

OTDK dolgozat

Kathy Vivien Mónika

Mosonmagyaróvár

2022

SZÉCHENYI ISTVÁN EGYETEM
ALBERT KÁZMÉR MOSONMAGYARÓVÁRI KAR
NÖVÉNYTUDOMÁNYI TANSZÉK

Konzulens:

DR. KEREKES GÁBOR, PhD
tudományos főmunkatárs

KÖRNYEZETBARÁT NÖVÉNYPATOLÓGIAI MEGOLDÁSOK ÖSSZEHASONLÍTÓ
VIZSGÁLATA

Készítette:

KATHY VIVIEN MÓNICA

okleveles mérnökjelölt

Növényorvosi Mesterképzési Szak

Mosonmagyaróvár
2022

Absztrakt

Környezetünk védelme elsődleges feladat, amely az agrár ágazatokban is rendkívül hangsúlyos szerepet tölt be. A mezőgazdaságban és azon belül a növényvédelem területén is alternatív megoldások szükségesek.

Kutatásomban a kereskedelmi forgalomban hozzáférhető biofungicidek tényleges hatékonyságát és ezeket befolyásoló tényezőket vizsgáltam laboratóriumi körülmények között. Ezek a készítmények mikroszkopikus gombák, amelyek gyakran előforduló kórokozók ellen kaptak felhasználási engedélyt. A kutatásba vont hiperparazita szervezetek a következők voltak: *Coniothyrium minitans*, *Trichoderma asperellum* T1, *T. asperellum* T34. A vizsgálatok egyik célja volt a hőmérséklet változására adott pozitív, vagy negatív növekedési különbség kimutatása. Kísérletem során -27 °C és 40 °C közötti hőmérsékleten inkubáltam a hiperparazita szervezeteket 7 napon keresztül agar táptalajra helyezve, majd megállapítottam a növekedési erélyüket. A másik kérdés megválaszolására a három mikroorganizmusból hígítási sort készítettem agar táptalajban szuszpendálva (engedélyokirat szerinti teljes dózis = 1X, 0,1X és 0,01X), majd ezekre helyeztem a polifág *Sclerotinia sclerotiorum* kórokozó kitartóképletét. 7 napos inkubációs idő alatt megfigyeltem a kórokozó és a hiperparaziták együttes fertőzését, illetve levontam a következtetést a 7. napra vonatkozóan, mint végeredményt.

Az eredményeket kiértékelve megállapítottam, hogy három hiperparazita gomba és a vizsgált kórokozó hőmérsékleti optimuma nem esik egybe. A magasabb hőmérsékleten egyértelműen jobbnak bizonyultak a hiperparazita gombák. 30°C-on már a harmadik napon benőtték a rendelkezésre álló táptalaj teljes felületét. Ezzel ellentétben a *S. sclerotiorum* 30°C-on szinte alig növekedett. A hígítási soroknál megállapítottam, hogy a *T. asperellum* törzsei és a *C. minitans* az engedélyezett dózisban és a két csökkentett dózisban is látszólag sikeresen gátolta a *S. sclerotiorum* növekedését 23°C-on.

Abstract

Protecting our environment is a primary task, which also plays an extremely important role in the agricultural sectors. Alternative solutions are needed in agriculture and also in the field of plant protection.

In my research, I examined the actual effectiveness of commercially available biobiofungicides and the factors affecting them in laboratory conditions. These products are microscopic fungi that have been approved for use against commonly occurring pathogens. The hyperparasitic organisms involved in the research were the following: *Coniothyrium minitans*, *Trichoderma asperellum* T1, *Trichoderma asperellum* T34. One of the aims of the tests was to demonstrate the positive or negative difference in growth due to changes in temperature between -27°C and 40°C, placing them on agar substratum, and then determining their growth rate. To answer another question, I prepared agar plate dilutions of the three microorganisms (suspended in agar substratum, where full dose rate is the label rate= 1X, 0,1X and 0,01X) and then I placed the sclerotia of the polyphagous *Sclerotinia sclerotiorum* pathogen on the agar surface. During a 7-day incubation period, I evaluated the joint infection of the pathogen and the hyperparasites, and drew the conclusion regarding the 7th day as the final result.

