottuk ki. A gyorsan nöövő patogének esetében a kísérlet az indítástól számított 4. napon véget ért. A gyorsan nöövő *Scytalidium circinatum* esetében a telepeket a 11. napon is megmértük.

A konfrontációs tesztek megvizsgáltuk fénymikroszkóp (Zeiss Axio Imager A1, Zeiss AxioCam Mrc5) alatt is és a hiperparazitizmust fényképekkel dokumentáltuk.

A konfrontációs teszt értékelését BCI (Biocontrol Index) (módosított Szekeres és mtsai, 2006), melyet a 2. ábra is szemléltet, és I% (inhibíció) (Bouanaka és mtsai, 2021) kiszámításával végeztük a következő képletek szerint:

$$BCI\% = \frac{dhorAntagonista}{(dhorAntagonista + dhorPatogén)} \times 100$$

$$I\% = \left(1 - \left(\frac{dhorPatogén}{dhorPatogénkontroll} \right) \right) \times 100$$



2. ábra: A BCI % kiszámítása

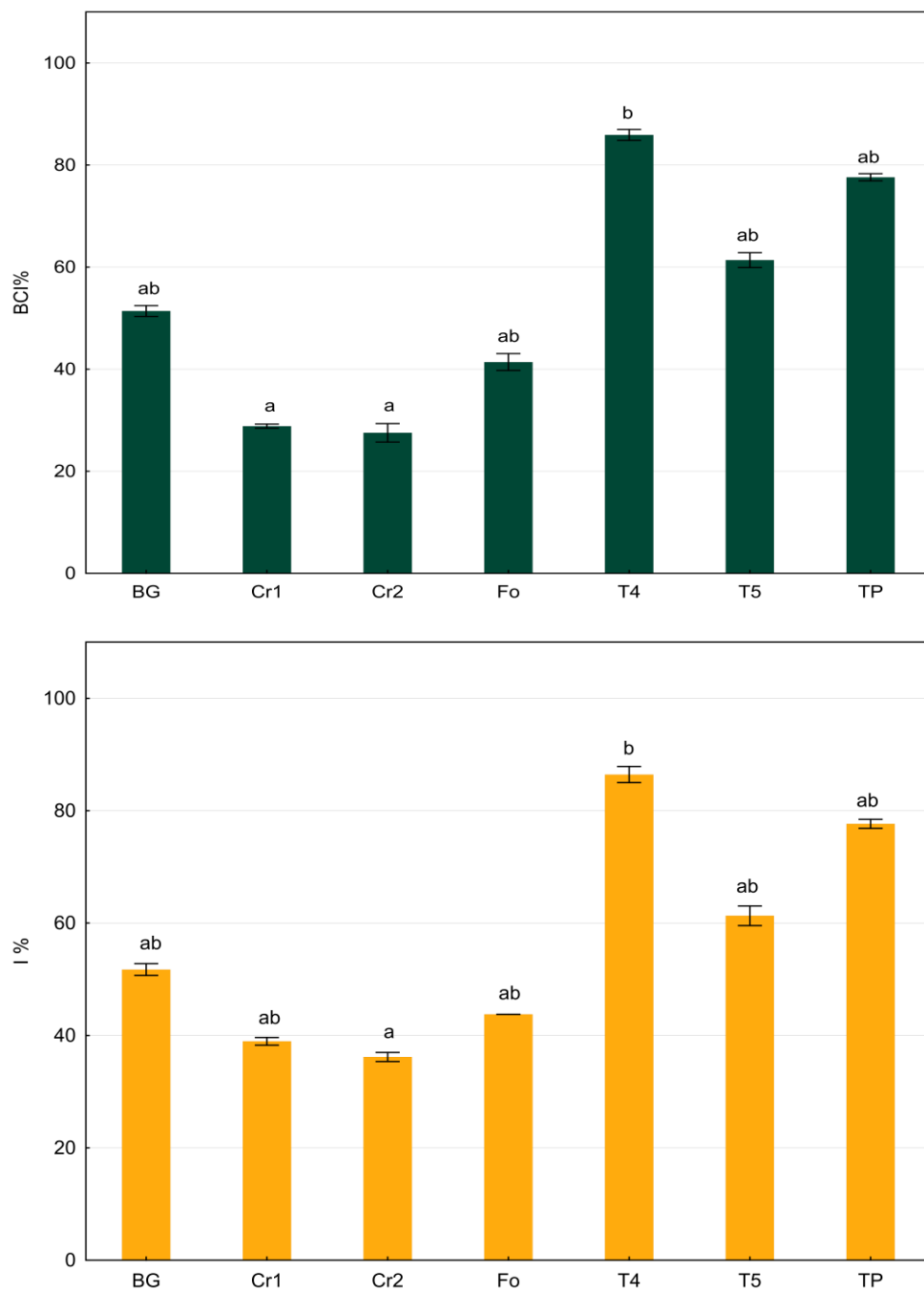
Forrás: saját szerkesztés

A számításokat és értékeléseket Microsoft Office Excel 2016 és Statistica 10 (Statsoft) szoftverek segítségével végeztük. A statisztikai elemzés során pedig a nemparametrikus Kruskal-Wallis (KW) próbát alkalmaztuk, ugyanis adataink nem voltak normál eloszlásúak. A páronkénti statisztikai eltéréseket Mann-Whitney U-teszttel (MW-U) mutattuk ki.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. A gyors növekedésű patogének konfrontációs vizsgálata

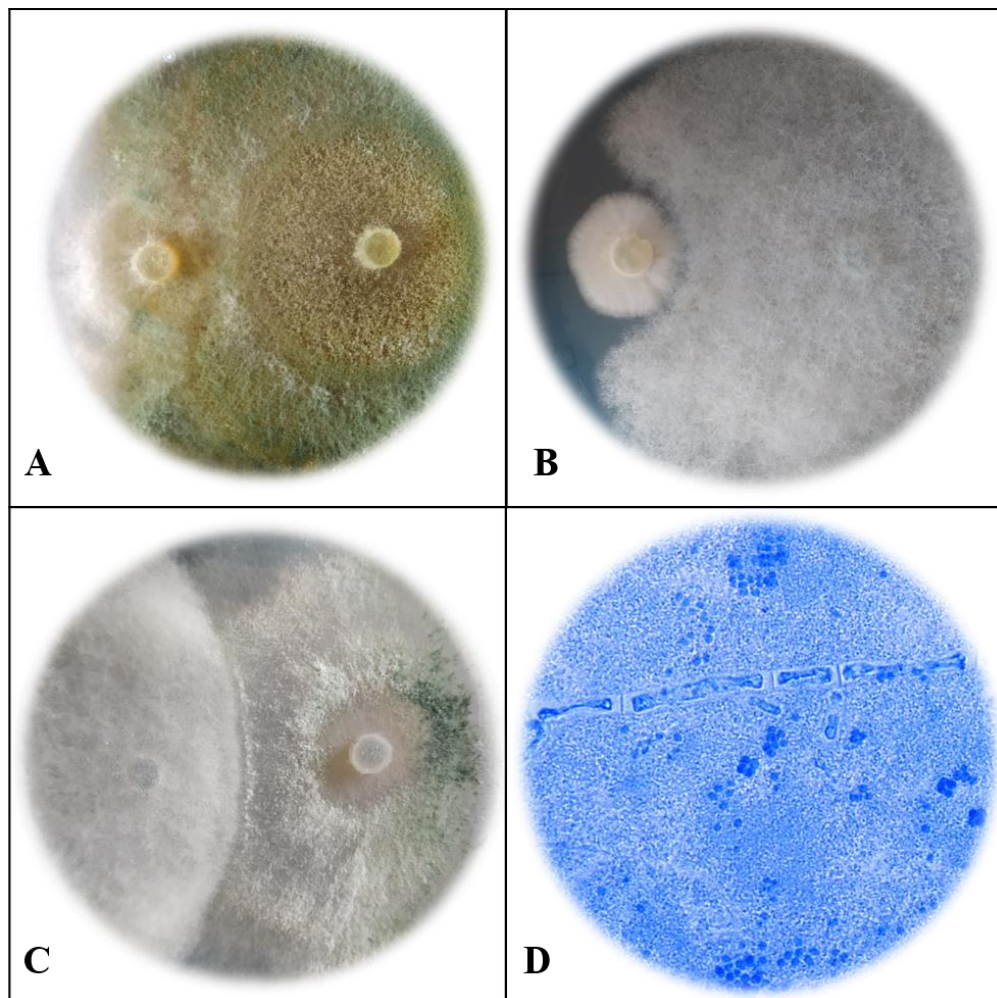
4.1.1. *Aphanomyces cochlioides*



3. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága az *A. cochlioides* ellen (Átlag±SE, n=3)

Forrás: saját ábra

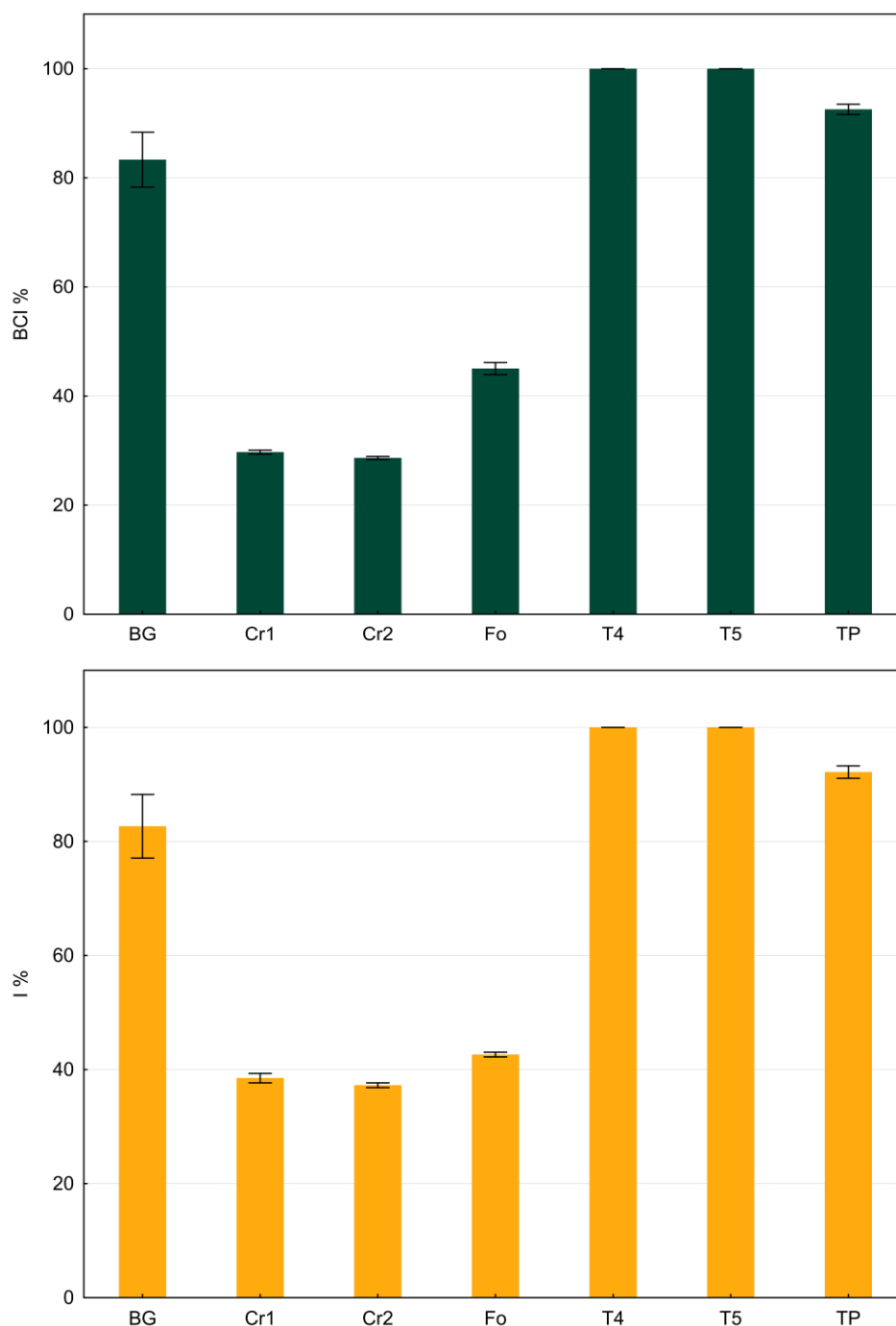
Statisztikai értékelésünk során megállapítottuk, hogy az *A. cochlioides* petespórás gomba ellen a *Trichoderma* törzsek voltak a leghatékonyabbak, melyek közül kiemelkedő a T4 teljesítménye (3. ábra). A Mann-Whitney U-teszt (MW-U) eredményeit betűk jelölik. A Kruskal-Wallis teszt H értéke a BCI% esetében 19,3234, I% esetében pedig 19,6521, a p érték pedig 0,0037 és 0,0032 volt. A *Trichoderma* törzsek erősen spóráztak a patogénen, a mikoparazitizmust mikroszkóp alatt is megfigyeltük. A spórázást megfigyelhetjük a 4. ábra A képen, a sejtfalbontást pedig a D kép szemlélteti. A BioeGo nem mutatott a többi törzshöz hasonló hatékonyságot, azonban a statisztikai különbség nem volt kimutatható az alacsony ismétlésszám miatt. A kimondottan lassú növekedésű *Clonostachys* törzsek gyenge hatékonysággal bírtak, azonban a telepek határvonalán feltisztulást figyeltünk meg, amely fungisztatikus hatásra utal. A *Fusarium oxysporum* gyenge biokontroll aktivitást mutatott, a patogén képes volt rá nőni.