After evaluating the results, I found that the temperature optimum of three hyperparasitic fungi and the tested pathogen did not coincide. Hyperparasitic fungi proved to be clearly better at higher temperatures. On the third day at 30°C, the entire surface of the available culture substratum was overgrown by them. In contrast, *S. sclerotiorum* barely grew at 30°C. In the dilution series, I found that the strains of *T. asperellum* and *C. minitans* apparently successfully inhibited the growth of *S. sclerotiorum* at 23°C in both the permitted dose and the two reduced doses, too.

Tartalom

1. Bevezetés, célkitűzés	6
2. Irodalmi áttekintés	7
2.1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary:	7
2.2. <i>Trichoderma</i> sp.....	8
2.2.1. <i>Trichoderma asperellum</i> Samuels, Lieckf. & Nirenberg	9
2.3. <i>Coniothyrium minitans</i> Campbell.....	10
2.4. Biológiai növényvédelem:.....	10
2.4.1. Kórokozók elleni biológiai védekezés.....	11
3. Anyag- és módszer.....	12
3.1. Beszerzés, előkészületek	12
3.2. Hőmérséklet-kísérlet	13
4. Eredmények	15
4.1. Hőmérséklet-kísérlet diagramok	15
4.2. Hőmérséklet-kísérlet kiértékelése	18
4.2.1. Hőmérséklet-kísérlet képei.....	18
4.3. Koncentrációs-kísérlet fertőzött agar lemezen kiértékelés	20
5. Következtetések, javaslatok.....	27
6. Felhasznált irodalmak jegyzéke:.....	28
7. Köszönetnyilvánítás.....	31

1.Bevezetés, célkitűzés

Napjainkban egyre nagyobb szerepet kap a környezetvédelem az élet minden területén. A mezőgazdaságban is meghatározó változások zajlanak, ennek következményében a Green Deal értelmében a növényvédelmi beavatkozások során csökkenteni kell a növényvédőszer használatot. Az európai zöld megállapodás célja a gazdaság fellendítése, a természet gondozás úgy, hogy az emberek életminősége és egészsége javuljon. Ezt támogatja a Közös Agrár Politika (KAP). (URL¹)

A legtöbb növényvédőszernek káros hatása van/lehet a környezetünkre és ezáltal az emberekre is. A felhasználható hatóanyagok mennyisége egyre kevesebb már jelenlegi helyzetünkben is, amelyet a Green Deal végett még inkább csökkenteni kell. E helyzet a szakembereket komoly kihívás elé állítja, mert olyan problémákra kell megoldást találniuk, melyekre már nem lesz alkalmas az eddigi bevált beavatkozási módszer, valamint olyan eszközökkel kell dolgozniuk, melyek a korábbiakban is szűkösen bizonyulnak. Előtérbe került a biológiai növényvédelem, mely bár nem jár annyira gyerekcipőben, számos kutatás és vizsgálat szükséges ahhoz, hogy magabiztosan kijelenthessük a jövőben: nincs nagy szükség kemikáliákra a növényvédelem során.

Célom a biológiai védekezésen belül levő, gombaölőszerként, vagy talajjavító mikrobiológiai készítményként forgalomba hozott hiperparazita gombák (*Coniothyrium minitans*, *Trichoderma asperellum* T1, *T. asperellum* T34) megismerése és a fehérpenészes megbetegedést okozó *Sclerotinia sclerotiorum*-ra való hatásuk vizsgálata, s ebből a következtetések levonása.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary:

A fehérpenészes megbetegedést okozó *Sclerotinia sclerotiorum* egy apotéciumot képző tömlősgomba. Konídiumot nem képez (Szepessy, 1977). Kitartóképletei a hifákból felépülő, belül lágyabb szerkezetű, kívül viszont kemény valódi szkleróciumok, melyek több évig is életképesek maradnak a talajban, vagy a talaj felszínén. Itt kedvező körülmények között apotéciumot fejlesztenek, vagy micéliogén csírázással keresi meg a gazdanövényét. Az apotécium olyan termőtest, mely 4-8 mm átmérőjű, s rajta aszkuszkok fejlődnek. Az aszkuszkokban 8-8 aszkospóra található, melyek szétszóródva fertőznek (szekunder fertőzés). A kórokozónak több gazdanövénye van, azaz polifág. Fertőzheti többek között a napraforgót, repcét, szóját, borsót, babot, gyökérzöldségeket, káposztaféléket, dísz- és gyógynövényeket egyaránt, de ez csak kevés példa ahhoz viszonyítva, hogy több száz tápnövénye van. Jelentős károkat tud okozni a növényállományokban, akár 100%-os termés kiesést is előidézhethet szélsőséges esetekben, de valamilyen szinten mindenképp okoz veszteséget, ahol fertőz (Érsek - Németh, 2014; Fischl, 1995; Glits et al., 1997;).

A megbetegedés első látható tünetei fehér penészgyep formájában jelennek meg, ekkor a belső szövetek már fertőzöttek. A megbetegített növények rosszul fejlődnek, sárgulnak, majd barnulnak végül elszáradnak (Szepessy, 1977).

Hazánkban a 2020-as évben nagy károkat okozott a primer fertőzés a napraforgótáblákon. Primer fertőzés alatt azt értjük, hogy a gomba szkleróciumaiból micéliális úton bejut a gyökérzeten keresztül a növénybe, mely miatt hervadás és elhalás következik be, terméssel így már nem is számolhatunk. E fertőzési mód kialakulhat a magtelítődés idején is, ilyenkor ezermagtömeg-csökkenést tapasztalunk. Ebben az évben nem csak a napraforgót károsította a kórokozó, hanem más kultúrákat is (Gribek, 2020).

Védekezésnél a megelőzésre tudjuk fektetni a hangsúlyt, úgy, hogy odafigyelünk az előveteményre, hogy a betegségre fogékony növényt ne termesszünk 3-4 évig, valamint, kerüljük a mélyfekvésű vizenyős területeket. Fontos még a megfelelő tápanyagellátás, a túlzott nitrogénadagok mellőzése. A megfelelő gyomszabályozás is elengedhetetlen, mivel több gazdanövénye is közülük kerül ki, például *Ambrosia sp.*, *Datura sp.*, *Senecio sp.* stb. Növényvédőszeres beavatkozásnál az alábbi hatóanyagok használhatók: tebukonazol, azoxistrobin, difenokonazol, boszkalid etc., viszont a jövőre tekintve ezek száma jelentősen

csökkenni fog. A szakirodalom szerint különböző hiperparazita szervezetek (például repce- és napraforgó termesztésnél) vetés előtti kijuttatása és talajba dolgozása segíthet a területen jelen lévő szkleróciumok felszámolásában (Érsek - Németh, 2014; Fischl, 2008; Glits et al., 1997; Horváth, 1993; URL²; Kristó et al., 2011).

2.2. *Trichoderma* sp.

A *Trichoderma* fajok világszerte elterjedt gombák, a talajok mikroflórájában gyakorta megtalálhatók. A nemzetség tagjai mesterséges tenyészetekben gyors növekedésűek, rövid időn belül sporulálnak. A legtöbb esetben a sporuláló tenyészet zöld színű, nem egybefüggő. Szaprobiontaként fordulnak elő a talajban, részben bomló növényi anyagokon. Nagy részük a természetben más gombákat parazitál, például az *Armillaria* fajok rizomorfáit kolonizálják, megtalálhatók szkleróciumokon, növénypatogén gombák tápnövényein előforduló képletein. A talajba és talajra jutó szerves anyagokat lebontják, a nyugvó állapotban levő növényt betegítő gombák sejtfalát képesek oldani. (Vajna, 1987) Nem csak a növénybetegségek elleni védekezésről ismertek, hanem fokozott szaporodási képességükről, a növények növekedését és fejlődését fokozó tulajdonságukról (Waghunde et al., 2016).

Megfelelő körülmények között, a legtöbb *Trichoderma* faj képes antibiotikum, úgynevezett peptaibol antibiotikum termelésére is. Ezek olyan kis molekulájú polipeptidek, melyek a gombák foszfolipid membránjára hatnak, annak kilyukadását okozzák. Így a citoplazma kiáramlik az extracelluláris lítikus enzimekkel együtt szoros kölcsönhatásban (Darvas et al., 1999).

Biológiai növényvédelem szempontjából a nemzetség fajai közül nincsenek kórokozók. (Egy adat áll rendelkezésünkre humán fertőzésről a *Trichoderma viride* esetében.) Az antagonista törzsek hőoptimuma 25-30°C között mozog. Például a *Trichoderma harzianum*: 36°C-on már nem képes növekedni. Valamint elmondható még, hogy hosszútávú tároláshoz a a hiperparazita izolátumokat -20°C-ra helyezhetjük (Darvas et al., 1999; Grendene et al., 2002).