4. ábra: Az *A. cochlioides* konfrontációs tesztje A – T4; B – Cr1; C – BG; D – T5 fénymikroszkópos képe 40x-es nagyítás

Forrás: saját ábra

4.1.2. *Pythium acantophoron* (*Globisporangium acanthophoron*)

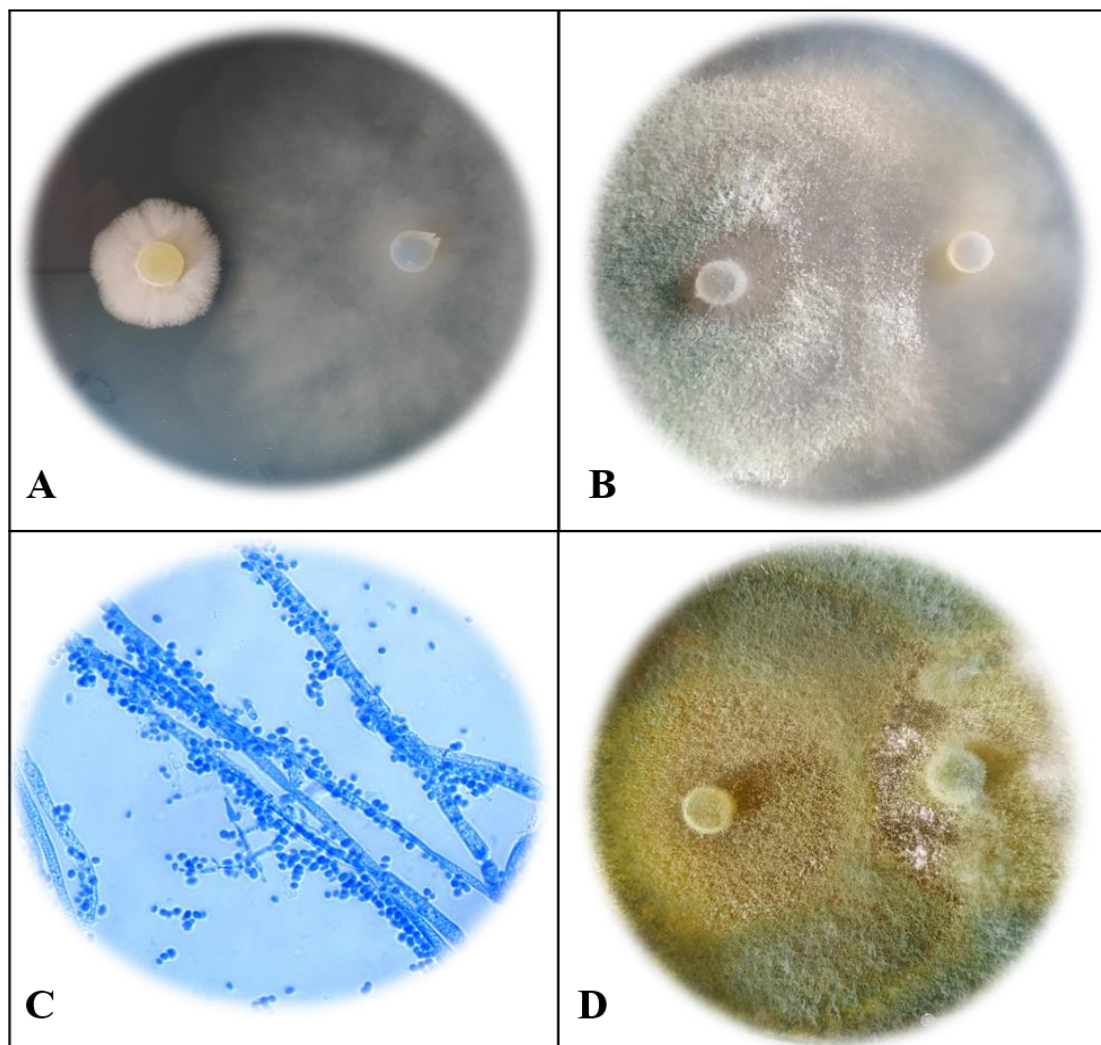


5. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága *P. acantophoron* ellen (Átlag $\pm$ SE, n=3)

Forrás: saját ábra

A *P. acantophoron* petespórás gomba esetében végzett konfrontációs vizsgálatban a Kruskal-Wallis teszt H értéke a BCI% és I% esetében 19,5925, illetve 19,5642 volt, p értéke pedig 0,0033 volt mindkét esetben. A MW U-teszt elvégzésekor nem találtunk statisztikai különbséget, mely az alacsony ismétlésszámnak tudható be. A *Trichoderma* törzsek mutatták a

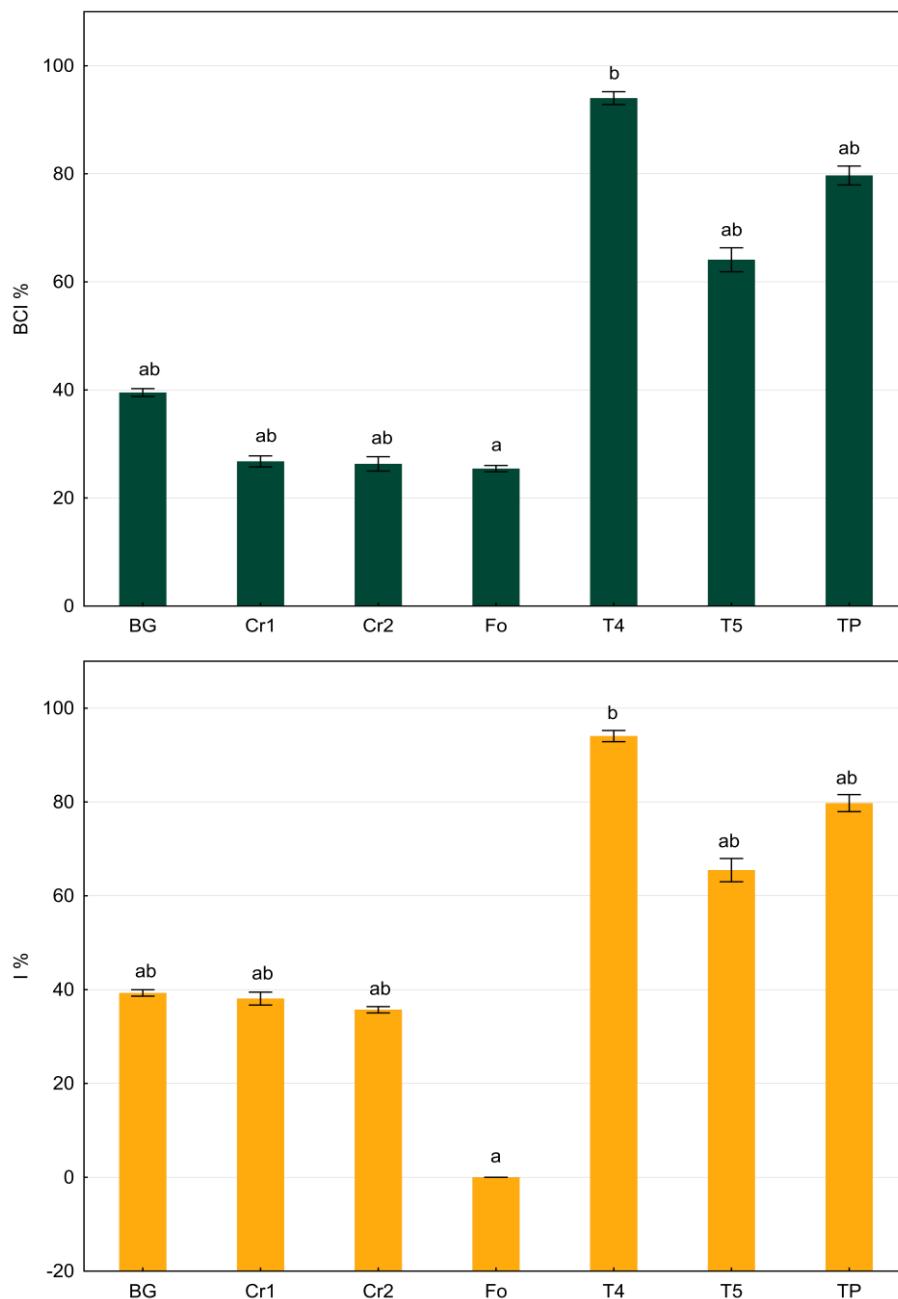
legnagyobb biokontroll aktivitást (5. ábra). A leghatékonyabbak a T4 és T5 voltak, majd ezt követték az ipari sztenderdek, a BG és a TP. A 6. ábrán jól kivehető a különbség a BioeGo és a T4 között, ahol a T4 a 4. napra maximális fungicid hatást mutatott. A Fo esetében azt tapasztaltuk, hogy a patogén képes volt ránőni. A *Clonostachys* törzsek hatékonysága meglehetősen gyenge volt, ugyanakkor a patogénnel szemben fungisztatikus hatást mutatott és feltisztulást figyeltünk meg a telepek határán.



6. ábra: A *P. acanthophoron* konfrontációs tesztje A – Cr1; B – BG; C –a patogén vs. T4 fénymikroszkópos képe 40x-es nagyítás ; D – T4

Forrás: saját ábra

4.1.3. *Neofusicoccum parvum*

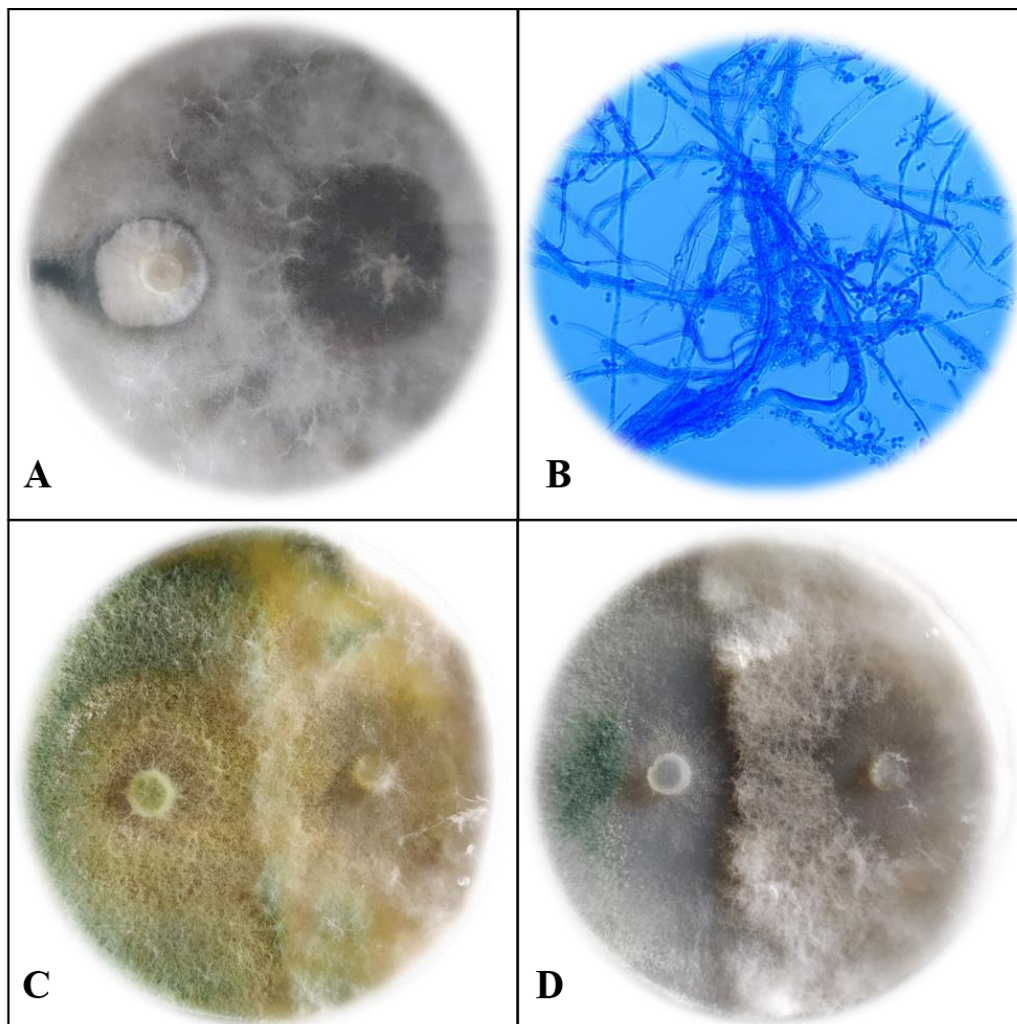


7. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága *Neofusicoccum parvum* ellen (Átlag±SE, n=3)

Forrás: saját ábra

A *N. parvum* növekedése a vizsgált patogének közül a leggyorsabb volt. Statisztikai értékelésünk alapján a T4 mutatta a legnagyobb biokontroll aktivitást, amelyet a 7. ábra szemléltet. A MW U-teszt eredményeit betűk jelölik. A KW-teszt H értéke a BCI% esetében 18,3896, az I% esetében pedig 19,1514, p értéke 0,0053 és 0,0039. A vizsgált *C. rosea* törzsek fungisztatikus hatást mutattak (8. ábra). A telepek határvonalán a patogén nektrózist is

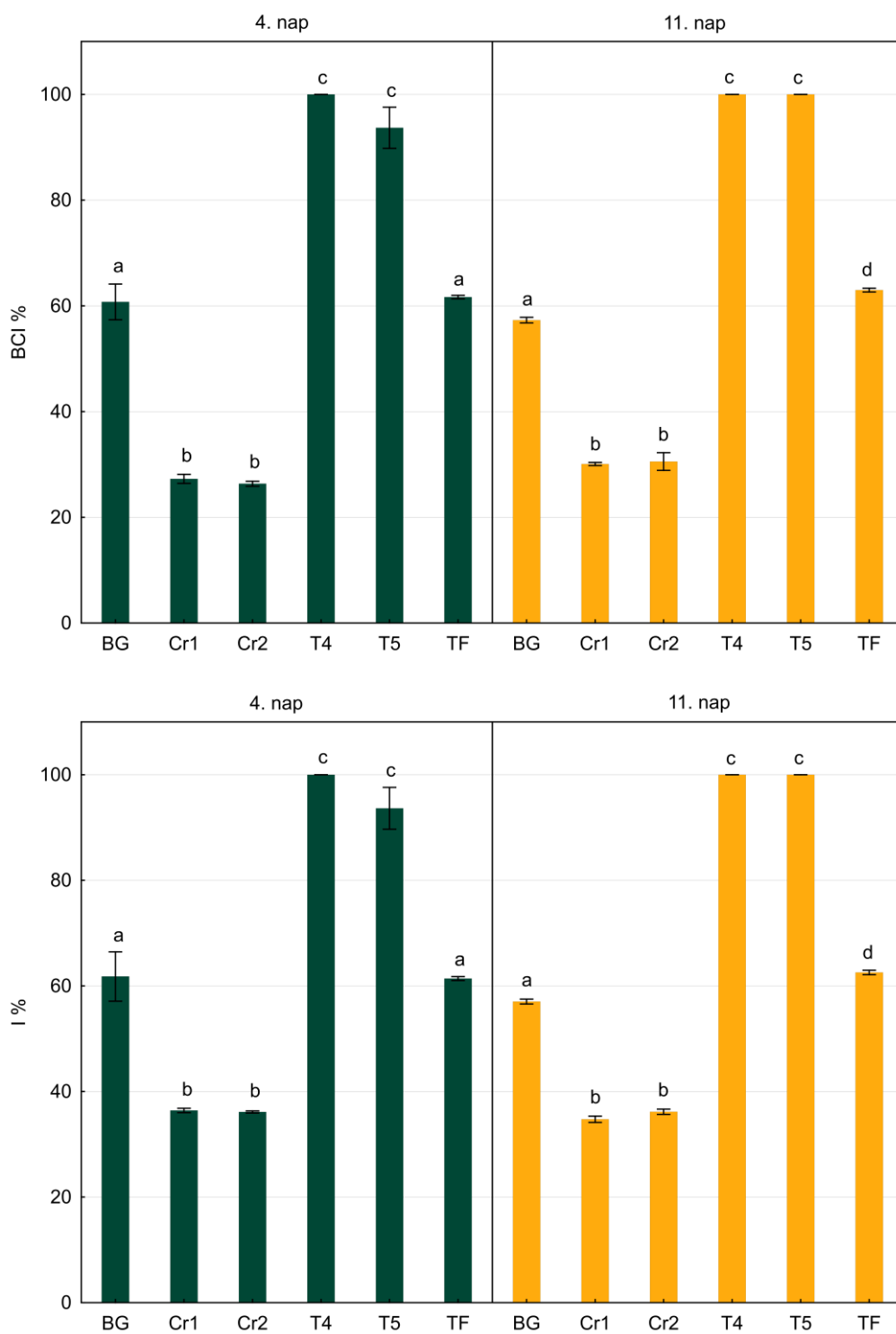
megfigyeltük. A Fo esetében viszont ez nem volt megfigyelhető és a patogén képes volt rá nőni. A az ipari sztenderd *Trichoderma* készítmények, a BG és a TP csak kisebb mértékben voltak hatékonyak ellene.



**8. ábra: A *N. parvum* konfrontációs tesztje A – Cr1; B – a patogén vs. T5
fénymikroszkópos képe 40x-es nagyítás; C – T4 ; D – BG**

Forrás: saját ábra

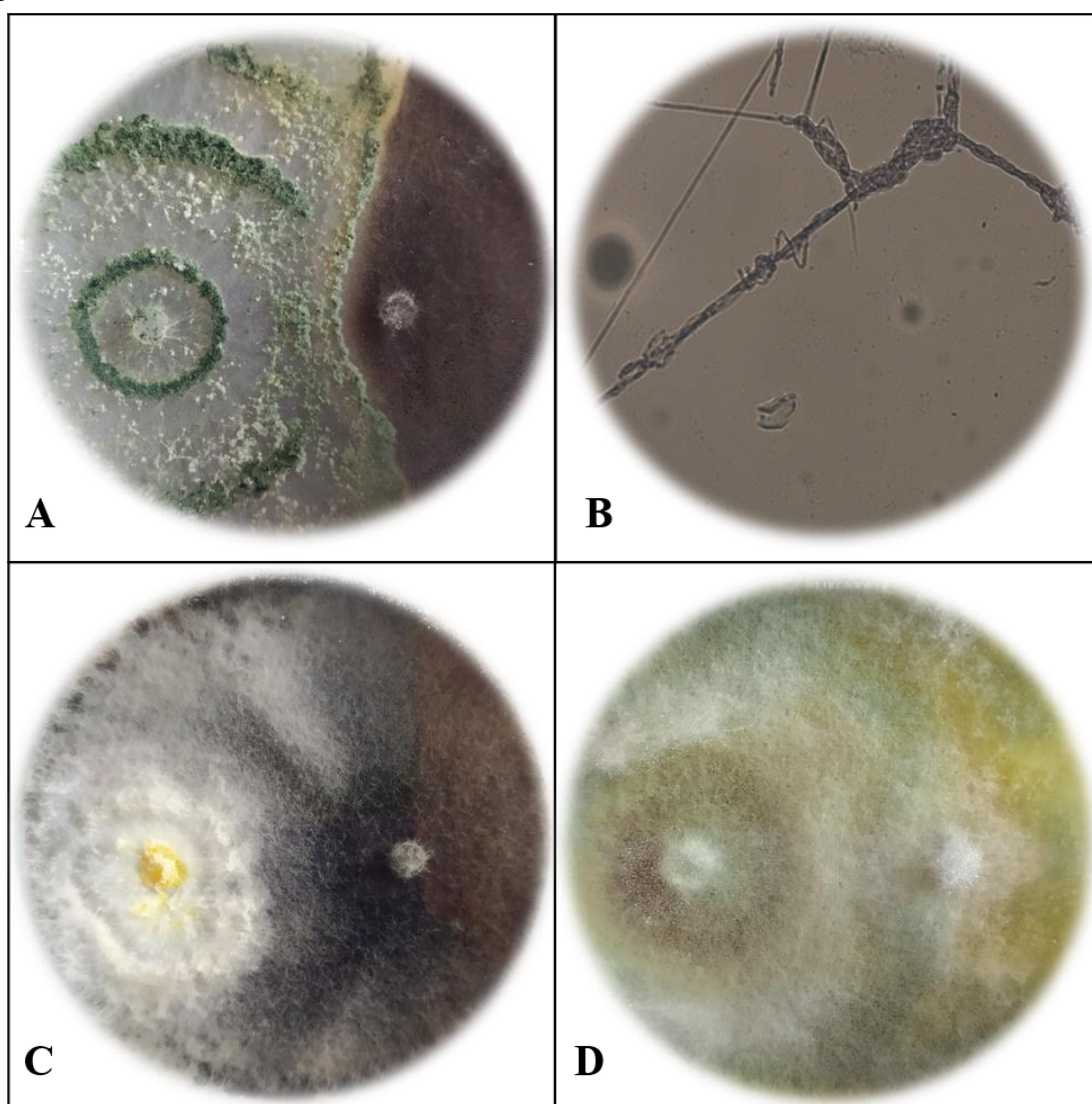
4.1.4. *Scytalidium circinatum*



9. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága *Scytalidium circinatum* ellen (Átlag±SE, n=4),

Forrás: saját ábra

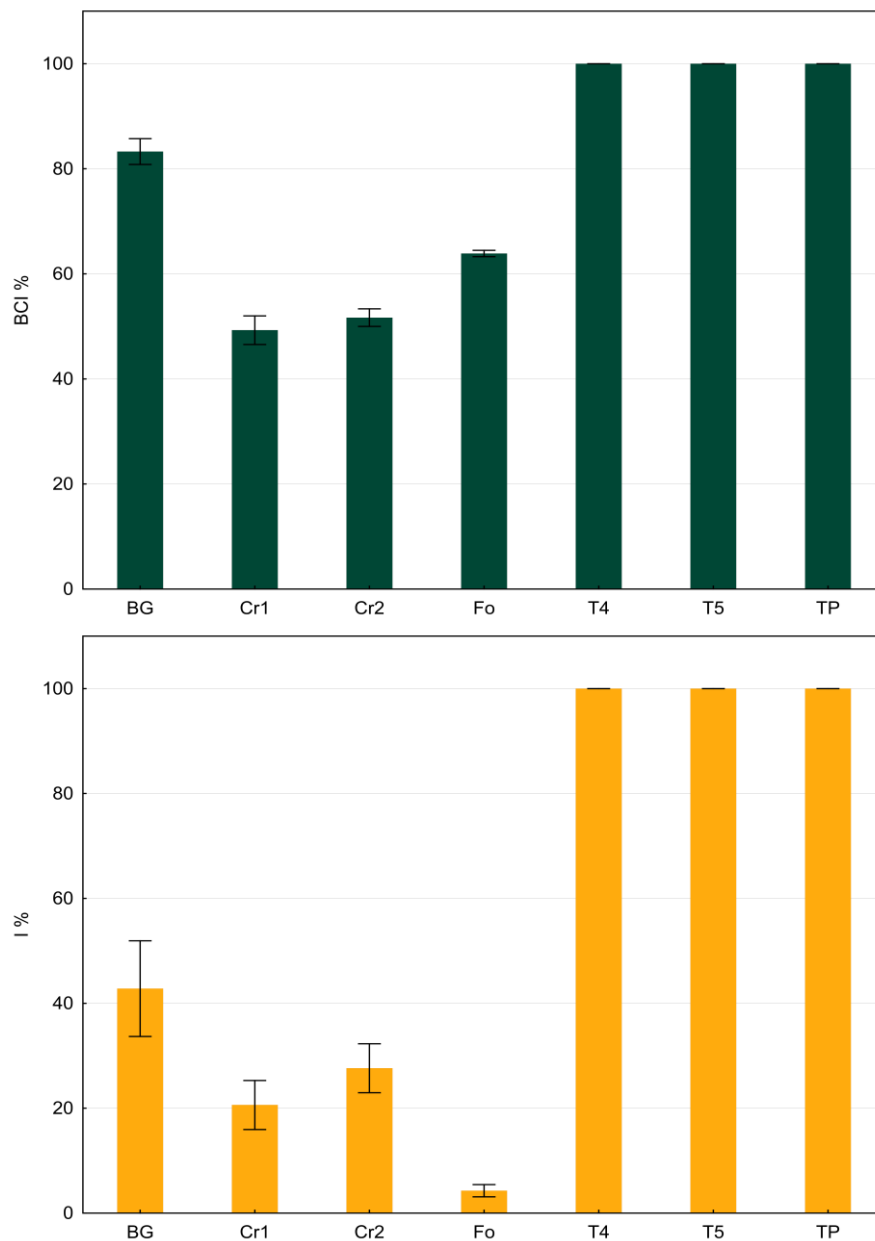
A MW U-teszt alapján szignifikánsan eltér a vizsgált antagonisták biokontroll aktivitása, melyet a 9. ábrán betűk jelölnek. A KW-teszt H értéke a BCI% esetében 45,0461, az I% esetében pedig 44,7218 volt, p értéke pedig rendre 0,00000 és 0,00001. A leghatékonyabbnak a T4 és a T5 bizonyultak mivel már a 4 napra nagyfokú parazitizmust mutattak, míg az ipari sztenderdek teljesítménye kis mértékű volt. A 11. napon is megmértük a telepeket, mivel az ipari sztenderdek egy adott határvonal mentén megálltak a növekedésben és a kísérlet felszámolásáig nem, vagy csak kis mértékben voltak képesek növekedni. Ezt a 10. ábra is alátámasztja. A *Clonostachys* törzsek nem mutattak parazitizmust, azonban fungisztikus hatásuk volt.



10. ábra: A *S. circinatum* konfrontációs tesztje A – TP 11.napon; B – T5 hiperparazitizmus fénymikroszkóp alatt 40x-es nagyítás; C – Cr1 ; D – T4 a 4. napon

Forrás: saját ábra

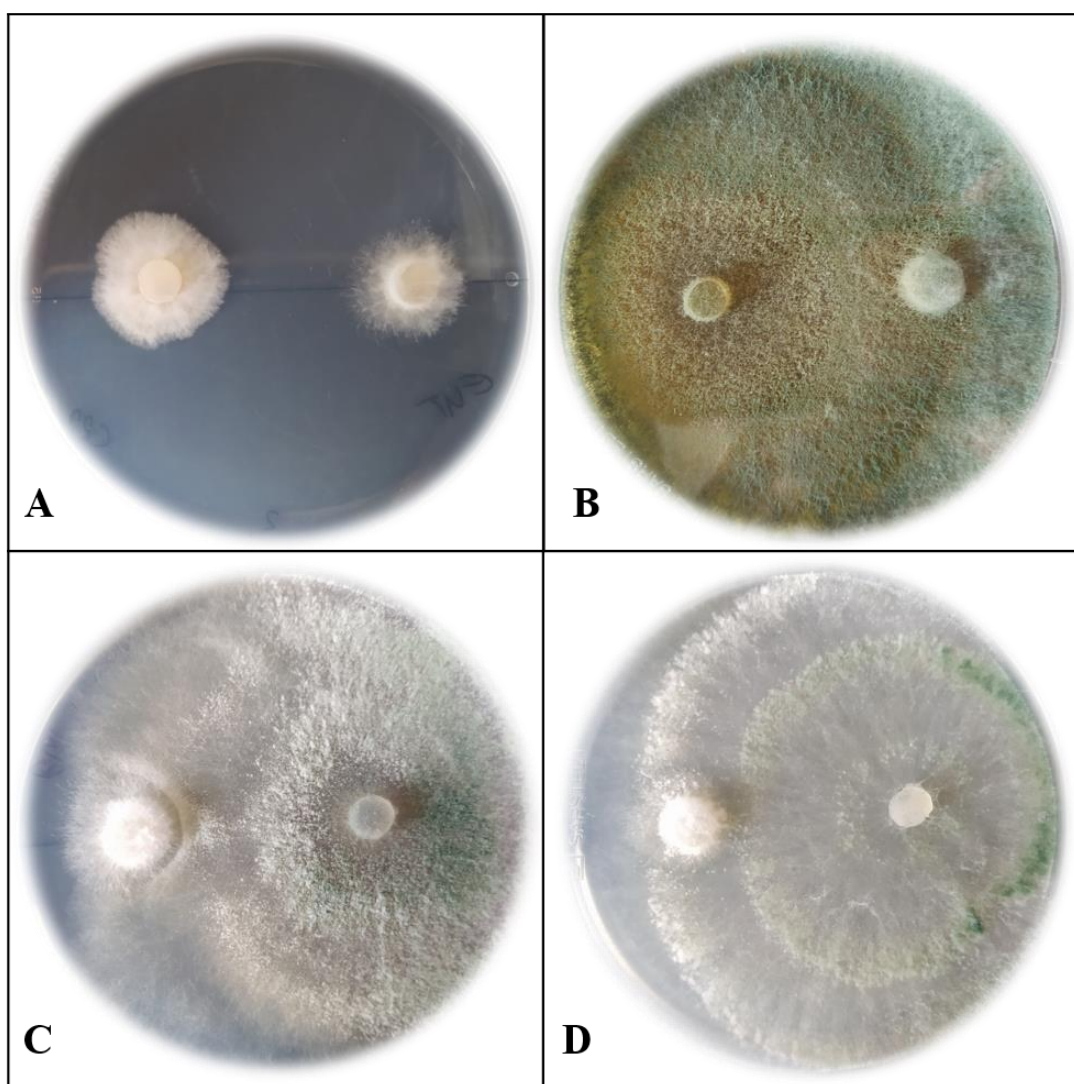
4.1.5. *Eutypa lata*



11. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága *Eutypa lata* ellen (Átlag $\pm$ SE, n=3),

Forrás: saját ábra

Habár a KW teszt eredménye szignifikáns eltérést mutat (H érték a BCI % esetében 19,5393, I% esetében 19,1514, p értéke 0,0033 és 0,0039), feltételezhetően az alacsony ismétlésszám miatt a páronkénti összevetés során nem állapítható meg statisztikai különbség (11. ábra). Az *Eutypa lata* ellen kiváló hatékonyságot mutatott a T4, T5 és TP. A BG a 4. napra sem volt képes teljesen ránőni a patogénre. A Cr 1 és 2, illetve a Fo gyenge hatékonysága annak is köszönhető, hogy lassú növekedésük miatt nem találkozott a két gomba a 4. napra (12. ábra).