Biológiai növényvédelem során való felhasználásukhoz a kutatásokat már a '80-as években megkezdtek. Különböző vizsgálatokat végeztek, például ökofiziológiai jellemzésekkel, genetikai fémtoleranciával foglalkoztak többek között (Darvas et al., 1999). A különböző *Trichoderma* fajok jól kombinálhatók egymással és olyan baktériumokkal, melyek képesek

foszformobilizálásra (*Bacillus* sp.), valamint nitrogénmegkötésre (*Azotobacter* sp.). Így hatékonyabban fejthetik ki hatásukat alkalmazásuk során (URL⁴).

A *Trichoderma* fajok többféle kórokozót képesek parazitálni, például: *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Botrytis* sp. etc., valamint a *T. harzianum* és a *T. hamatum* a leghatékonyabb antagonistái a lisztharmat és a peronoszpóra betegség kórokozóinak (Abou-Hadid et al., 2003; URL⁴).

Egyes *Trichoderma* fajok tulajdonságai közé tartozik, hogy bizonyos szinten ellenállóak a kémiai fungicidekkel szemben, így az integrált növényvédelem során csökkentett dózisé gombák elleni növényvédőszerrel együtt is lehet alkalmazni. A Trifender Pro és a Tigra mikrobiológiai készítmény esetében ez nincs így, az engedély okiratban felhívják a figyelmet, hogy se kémiai gombaölősszerrel, se biopreparátum gombákra is ható talajfertőtlenítő szerekkel ne juttassuk ki egy menetben (URL⁴; URL⁵; URL⁶).

2.2.1. *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg

A *Trichoderma asperellum* szélesebb gazdaszervezet-körrel rendelkezik, úgy mint: *Fusarium* sp, *Sclerotinia sclerotiorum*. A *T. harzianum*mal együtt gyakran izolálják gyökérmentes talajból, egészséges növényi szövetekből, elhalt fából (*T Prameela Devi et al., 2017; URL³*).

Megállapították, hogy a *Metarhizium anisopliae* entomopatogén gomba laboratóriumi körülmények között vizsgálva, gátló hatást fejt ki a *Trichoderma asperellum*-ra. Ennek ellenére szántóföldön lehetséges együtt alkalmazni a két fakultatív endobiontát, 48 órás eltéréssel kijuttatva (Südiné, 2019).

Utóbbi években megállapították, hogy a *T. asperellum* bizonyos toleranciával, adszorpciós és transzformációs hatással bír a nehézfém-ionokra. A jövőben alkalmazásuk jó alternatíva lehet a nehézfém szennyezés elleni fellépés során. Tanulmányozták az arzén toleranciát és biotranszformációt, melynél megfigyelték, hogy a *T. asperellum* képes arzént szállítani baktériumsejtekbe, ami ott redukálódik és elveszti toxikusságát. Ezen kívül a krómmal szemben is redukáló képességgel rendelkezik. Történt kutatás az ólommal szembeni toleranciával kapcsolatban is, ahol a biztató eredmények alátámasztják, hogy e hiperparazita gomba alkalmas a nehézfém-szennyezés csökkentésére és hozzájárulnak a biztonságosabb környezetünkhöz (Sun et al., 2020).

2.3. *Coniothyrium minitans* Campbell

A *Coniothyrium* fajok többsége szaprotóf szervezet, vagy növénykórokozó, azonban a *Coniothyrium minitans* nagy jelentőségű világszerte elterjedt (*Grendene et al.*, 2002) gombaparazita. Képes parazitálni több *Sclerotinia* és *Botrytis* fajt. Konídiumai csírázáskor képesek enzimatikusan feloldani 1,3-glükánáz enzimmel a sejtfalat, így a szkleróciumot képző hifasejtekbe is be tudnak jutni. A parazitált kitaróképlet felületén alakulnak ki a hiperparazita piknídiumai, melyek gömb alakúak, függelék nélküliek, 200-700 µm méretűek. Konídiumai a talajban terjednek (*Vajna*, 1987; *Tóthová et al.* 2011). Magyarországi előfordulását először *Vörös*, (1969) írta le. A mérsékelt égövben széles körben elterjedt. Jó szaprofita képességekkel is bír, így könnyen tenyészthető mesterséges közegben (20°C-on burgonya dextróz agaron) és növényi maradványokon egyaránt (*Vajna*, 1987; *Tóthová et al.* 2011).