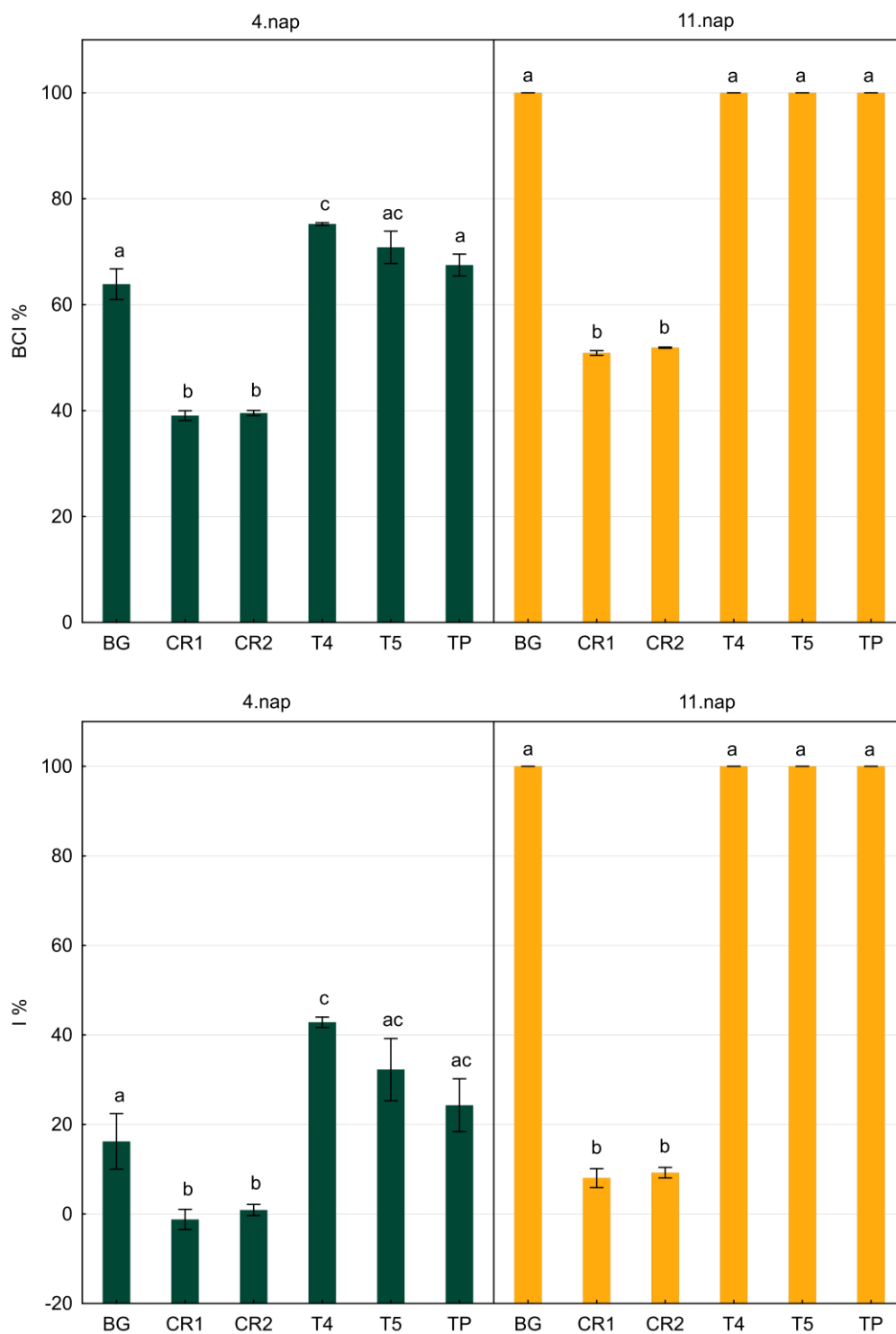


12. ábra: Az *E. lata* konfrontációs tesztje A – Cr2; B – T5; C – BG; D – TP

Forrás: saját ábra

4.2. A lassú növekedésű patogének konfrontációs vizsgálata

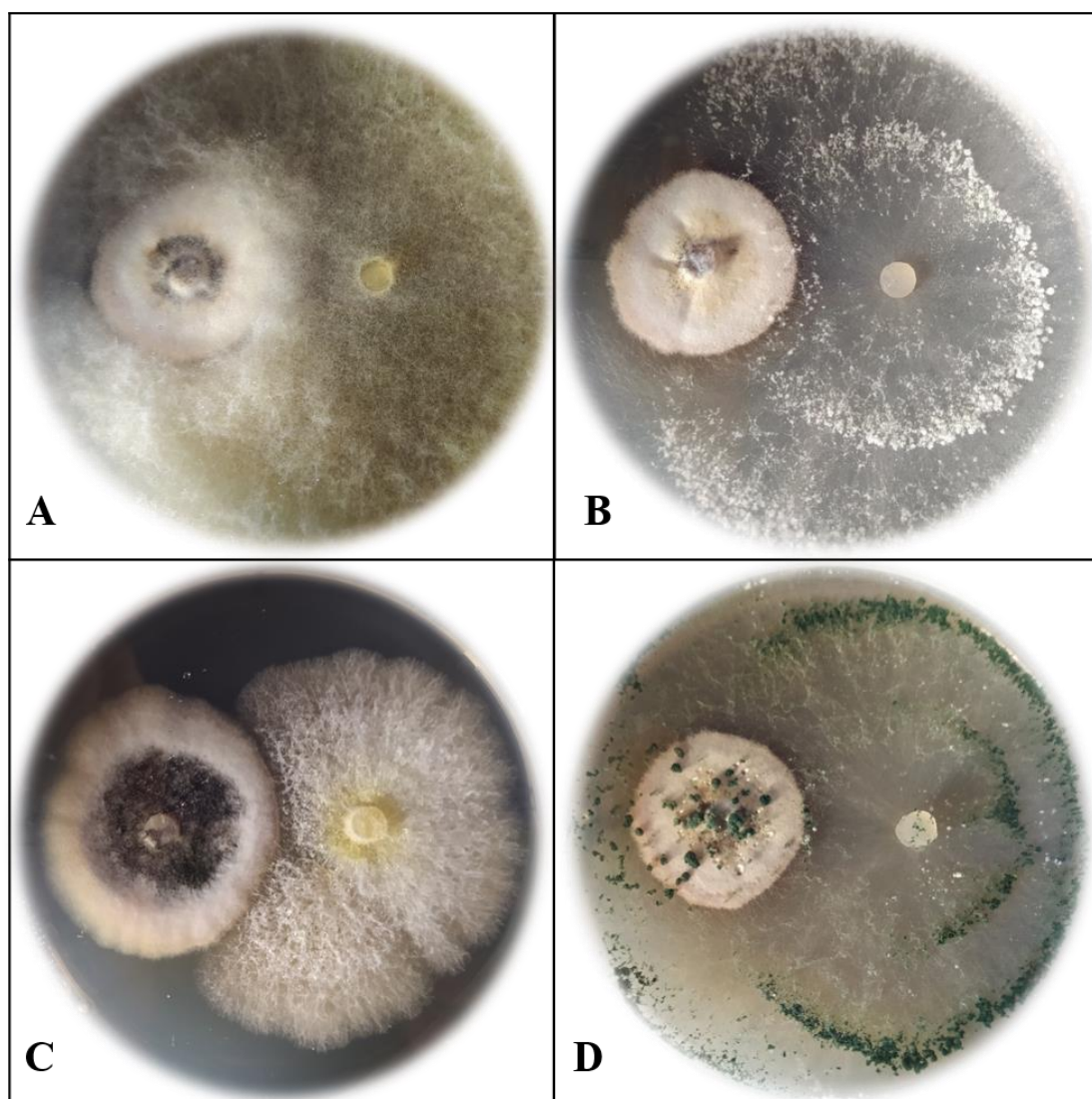
4.2.1. *Memnoniella*



13. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága *Memnoniella* ellen (Átlag±SE, n=4),

Forrás: saját ábra

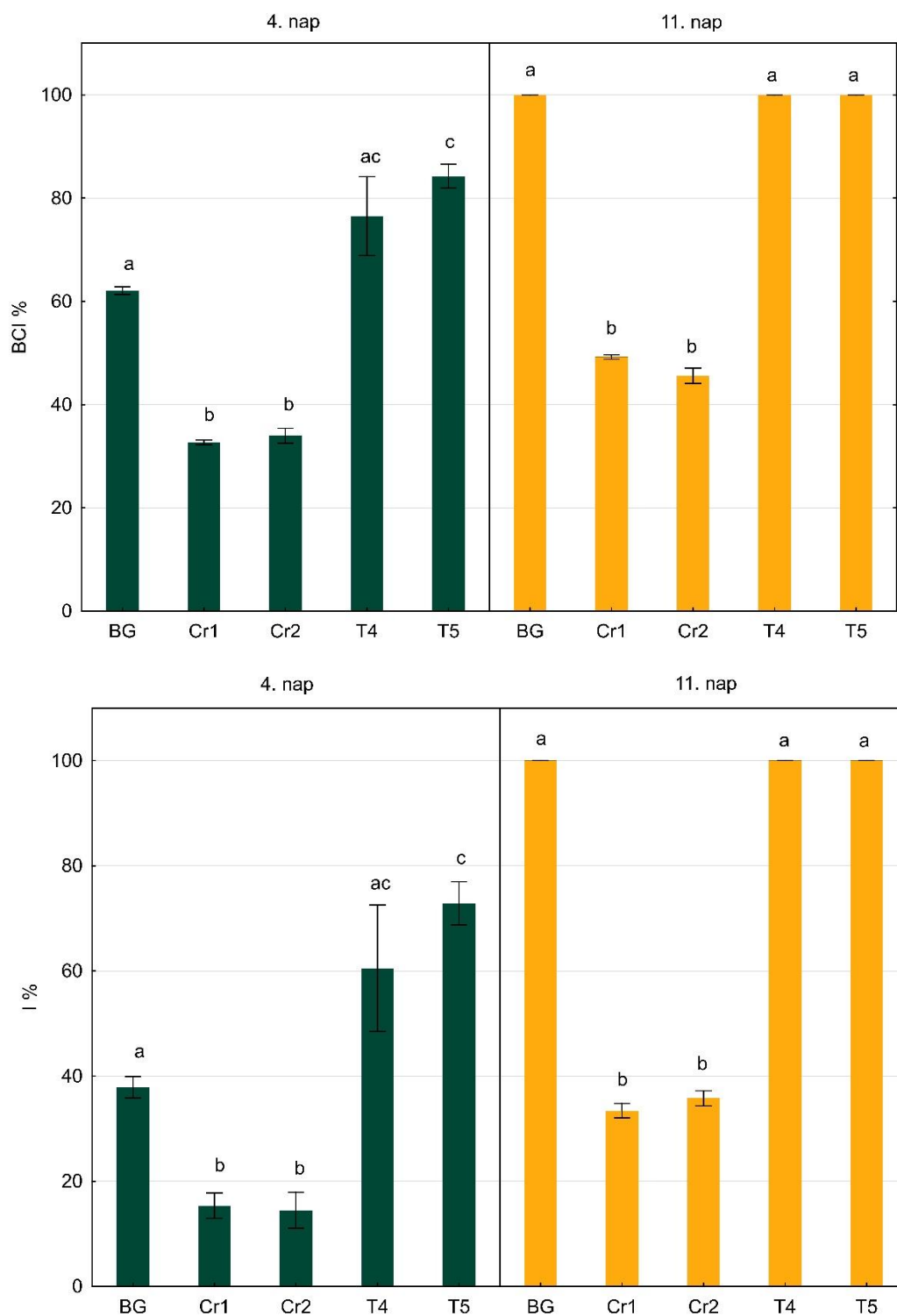
A *Memmoniella* fajjal szemben a *Trichoderma* készítmények voltak a leghatékonyabbak (13. ábra). A MW U-teszt eredményeit a diagramon betűk jelzik. A KW-teszt H értéke a BCI% esetében 45,9536, az I% esetében 45,0715 volt, p értéke mindkét esetben 0,00000 volt. A 4. napon a T4 bírt a legjobb teljesítménnyel, a 11. napra viszont a BG, T5 és a TP is 100%-os hatékonyságot mutattak. A CR törzsek nem nőttek rá a patogénre és feltisztulást figyeltünk meg (14. ábra). Az I% negatív értéke a CR esetében annak tudható be, hogy a telepek nem értek össze és az antagonista nem volt képes kiszorítani a patogént.



14. ábra: A *Memmoniella* konfrontációs tesztje A – T4 4. napon; B – TP 4. napon; C – Cr1 a 11. napon; D – TP a 11. napon

Forrás: saját ábra

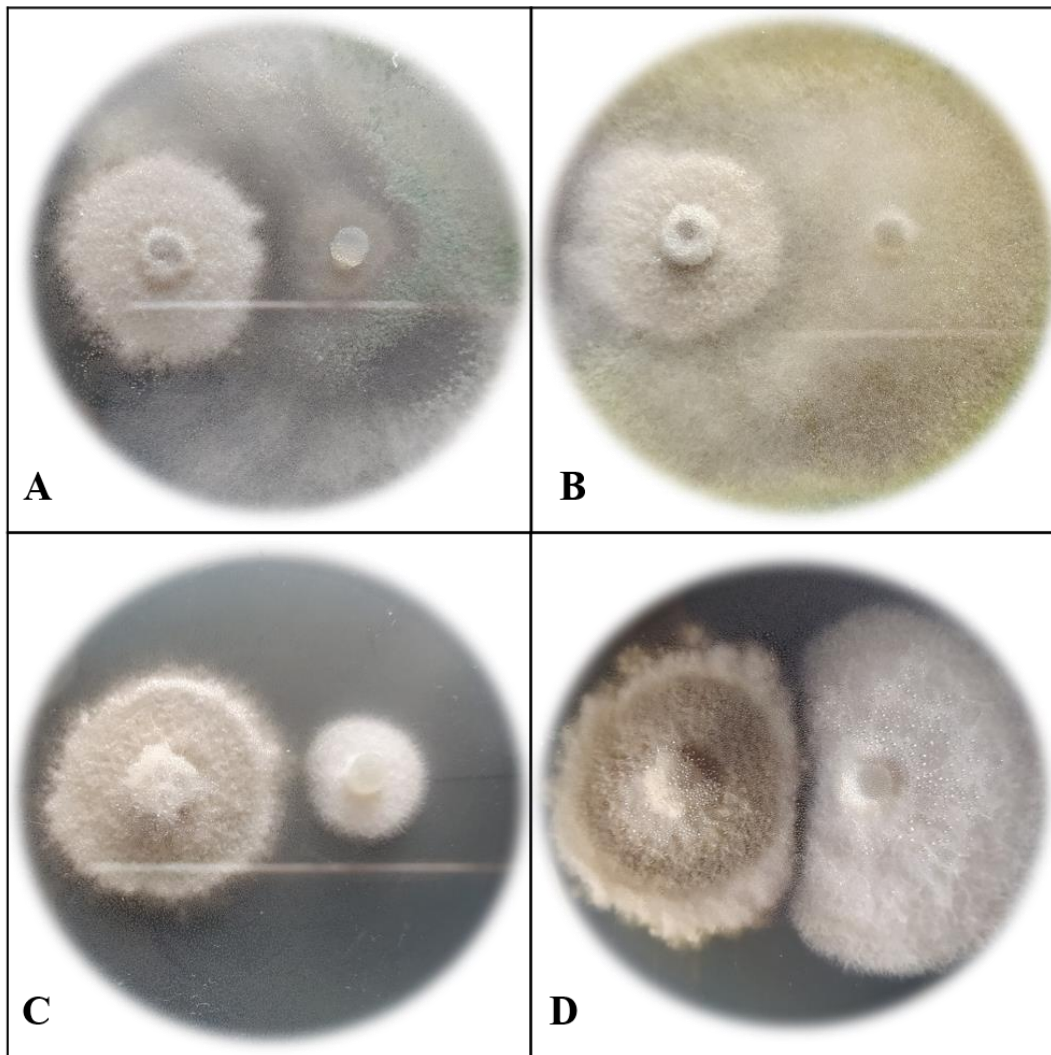
4.2.2. *Truncatella angustata*



15. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága *Truncatella angustata* ellen (Átlag±SE, n=4),

Forrás: saját ábra

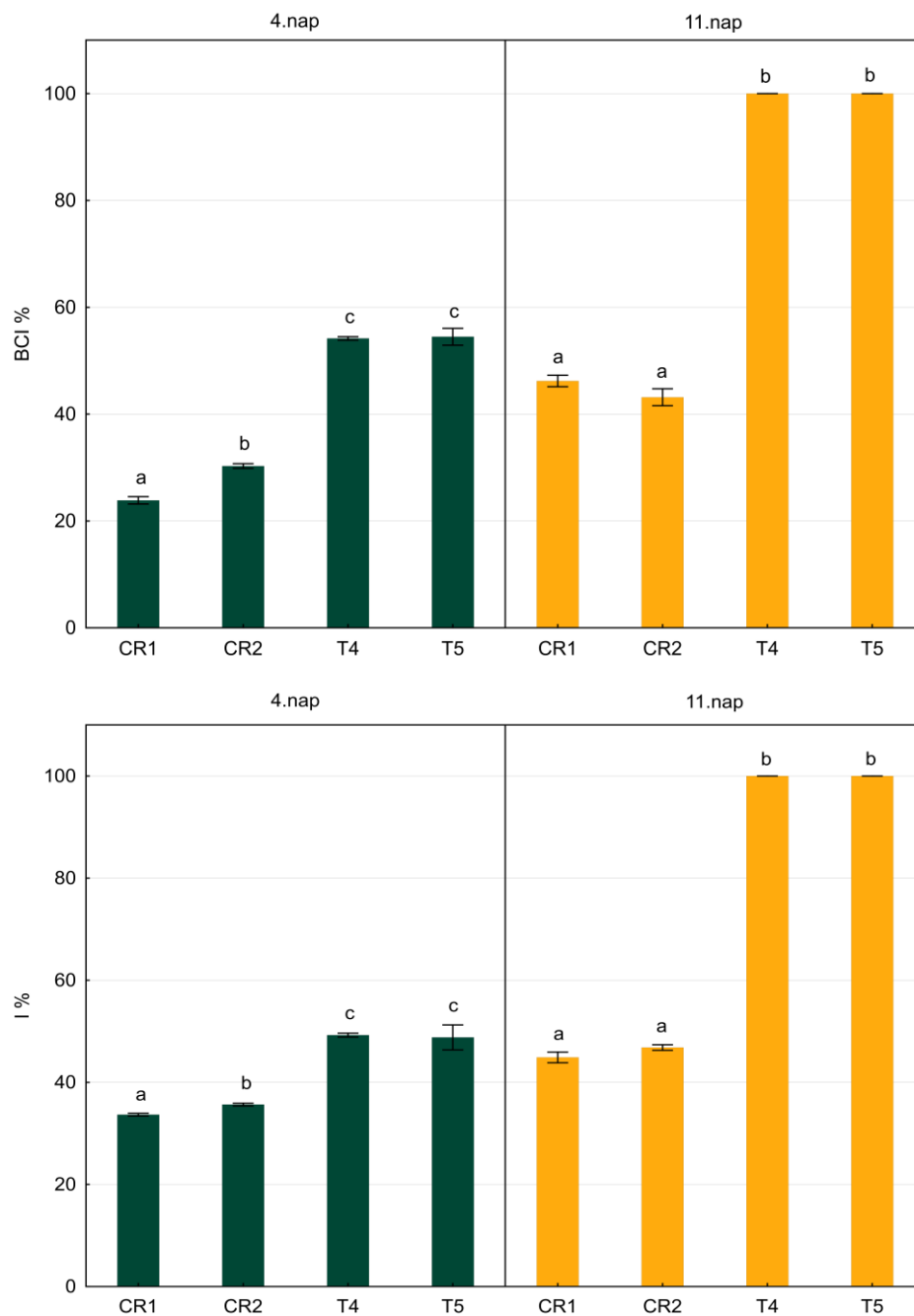
A *T. angustata* esetében a vizsgált antagonisták hatékonysága 80% alatt volt a 4. napon (15. ábra) A MW U-teszt eredményeit betűk jelzik. A KW-teszt H értéke a BCI% esetében 37,985, az I% esetében pedig 36,3383 volt, a p értéke pedig rendre 0,00002 és 0,00003 volt. A 4. napon az összes vizsgált *Trichoderma* antagonista 100%-os hatékonyságot mutatott, melyet a 16. ábra szemléltet. A *C. rosea* törzsek és a patogén között feltisztulás volt megfigyelhető a 11.napon.



16. ábra: A *Truncatella angustata* konfrontációs tesztje A – BG a 4. napon; B – T5 a 4.napon; C – Cr1 a 4. napon ; D – Cr1 a 11. napon

Forrás: saját ábra

4.2.3. *Phaeoacremonium griseorubrum*

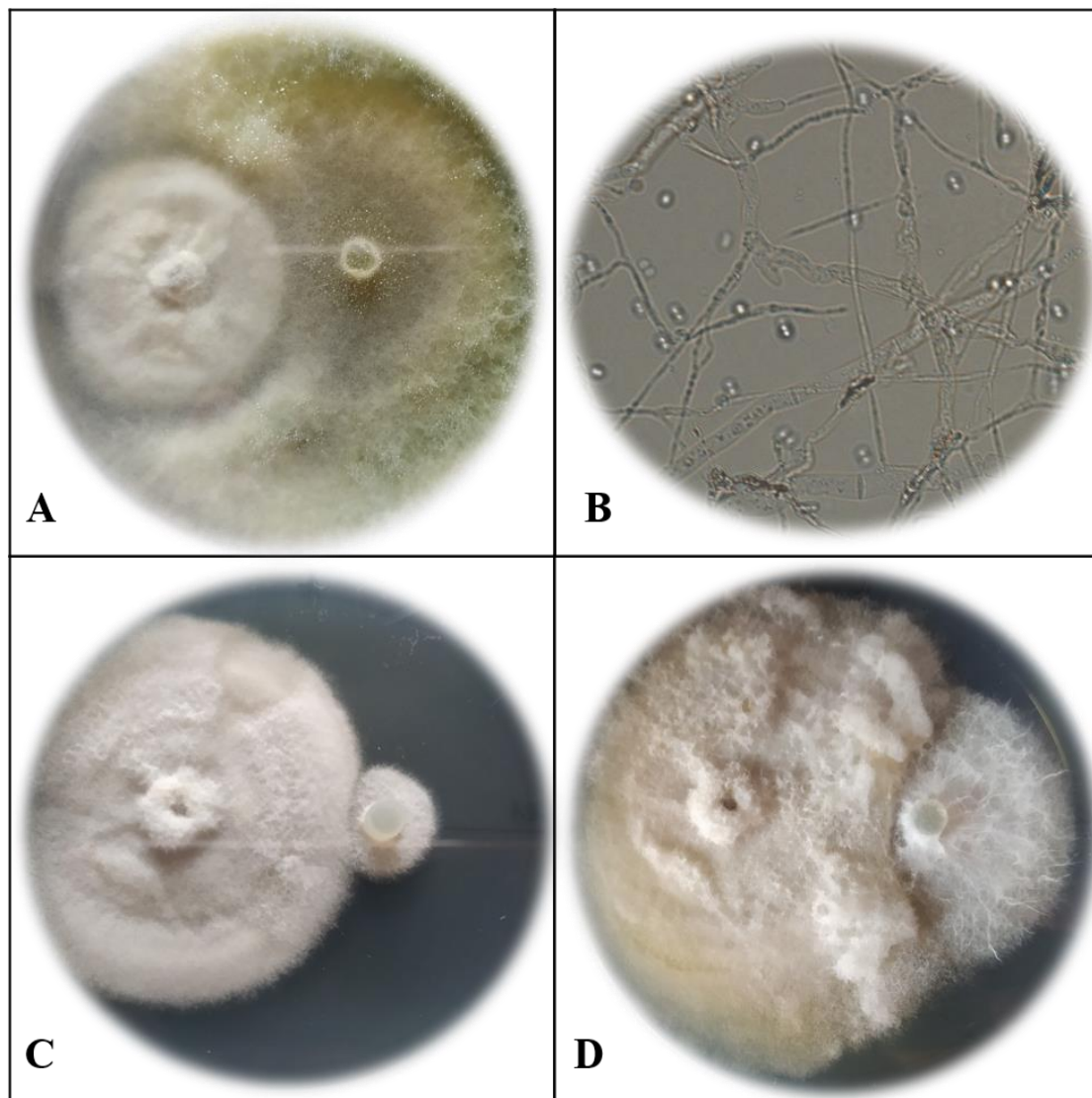


17. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága *Phaeoacremonium griseorubrum* ellen (Átlag±SE, n=4)

Forrás: saját ábra

A T4 és T5 a 4. napon nem tudtak ránőni a patogénre és a telepek határa jól kivehető volt (18. ábra). A 11. napra azonban 100%-os biokontroll aktivitást mutattak (17. ábra). A MW U-teszt eredményeit az ábrán betűk jelzik. A KW-teszt H értéke a BCI% esetében 30,0594, az

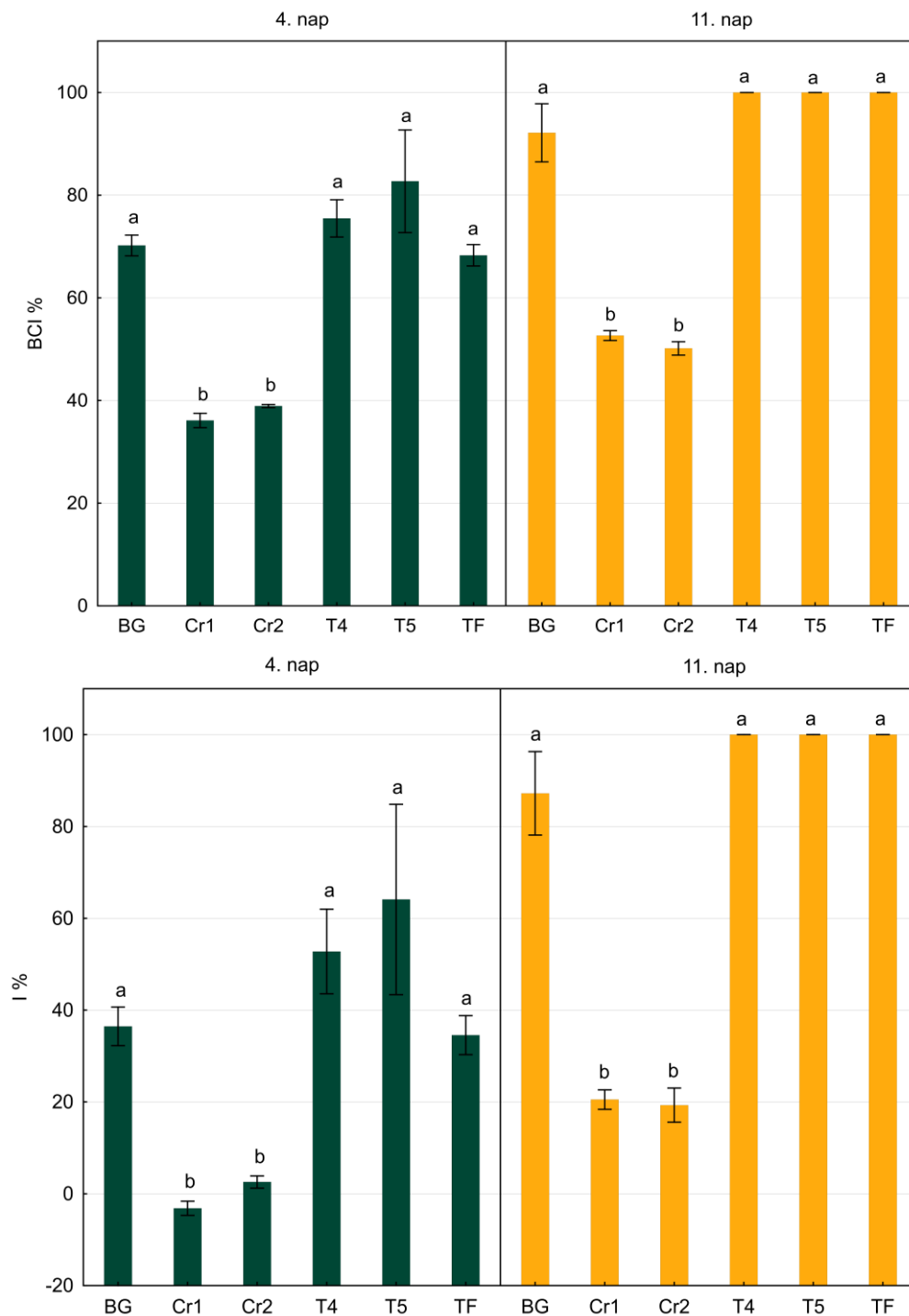
I% esetében 28,8822 volt, a p értéke 0,00009 és 0,0002 volt. A 18. ábrán jól megfigyelhető a hiperparazitizmus jelensége és az antagonista hifa feltekeredése a patogén hifájára. A patogén és a Cr és a patogén telepe között éles határvonal volt megfigyelhető, ez azonban napok elteltével sem változott.