2.4. Biológiai növényvédelem:

Biológiai növényvédelem esetén valamely speciálisan kiválasztott élőszervezetet, vagy vírust alkalmazunk annak érdekében, hogy adott kórokozó, kártevő, vagy gyomnövény jelenlétét szabályozzuk. E kiválasztott szervezetek a károsítók kórokozójaként, predátoraként, vagy parazitoidjaként támadják a célszervezetet. A biológiai növényvédelem során beavatkozunk a természetes folyamatokba például megerősítve, felgyorsítva azt, az elérni kívánt cél érdekében. Az ilyen eljárások során nagyobb háttérismeretre van szükség, mint kémiai védelem alkalmazásakor (*Tóthová*, 2011).

Klasszikus biológiai szabályozás alatt azt értjük, hogy a betelepült károsítók ellen a hozzájuk tartozó természetes ellenségeit/ellenségeiket telepítjük. (Például az *Eriosoma lanigerum* parazitoidja az *Aphelinus mali* (fűrészdarázs)). Felszaporítás során a károsító természetes ellenségeinek populációját növeljük laboratóriumi körülmények között, vagy kitenyésztünk egy hatékonyabbat. Konzerválás módszer a természetes ellenségek védelmére, illetve felszaporítására koncentrál. Minden biológiai szabályozási kísérlet része. Célja a természetes ellenségek ellen ható tényezők csökkentése és az őket segítő források növelése. Azon biológiai védekezésre alkalmas szervezetekre épül, melyek az adott területhez jól adaptálódtak. E három módszer (klasszikus biológiai szabályozás, felszaporítás, konzerválás) részben átfedi egymást (*Tóthová*, 2011).

2.4.1. Kórokozók elleni biológiai védekezés

Ahogy a rovaroknál és gyomoknál, a kórokozók esetében sem kiforrott még a biológiai vagy ökológiai védekezés. Az élő szervezetek kijuttathatók speciális módon is, ekkor kis létszámban alkalmazzuk őket, remélve felszaporodásukat. Ilyenek például az *Aspergillus flavus* nem toxikus törzsei. Vannak olyan élő ágensek, melyekből viszont nagy mennyiséget kell kijuttatni a kívánt cél eléréséhez ún. inundatív módon, ilyen például a *Trichoderma harzianum*, vagy a *Pseudomonas fluorescens*. Az antagonizmus többféleképpen nyilvánulhat meg: mikoparazitizmus, antibiózis, metabolitok, kompetíció, növény önvédelmi reakciójának kiváltása. Mikoparazitizmus esetén egy adott kórokozó gombafajra specializálódott hiperparazita közvetlenül támadja a káros szervezetet. Négy csoportjuk létezik, a hipovírusok, a fakultatív paraziták, obligát parazita baktériumok és ragadozók. Antibióziszról akkor beszélünk, ha a védekezés során felhasznált baktérium antibiotikumot termel, melynek jelentősége van növényvédelmi szempontból. Ilyen például a *Bacillus cereus* UW85, melyet a lucerna fitoftórák gyökérrothadása ellen hasznosítunk. Az antagonista szervezetek felléphetnek úgy is a kórokozókkal szemben, hogy olyan anyagokat termelnek, amelyek megzavarják a parazita szervezet élettevékenységeit. Kompetíció, azaz versengés során a versengő élő szervezetek hátráltathatják a betegséget okozó fajt terjedésében. Főleg a talajban lévő kórokozók esetében fontos. Kémiai vagy egyéb ingerek révén a nem kórokozó szervezetek ki tudják váltani a növény természetes védekezési mechanizmusait. Ezt a jelenséget indukált szisztémikus rezisztenciának nevezzük. Egyes *Pseudomonas* és *Trichoderma* törzsek erős reakciókat váltanak ki, melyek segítik a növény védelmét a kórokozókkal szemben. Az összeírt módszerek egytől-egyig fontosak és hasznosak, de további vizsgálatok, kutatások és (remélhetőleg) felfedezések várnak ránk a jövőre nézve, hogy biztosabb talajon mozogjon a biológiai védekezés (URL⁷).