18. ábra: A *Phaeoacremonium griseorubrum* konfrontációs tesztje A – T4 a 4. napon; B – T5 hiperparazitizmus mikroszkóp alatt 60x nagyítás; C – Cr1 a 4. napon; D – Cr1 a 11. napon

Forrás: saját ábra

4.2.4. *Phaeoacremonium angustius*

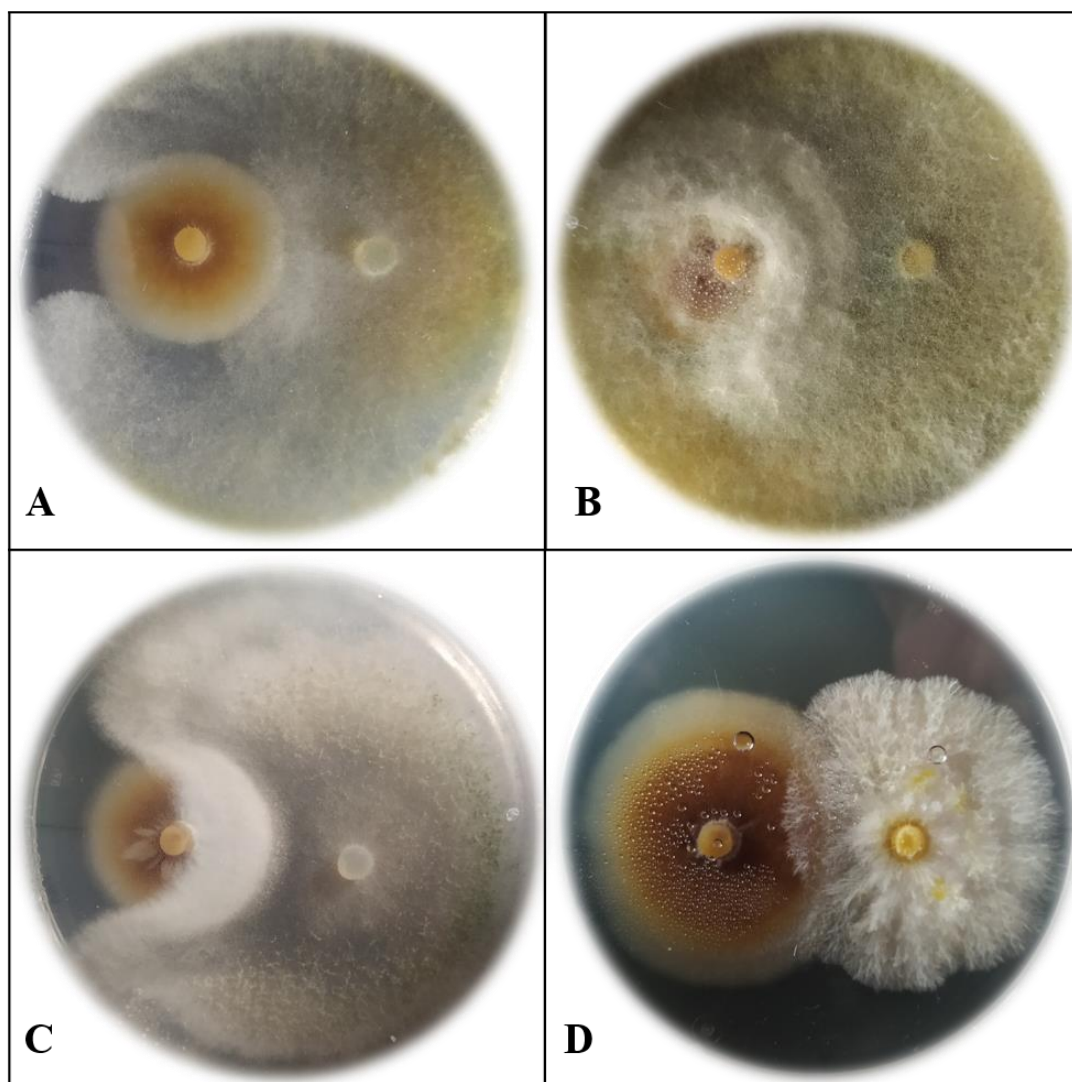


19. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága *Phaeoacremonium angustius* ellen (Átlag±SE, n=4),

Forrás: saját ábra

A *Trichoderma* fajok hatékonysága között a MW U-teszt alapján nem volt statisztikai különbség a 4. napon (19. ábra). Ennek oka a magas szórás. A 11. napra a BG kivételével

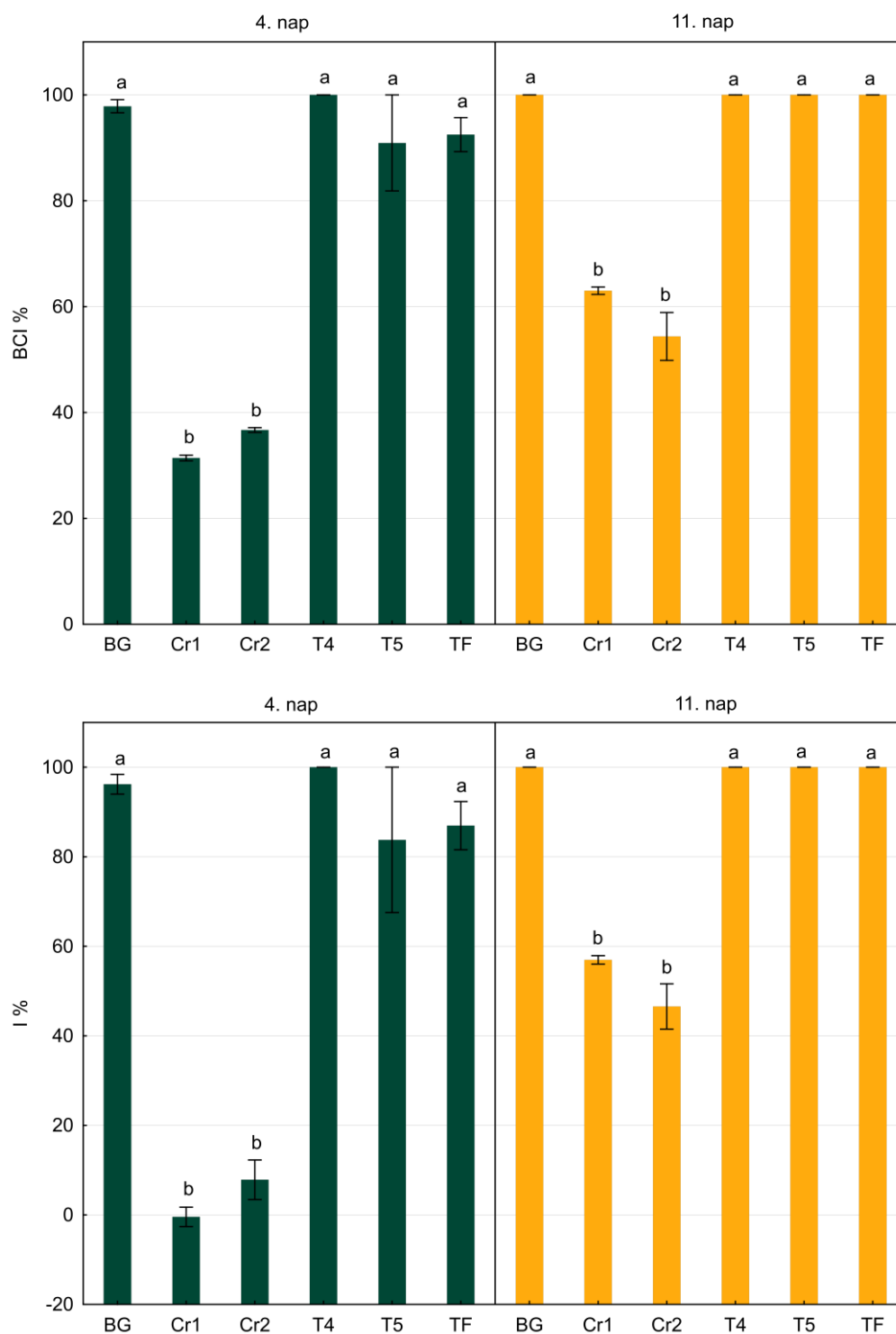
100%-os biokontroll aktivitást mutattak. A KW-teszt H értéke a BCI% esetében 42,8467, az I% esetében 42,4203 volt, a p értéke mindkét esetben 0,00001 volt. A *P. angustius* a 4. napon nem érintkezett a szintén lassú növekedésű Cr törzsekkel. A 11. napra azonban ránövést vagy telepek közötti határvonalat figyelhattunk meg (20. ábra).



20. ábra: A *Phaeoacremonium angustius* konfrontációs tesztje A – T5 a 4. napon; B – T4 a 11. napon; C – BG a 11.napon ; D – Cr1 a 11. napon

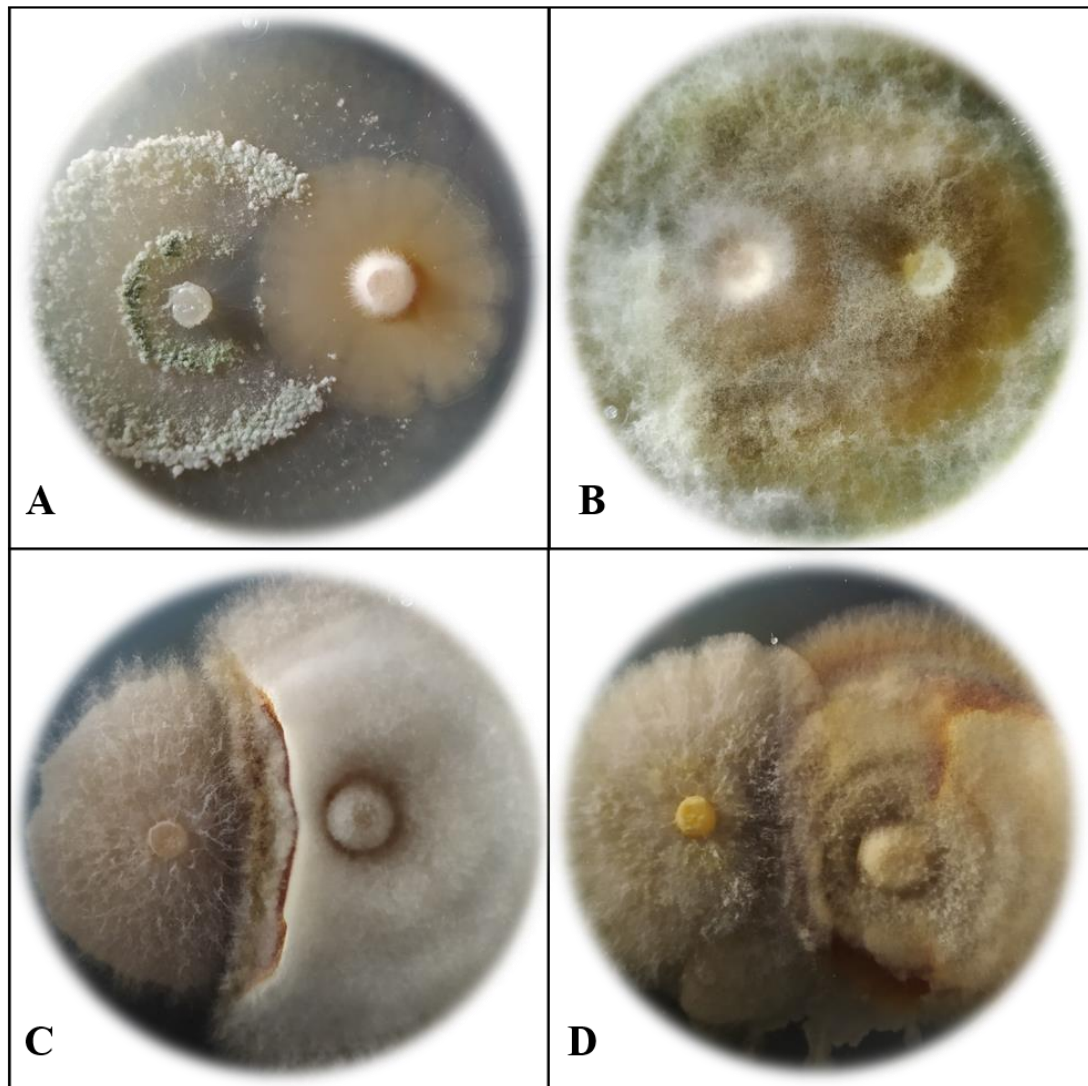
Forrás: saját ábra

4.2.5. *Fomitiporia mediterranea*



**21. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága *Fomitiporia mediterranea* ellen (Átlag±SE, n=4),
Forrás: saját ábra**

A *F. mediterranea* bazídiumos gombával szemben a MW U-teszt alapján a *Trichoderma* fajok teljesítménye között nem volt statisztikai különbség, melyet a 21. ábrán betűk jeleznek. A KW-teszt H értéke a BCI% esetében 42,3353, az I% esetében 41,0784 volt, a p értékek pedig 0,00001 és 0,00002 voltak. A Cr törzsek azonban erős nekrotikus határvonalat hoztak létre a 11. napra és a patogén elhalását figyelhettük meg. Ezt igazolják a fényképek is (22. ábra). A Cr1 erősebb fungicid hatást mutatott, mint a Cr2.



22. ábra: A *Fomitiporia mediterranea* konfrontációs tesztje A – TP a 4. napon; B – T4 a 4. napon; C – Cr2 a 11. napon; D – Cr1 a 11. napon

Forrás: saját ábra

5. Következtetések és javaslatok

Kutatásunk során a vizsgált antagonisták biokontroll aktivitását kívántuk felmérni különböző gombatörzsekbe tartozó patogének ellen. A hatékonyságot a BCI% és I% mutatókkal adtuk meg.

A kísérlet során a telepeket minden nap megmértük és a 4. és 11. nap eredményeit elemeztük. A gyorsan növekvő esetében csak a 4. napig futott a kísérlet. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a leghatékonyabb és leggyorsabb növekedésű a szőlőből izolált *T. afroharzianum* (T4) volt. A *T. angustata*-val szemben a *T. simmonsii* (T5) eredménye volt kiemelkedő. Egyes patogénekkal szemben nem tudtunk statisztikai különbséget kimutatni, mely az alacsony ismétlésszámnak tudható be. A BioeGo (BG) és a Trifender Pro (TP) készítmények a 4. napon alacsonyabb biokontroll aktivitást mutattak, mint a szőlőből izolált fajok. A 11. napra általánosan az összes vizsgált *Trichoderma* 100%-is biokontroll aktivitást mutatott. A BG több esetben is nagy szórással rendelkezett, ez feltételezhetően annak tudható be, hogy a készítmény két *Trichoderma* fajt is tartalmaz, melyek hatékonysága eltérő lehet. A mikroszkópos képeken hiperparazitizmust figyelhettünk meg, amely a *Trichoderma* alapú BCA-k esetében igazolt.

A *T. harzianum* fajkomplex tagjait régóta vizsgálják biokontroll ágensként. Mokhtar és Dehimat (2012) kísérletében igazolta a *T. harzianum* antagonista hatásait, melyben mikoparazitizmust és gyors növekedésének, illetve nagyfokú spóráképzésének köszönhető kompetitív előnyét is. Ezt a mi eredményeink is alátámasztják.

A vizsgált *C. rosea* törzsek hatékonysága között nem volt kimutatható statisztikai különbség, kivéve a *P. griseorubrum* esetében a 4. napon. A *C. rosea* törzsek minden esetben alacsonyabb BCI% és I%-kal rendelkeztek, mint a *Trichoderma* fajok. Ennek magyarázata a *Trichoderma* fajok gyorsabb növekedése és nagyfokú spóráképzése. A CR törzsek esetében több kórokozó ellen is fungisztikus hatást, vagy fungicid hatásnak minősülő nektrózist figyeltünk meg. Ez a hatás a *F. mediterranea*-val szemben volt a leglátványosabb. A *C. rosea* bizonyítottan termel sejtfalbontó enzimeket és főként ezek segítségével képes antagonistát hatást kifejteni. Lassú növekedése miatt kompetícióra nem alkalmas. Chatterton és Punja (2009) kísérletében feltételezte, hogy a *C. rosea* a sejtfalbontó enzimek mellett olyan

metabolitokat is termel, amelyek gátolják a patogének növekedését. Hasonló jelenséget figyeltünk meg például a *T. angustata* esetében, ahol a patogén telepe nem növekedett a kísérlet utolsó négy napjában.

A kísérlet első részében megvizsgáltuk a *F. oxysporum* fajunk hatékonyságát is, azonban kutatócsoportunk egy másik kísérlete során végzett patogenitási tesztben kórokozónak minősült, így azt a további vizsgálatokból kizártuk. Az eredmények alapján sem alkalmas BCAnak, mivel növekedése lassú és nem mutat sem fungisztatikus, sem fungicid hatást.

Az I% hátránya, hogy negatív értéket ad, amikor a patogén telepe nagyobb az antagonistáénál, illetve amikor még nem ért össze a két telep. Ez főleg a lassan nöövő antagonisták esetében következett be. Megfigyelhető, hogy a 4. napon ezen esetekben negatív értéket kaptunk, azonban ez az érték pozitív volt a 11. napon.

A további kísérletek elvégzésekor minimum elvárásnak tekintjük a 4 ismétlést, mivel ennél kevesebb ismétlés esetében a statisztikai különbségek kimutatása nehézkes. A lassan nöövő kórokozókat, illetve a *Clonostachys* törzseket hosszabb időtávú kísérletben érdemes vizsgálni. A *Memnoniella/Stachybotrys* fajunkat további vizsgálatok során azonosítani kívánjuk. Azon esetekben, ahol feltisztulást vagy nekrozist figyeltünk meg, HPLC analízis elvégzése javasolt a termelt fungicid vagy fungisztatikus anyagok azonosítása érdekében. Megfontolandó továbbá az agardiffúziós kísérlet elvégzése.

Összefoglalás

A modern növényvédelmi alapelveknek és az Európai Unió célkitűzéseinek megfelelően csökkenteni kell a kémiai növényvédőszer alkalmazását. A már évtizedek óta sikeresen alkalmazott biokontroll ágensek megoldást nyújthatnak a problémára mind élelmiszerbiztonsági, mind ökotoxikológiai szempontból. A nyilvánosság általi megítélésük is pozitívabb, így az ilyen módon kezelt termékekre nagy a kereslet.

A Debreceni Egyetem Növényvédelmi Intézetében és Élelmiszertudományi Intézetében végzett kísérletünk során szőlőből izolált potenciális antagonista gombák hatékonyságát vetettük össze forgalomban levő biokontroll készítményekkel konfrontációs kísérlet keretein belül. A kísérletben szereplő patogének nagy része szintén szőlőből származó saját izolátum volt, illetve génbanki eredetű fajokat is vizsgáltunk.

Kísérletünkben megállapítottuk, hogy a *Trichoderma* fajok hatékonyabbak voltak a *C. rosea* törzsekhez képest. A *Trichoderma* fajok közül a legnagyobb hatékonysággal a *T. afroharzianum* (T4) bírt. A vizsgált nemzetségeket számos tanulmány vizsgálta már biokontroll ágensként és több hatásmódot is tulajdonítanak nekik. Kísérletünkben közvetett és közvetlen antagonizmus hatásmódokat is megfigyelhettünk, melyek főként a mikoparazitizmust, a kompetíciót, és az antibiózis voltak.

Statisztikai értékelésünk során megállapítottuk, hogy a 4 napig futó kísérletek esetében a KW p értéke 0,05 alatt volt, az alacsony ismétlésszám miatt nem mutatható ki statisztikai különbség a MW-U teszttel, így nem kezelhető valódi statisztikai különbségként. A további kísérleteinket emiatt négy, vagy több ismétlésben fogjuk elvégezni.

Irodalomjegyzék

- Abou-Mansour, E., Débieux, J. L., Ramírez-Suero, M., Bénard-Gellon, M., Magnin-Robert, M., Spagnolo, A., ... & Larignon, P. (2015). Phytotoxic metabolites from *Neofusicoccum parvum*, a pathogen of *Botryosphaeria dieback* of grapevine. *Phytochemistry*, 115, 207-215.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. Elsevier.
- Arora, S., Khatter, S., Agarwal, C., & Imaculata, X. (2018). Cytological dilemma of a rare subcutaneous fungal infection: *Phaeoacremonium griseorubrum*. *Indian Journal of Case Reports*, 191-193.
- Arseneault, T., & Filion, M. (2017). Biocontrol through antibiosis: exploring the role played by subinhibitory concentrations of antibiotics in soil and their impact on plant pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 39(3), 267-274.
- Arzanlou, M., Narmani, A., Moshari, S., Khodaei, S., & Babai-Ahari, A. (2013). *Truncatella angustata* associated with grapevine trunk disease in northern Iran. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46(10), 1168-1181.
- Arzanlou, M., Torbati, M., & Jafari, H. (2012). Fruit rot of olive (*Olea europaea*) caused by *Truncatella angustata*. *Plant Pathology & Quarantine*, 2(2), 117-123.
- Bailey, B. A., & Melnick, R. L. (2013). The endophytic *Trichoderma*. *Trichoderma: biology and applications*, 1, 152-172.
- Bertsch, C., Ramírez-Suero, M., Magnin-Robert, M., Larignon, P., Chong, J., Abou-Mansour, E., ... & Fontaine, F. (2013). Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. *Plant Pathology*, 62(2), 243-265.
- Boller, T., & Felix, G. (2009). A renaissance of elicitors: perception of Microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition. *Ann. Rev. Plant Biol*, 60, 379-406.
- Bouanaka, H., Bellil, I., Harrat, W., Boussaha, S., Benbelkacem, A., & Khelifi, D. (2021). On the biocontrol by *Trichoderma afroharzianum* against *Fusarium culmorum* responsible of fusarium head blight and crown rot of wheat in Algeria. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), 1-13.
- Bruno, G., & Sparapano, L. (2007). Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.: V. Changes in the chemical and biological profile of xylem sap from diseased cv. Sangiovese vines. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71(4-6), 210-229.
- Calvente, V., De Orellano, M. E., Sansone, G., Benuzzi, D., & Sanz de Tossati, M. I. (2001). Effect of nitrogen source and pH on siderophore production by *Rhodotorula* strains and their application to biocontrol of phytopathogenic moulds. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 26(4), 226-229.
- Chatterton, S., & Punja, Z. K. (2009). Chitinase and β -1, 3-glucanase enzyme production by the mycoparasite *Clonostachys rosea* f. *catenulata* against fungal plant pathogens. *Canadian journal of microbiology*, 55(4), 356-367.
- Cimmino, A., Bahmani, Z., Castaldi, S., Masi, M., Istatico, R., Abdollahzadeh, J., ... & Evidente, A. (2021). Phenazine-1-carboxylic acid (PCA), produced for the first time as an antifungal metabolite by *Truncatella angustata*, a causal agent of grapevine trunk diseases (GTDs) in Iran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(41), 12143-12147.
- Cimmino, A., Bahmani, Z., Masi, M., Abdollahzadeh, J., Amini, J., Tuzi, A., & Evidente, A. (2022). Phytotoxins produced by *Didymella glomerata* and *Truncatella angustata*, associated with grapevine trunk diseases (GTDs) in Iran. *Natural Product Research*, 36(17), 4322-4329.
- Crous, P. W., Gams, W., Wingfield, M. J., & Van Wyk, P. S. (1996). *Phaeoacremonium* gen. nov. associated with wilt and decline diseases of woody hosts and human infections. *Mycologia*, 88(5), 786-796.
- Crous, P. W., Slippers, B., Wingfield, M. J., Rheeder, J., Marasas, W. F., Philips, A. J., ... & Groenewald, J. Z. (2006). Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriaceae*. *Studies in mycology*, 55(1), 235-253.
- Damm, U., Mostert, L., Crous, P. W., & Fourie, P. H. (2008). Novel *Phaeoacremonium* species associated with necrotic wood of *Prunus* trees. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 20(1), 87-102.
- Darvas B. (szerk.) (2008) A biológiai növényvédelem és helyzete Magyarországon. MTA NKI, Budapest, ISBN 978-963-87178-2-5

- Dewan, M. M., & Sivasithamparam, K. (1988). Pythium spp in roots of wheat and rye-grass in western Australia and their effect on root rot caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Soil Biology and Biochemistry*, 20(6), 801-808.
- Double, M. L., Jarosz, A. M., Fulbright, D. W., Davelos Baines, A., & MacDonald, W. L. (2018). Evaluation of two decades of *Cryphonectria parasitica* hypovirus introduction in an American chestnut stand in Wisconsin. *Phytopathology*, 108(6), 702-710.
- Drechsler, C. (1928). The occurrence of *Aphanomyces cochlioides* n. sp. on Sugar Beets in the United States. *Phytopathology*, 18(1).
- Dyer, A. T., & Windels, C. E. (2003). Viability and maturation of *Aphanomyces cochlioides* oospores. *Mycologia*, 95(2), 321-326.
- Eken, C., Spanbayev, A., Tulegenova, Z., & Abiev, S. (2009). First report of *Truncatella angustata* causing leaf spot on *Rosa canina* in Kazakhstan. *Australasian Plant Disease Notes*, 4(1), 44-45.
- El-Rafai, I. M., Asswah, S. M., & Awdalla, O. A. (2003). Biocontrol of some tomato disease using some antagonistic microorganisms. *Pakistan Journal of Biological Sciences (Pakistan)*.
- Essakhi, S., Mugnai, L., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., & Surico, G. (2008). Molecular and phenotypic characterisation of novel *Phaeoacremonium* species isolated from esca diseased grapevines. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 21(1), 119-134.
- European Commission, 2013: Commission Regulation (EU) No 283/2013 of 1 March 2013 setting out the data requirements for active substances, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market Text with EEA relevance <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/ALL/?uri=CELEX:32013R0283>
- European Commission, 2019: COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT, THE EUROPEAN COUNCIL, THE COUNCIL, THE EUROPEAN ECONOMIC AND SOCIAL COMMITTEE AND THE COMMITTEE OF THE REGIONS The European Green Deal COM/2019/640 final <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN-HU/ALL/?uri=CELEX:52019DC0640&from=EN>
- European Commission, 2020: COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT, THE COUNCIL, THE EUROPEAN ECONOMIC AND SOCIAL COMMITTEE AND THE COMMITTEE OF THE REGIONS EU Biodiversity Strategy for 2030 Bringing nature back into our lives COM/2020/380 final <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN-HU/ALL/?uri=CELEX:52020DC0380&from=EN>
- European Commission, 2021: Council Decision (EU) 2021/1102 of 28 June 2021 requesting the Commission to submit a study on the Union's situation and options regarding the introduction, evaluation, production, marketing and use of invertebrate biological control agents within the territory of the Union and a proposal, if appropriate in view of the outcomes of the study <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32021D1102>
- Feichtmayer, J., Deng, L., & Griebler, C. (2017). Antagonistic microbial interactions: contributions and potential applications for controlling pathogens in the aquatic systems. *Frontiers in microbiology*, 8, 2192.
- Fernández, E., Trillas, M. I., & Segarra, G. (2017). Increased rhizosphere populations of *Trichoderma asperellum* strain T34 caused by secretion pattern of root exudates in tomato plants inoculated with *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology*, 66(7), 1110-1116.
- Fischer, M. (2002). A new wood-decaying basidiomycete species associated with esca of grapevine: *Fomitiporia mediterranea* (Hymenochaetales). *Mycological Progress*, 1(3), 315-324.
- Fontaine, F., Gramaje, D., Armengol, J., Smart, R., Nagy, Z. A., Borgo, M., ... & Corio-Costet, M. F. (2016). Grapevine trunk diseases. A review.
- Ghorbanpour, M., Omidvari, M., Abbaszadeh-Dahaji, P., Omidvar, R., & Kariman, K. (2018). Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. *Biological Control*, 117, 147-157.
- Guan, P., Schmidt, F., Fischer, J., Riemann, M., Thines, E., & Nick, P. (2022). The fungal elicitor eutypine from *Eutypa lata* activates basal immunity through its phenolic side chains. *Horticulture Research*.
- Guérin-Dubrana, L., Labenne, A., Labrousse, J. C., Bastien, S., Rey, P., & Gégout-Petit, A. (2013). Statistical analysis of grapevine mortality associated with esca or *Eutypa dieback* foliar expression. *Phytopathologia Mediterranea*, 276-288.

- Hall, G. (1991). *Pythium acanthophoron*. [Descriptions of Fungi and Bacteria]. *Descriptions of Fungi and Bacteria*, (107), Sheet-1068.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2(1), 43-56.
- Harveson, R. M., Windels, C. E., Smith, J. A., Brantner, J. R., Cattanaach, A. W., Giles, J. F., ... & Cattanaach, N. R. (2007). Fungicide registration and a small niche market: a case history of hymexazol seed treatment and the US sugar beet industry. *Plant disease*, 91(7), 780-790.
- Heimpel, G. E., & Mills, N. J. (2017). *Biological control*. Cambridge University Press.
- Held, B. W., Salomon, C. E., & Blanchette, R. A. (2020). Diverse subterranean fungi of an underground iron ore mine. *PLoS One*, 15(6), e0234208.
- Heydari, A., & Pessarakli, M. (2010). A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *Journal of biological sciences*, 10(4), 273-290.
- Huffaker, C. B. (Ed.). (2012). *Theory and practice of biological control*. Elsevier., 1-30.
- Islam, M. T., Ito, T., Sakasai, M., & Tahara, S. (2002). Zoosporicidal activity of polyflavonoid tannin identified in *Lannea coromandelica* stem bark against phytopathogenic oomycete *Aphanomyces cochlioides*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6697-6703.
- Jeffries, P. (1995). Biology and ecology of mycoparasitism. *Canadian journal of botany*, 73(S1), 1284-1290.
- Jensen, D. F., Knudsen, I. M., Mamarabadi, M., Hockenhull, J., & Jensen, B. (2007). Development of a biocontrol agent for plant disease control with special emphasis on the near commercial fungal antagonist *Clonostachys rosea* strain 'IK726'. *Australasian Plant Pathology*, 36(2), 95-101.
- Kovács, C., Csótó, A., Pál, K., Nagy, A., Fekete, E., Karaffa, L., ... & Sándor, E. (2021). The biocontrol potential of endophytic *Trichoderma* fungi isolated from Hungarian grapevines. Part I. Isolation, identification and in vitro studies. *Pathogens*, 10(12), 1612.
- Kovács, C., Csótó, A., Pál, K., Nagy, A., Fekete, E., Karaffa, L., ... & Sándor, E. (2021). The biocontrol potential of endophytic *Trichoderma* fungi isolated from Hungarian grapevines. Part I. Isolation, identification and in vitro studies. *Pathogens*, 10(12), 1612.
- Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Frontiers in plant science*, 845.
- Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H., ... & Barka, E. A. (2022). Biological control of plant pathogens: A global perspective. *Microorganisms*, 10(3), 596.
- Larignon, P., Fontaine, F., Farine, S., Clément, C., & Bertsch, C. (2009). Esca et Black Dead Arm: deux acteurs majeurs des maladies du bois chez la Vigne. *Comptes Rendus Biologies*, 332(9), 765-783.
- Li, S., Hartman, G. L., Jarvis, B. B., & Tak, H. (2002). A *Stachybotrys chartarum* isolate from soybean. *Mycopathologia*, 154(1), 41-49.
- Liu, F., Bonthond, G., Groenewald, J. Z., Cai, L., & Crous, P. W. (2019). Sporocadaceae, a family of coelomycetous fungi with appendage-bearing conidia. *Studies in Mycology*, 92, 287-415.
- Mokhtar, H., & Dehimat, A. (2012). Antagonism capability in vitro of *Trichoderma harzianum* against some pathogenic fungi. *Agric. Biol. JN Am*, 3(11), 452-460.
- Moretti, S., Pacetti, A., Pierron, R., Kassemeyer, H. H., Fischer, M., Péros, J. P., ... & Farine, S. (2021). *Fomitiporia mediterranea* M. Fisch., the historical Esca agent: A comprehensive review on the main grapevine wood rot agent in Europe. *Phytopathologia Mediterranea*, 60(2), 351-379.
- Mostert, L., Groenewald, J. Z., Summerbell, R. C., Robert, V., Sutton, D. A., Padhye, A. A., & Crous, P. W. (2005). Species of *Phaeoacremonium* associated with infections in humans and environmental reservoirs in infected woody plants. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(4), 1752-1767.

- O'Brien, P. A. (2017). Biological control of plant diseases. *Australasian Plant Pathology*, 46(4), 293-304.
- Ons, L., Bylemans, D., Thevissen, K., & Cammue, B. P. (2020). Combining biocontrol agents with chemical fungicides for integrated plant fungal disease control. *Microorganisms*, 8(12), 1930.
- Pavlic, D., Slippers, B., Coutinho, T. A., & Wingfield, M. J. (2009). Molecular and phenotypic characterization of three phylogenetic species discovered within the *Neofusicoccum parvum*/N. *ribis* complex. *Mycologia*, 101(5), 636-647.
- Rakonczás N. 2014: Szőlőtermesztés. Debreceni Egyetemi Kiadó, Debrecen. 195 p.
- Rubio, M. B., Hermosa, R., Vicente, R., Gómez-Acosta, F. A., Morcuende, R., Monte, E., & Bettiol, W. (2017). The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 8, 294.
- Sajeena, A., Nair, D. S., & Sreepavan, K. (2020). Non-pathogenic *Fusarium oxysporum* as a biocontrol agent. *Indian Phytopathology*, 73(2), 177-183.
- Samuels, G. J., Ismaiel, A., Bon, M. C., De Respinis, S., & Petrini, O. (2010). *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. *Mycologia*, 102(4), 944-966.
- Samuels, G. J., Lieckfeldt, E. L. K. E., & Nirenberg, H. I. (1999). *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. *Sydowia*, 51(1), 71-88.
- Schroers, H. J., Samuels, G. J., Seifert, K. A., & Gams, W. (1999). Classification of the mycoparasite *Gliocladium roseum* in *Clonostachys* as *C. rosea*, its relationship to *Bionectria ochroleuca*, and notes on other *Gliocladium*-like fungi. *Mycologia*, 91(2), 365-385.
- Segarra, G., Casanova, E., Avilés, M., & Trillas, I. (2010). *Trichoderma asperellum* strain T34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron. *Microbial ecology*, 59(1), 141-149.
- Sharon, E., Chet, I., & Spiegel, Y. (2011). *Trichoderma* as a biological control agent. In *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes*: (pp. 183-201). Springer, Dordrecht.
- Sigler, L., & Wang, C. J. K. (1990). *Scytalidium circinatum* sp. nov., a hyphomycete from utility poles. *Mycologia*, 82(3), 399-404.
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., ... & Sharma, A. (2020). *Trichoderma*: The “secrets” of a multitasking biocontrol agent. *Plants*, 9(6), 762.
- Spadaro, D., & Gullino, M. L. (2004). State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International journal of food microbiology*, 91(2), 185-194.
- Stenberg, J. A., Sundh, I., Becher, P. G., Björkman, C., Dubey, M., Egan, P. A., ... & Viketoft, M. (2021). When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. *Journal of Pest Science*, 94(3), 665-676.
- Sun, Z. B., Li, S. D., Ren, Q., Xu, J. L., Lu, X., & Sun, M. H. (2020). Biology and applications of *Clonostachys rosea*. *Journal of applied microbiology*, 129(3), 486-495.
- Sundh, I., Wilcks, A., & Goettel, M. S. (Eds.). (2012). *Beneficial microorganisms in agriculture, food and the environment: safety assessment and regulation*. CABI.
- Sutton, J. C., Li, D. W., Peng, G., Yu, H., Zhang, P., & Valdebenito-Sanhueza, R. M. (1997). *Gliocladium roseum* a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. *Plant disease*, 81(4), 316-328.
- Szekeres, A., Leitgeb, B., Kredics, L., Manczinger, L., & Vágvolgyi, C. (2006). A novel, image analysis-based method for the evaluation of in vitro antagonism. *Journal of microbiological methods*, 65(3), 619-622.
- Thomashow, L. S., Bonsall, R. E., and Weller, D. M. (1997). “Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes in situ,” *Manual of Environmental Microbiology*, eds C. J. Hurst, G. R. Knudsen, M. J. McInerney, L. D. Stetzenbach, and M. V. Walter

- Trillas, M. I., Casanova, E., Cotxarrera, L., Ordovás, J., Borrero, C., & Avilés, M. (2006). Composts from agricultural waste and the *Trichoderma asperellum* strain T-34 suppress *Rhizoctonia solani* in cucumber seedlings. *Biological control*, 39(1), 32-38.
- Uzuhashi, S., Kakishima, M., & Tojo, M. (2010). Phylogeny of the genus *Pythium* and description of new genera. *Mycoscience*, 51(5), 337-365.
- Van Driesche, R., & Bellows Jr, T. S. (2012). *Biological control*. Springer Science & Business Media.
- van Loon, L. C. (2000). "Helping plants to defend themselves: biocontrol by disease-suppressing rhizobacteria," in *Developments in Plant Genetics and Breeding*, eds G. E. de Vries and K. Metzlaff (Amsterdam: Elsevier), 203–213. doi: 10.1016/S0168-7972(00)80123-1
- Veterano, S. T., Coffua, L. S., Mena-Ali, J. I., & Blair, J. E. (2018). *Pythium yorkensis* sp. nov., a potential soybean pathogen from southeastern Pennsylvania, USA. *Plant Pathology*, 67(3), 619-625.
- Wagschal, I., Abou-Mansour, E., & Petit, A. N. (2008). 16 Wood diseases of grapevine: A review on eutypa dieback and esca.
- Wang, Y., Hyde, K. D., McKenzie, E. H., Jiang, Y. L., Li, D. W., & Zhao, D. G. (2015). Overview of *Stachybotrys* (*Memnoniella*) and current species status. *Fungal Diversity*, 71(1), 17-83.
- Wenneker, M., Pham, K. T. K., Boekhoudt, L. C., de Boer, F. A., van Leeuwen, P. J., Hollinger, T. C., & Thomma, B. P. H. J. (2017). First report of *Truncatella angustata* causing postharvest rot on 'Topaz' apples in the Netherlands. *Plant Disease*, 101(3), 508-508.
- Wiesel, L., Newton, A. C., Elliott, I., Booty, D., Gilroy, E. M., Birch, P. R., & Hein, I. (2014). Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection. *Frontiers in plant science*, 5, 655.
- Windels, C. E., & Lamey, H. A. (1998). Identification and control of seedling diseases, root rot, and rhizomania on sugarbeet.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőimnek, Csótó Andrásnak és Prof. Dr. Karaffa Erzsébetnek a dolgozatom elkészítéséhez és a kísérlethez nyújtott szakmai segítségért.

Külön köszönöm Szakadát Gyulának a kísérletek kivitelezésében nyújtott segítségét.

Végezetül szeretném megköszönni a szüleim, barátaim és nagyapám, Dr. Mózsik Lajos kitartó támogatását.

NYILATKOZAT

Piti Alexandra Nóra..... büntetőjogi és fegyelmi felelősségem tudatában kijelentem és aláírással igazolom, hogy a dolgozat saját munkám eredménye. A felhasznált irodalmat korrekt módon kezeltem, az irodalmi források korrekt kezelésének módját a szabályzatból megismertem, a tudományos diákköri konferencia dolgozatra vonatkozó jogszabályokat betartottam. Tudomásul veszem, hogy ezen követelmények megszegése esetén a dolgozatom visszautasításra kerül.

Piti Alexandra Nóra

aláírás

Születési idő: 1998. 11. 09.

Ábrajegyzék

1. ábra: <i>Clonostachys rosea</i> penicillium-szerű konídiumtartója fénymikroszkóp alatt, 60x-os nagyítás.....	12
2. ábra: A BCI % kiszámítása.....	19
3. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága az <i>A. cochlioides</i> ellen (Átlag±SE, n=3)	20
4. ábra: Az <i>A. cochlioides</i> konfrontációs tesztje A – T4; B – Cr1; C – BG; D – T5 fénymikroszkópos képe 40x-es nagyítás	21
5. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága <i>P. acanthophoron</i> ellen (Átlag±SE, n=3).....	22
6. ábra: A <i>P. acanthophoron</i> konfrontációs tesztje A – Cr1; B – BG; C – a patogén vs. T4 fénymikroszkópos képe 40x-es nagyítás ; D – T4	23
7. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága <i>Neofusicoccum parvum</i> ellen (Átlag±SE, n=3) ...	24
8. ábra: A <i>N. parvum</i> konfrontációs tesztje A – Cr1; B – a patogén vs. T5 fénymikroszkópos képe 40x-es nagyítás; C – T4 ; D – BG	25
9. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága <i>Scytalidium circinatum</i> ellen (Átlag±SE, n=4),...	26
10. ábra: A <i>S. circinatum</i> konfrontációs tesztje A – TP 11. napon; B – T5 hiperparazitizmus fénymikroszkóp alatt 40x-es nagyítás; C – Cr1 ; D – T4 a 4. napon	27
11. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága <i>Eutypa lata</i> ellen (Átlag±SE, n=3),	28
12. ábra: Az <i>E. lata</i> konfrontációs tesztje A – Cr2; B – T5; C – BG; D – TP	29
13. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága <i>Memmoniella</i> ellen (Átlag±SE, n=4),	30
14. ábra: A <i>Memmoniella</i> konfrontációs tesztje A – T4 4. napon; B – TP 4. napon; C – Cr1 a 11. napon; D – TP a 11. napon	31
15. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága <i>Truncatella angustata</i> ellen (Átlag±SE, n=4),...	32
16. ábra: A <i>Truncatella angustata</i> konfrontációs tesztje A – BG a 4. napon; B – T5 a 4. napon; C – Cr1 a 4. napon ; D – Cr1 a 11. napon	33
17. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága <i>Phaeoacremonium griseorubrum</i> ellen (Átlag±SE, n=4)	34
18. ábra: A <i>Phaeoacremonium griseorubrum</i> konfrontációs tesztje A – T4 a 4. napon; B – T5 hiperparazitizmus mikroszkóp alatt 60x nagyítás; C – Cr1 a 4. napon; D – Cr1 a 11. napon.....	35
19. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága <i>Phaeoacremonium angustius</i> ellen (Átlag±SE, n=4),	36
20. ábra: A <i>Phaeoacremonium angustius</i> konfrontációs tesztje A – T5 a 4. napon; B – T4 a 11. napon; C – BG a 11. napon ; D – Cr1 a 11. napon	37
21. ábra: A vizsgált antagonisták hatékonysága <i>Fomitiporia mediterranea</i> ellen (Átlag±SE, n=4),	38
22. ábra: A <i>Fomitiporia mediterranea</i> konfrontációs tesztje A – TP a 4. napon; B – T4 a 4. napon; C – Cr2 a 11. napon; D – Cr1 a 11. napon	39

Táblázatjegyzék

1. táblázat: A fajpárra azonosított <i>Phaeoacremonium</i> fajok kísérletben használt nevei Forrás: saját táblázat	17
--	----