3. Anyag- és módszer

3.1. Beszerzés, előkészületek

Kutatásomat a Széchenyi István Egyetem Albert Kázmér Mosonmagyaróvári Kar Növénytudományi Tanszéken kezdtem meg. A vizsgálataim megkezdéséhez szkleróciumokat gyűjtenem napraforgószárból, rostaaljakból. Mindezek után a beszerzett hiperparazita szervezeteket tartalmazó termékekkel kezdtem el dolgozni. Három termék állt rendelkezésemre, melyek közül az egyik a *Coniothyrium minitans*-t tartalmazó Contans WG, engedélyokirat száma 04.2/1784-1/2011. Növényvédőszerként nyilvántartott, rendeltetése gombaölőszer. Különböző kultúrákban a fehérpenészes (*Sclerotinia sclerotiorum*) megbetegedések ellen ajánlják. Következő termék a Trifender Pro, melyben a *Trichoderma asperellum* T34-es törzse található meg. Mikrobiológiai készítményként van forgalomban. Azért választottam mégis kutatásom egyik komponenseként, mert ugyan ez a *T. asperellum* törzs megtalálható a 6300/3084-1/2020 engedélyokirat számú Xilon nevű gombaölő permetezőszerben. E növényvédőszert pedig kukoricában fuzáriumos megbetegedés, napraforgóban és szójában pedig szklerotíniás megbetegedés ellen ajánlják. Harmadik termék a Tigra mikrobiológiai készítmény, a benne fellelhető gomba pedig a *Trichoderma asperellum* T1-es törzse. Burgonya-dextróz agart (Potato dextrose agar - PDA) készítettem és autoklávban történő sterilizálás után Petri-csészékbe és kémcsövekbe töltve használtam táptalajként a hiperparazita gombák és egyéb kórokozó mikroorganizmusok felszaporításához a vizsgálataim során. (Leonian Maláta-agaron is próbálkoztam, ahol szintén sikeres volt a gombák terjeszkedése, viszont a későbbiekben inkább a PDA-t részesítettem előnyben, mert ugyanolyan jó táptalajul szolgál és könnyebb, gyorsabb az elkészítése.) Táptalajon elfuttattam Neomagnollal lefertőtlenített szkleróciumokat is, hogy a későbbiekben legyenek tiszta tenyészeteim, melyeket felhasználhatok. A *S. sclerotiorum* micéliális növekedés után viszonylag hamar elkezdett szkleróciumokat képezni a Petri-csészék szélén körkörösén.

3.2. Hőmérséklet-kísérlet

Többszöri sikeres átoltás után kezdtem meg a kísérleteimet az izolátumokkal. Elsőként $\varnothing 5$ cm-es Petri-csészében szaporítottam fel a *Trichoderma asperellum* T1- és T34-es törzsét, a *Coniothyrium minitans*-t és végül a *Sclerotinia sclerotiorum*-ot. Utóbbiból steril, vagy Neomagnollal lefertőtlenített szkleróciumokat is vizsgálatam az adott hőmérsékleteken. A kész tenyészetekből 6 mm átmérőjű dugófúróval korongokat vágtam steril fülke alatt, majd ezeket $\varnothing 7$ cm, illetve $\varnothing 9$ cm-es Petri-csészékbe helyeztem 3 ismétlésben. 6°C-ra, 18°C-ra és 30 °C-ra tettem a vizsgálandó tételeket, utóbbi hőmérsékleten parafilmmel is lezártam az üvegedényt, hogy a táptalaj ne száradjon ki. A hőmérsékletek eléréséhez és tartósságához különféle hűtőberendezéseket, valamint termosztátot használtam. Hét napon keresztül adott időpontokban mértem le és rögzítettem a gombatelepek növekedését.

Következő alkalommal ezt a korongos és szkleróciumos módszert nem változtatva helyeztem -27 °C-ra, 12 °C-ra, 30- , valamint 40 °C-ra a vizsgálandó gombákat. Ebben az esetben is 1 hétig tartott a kísérlet, kivéve a legalacsonyabb hőmérsékleten, mert azokat a Petri-csészéket 7 nap után újabb 7 napig laborhőmérsékleten tároltam, figyelve azt, hogy negatív hőmérsékleti kitettség után elindul-e a micéliumképződés.

3.3. Koncentrációs-kísérlet fertőzött agar lemezen

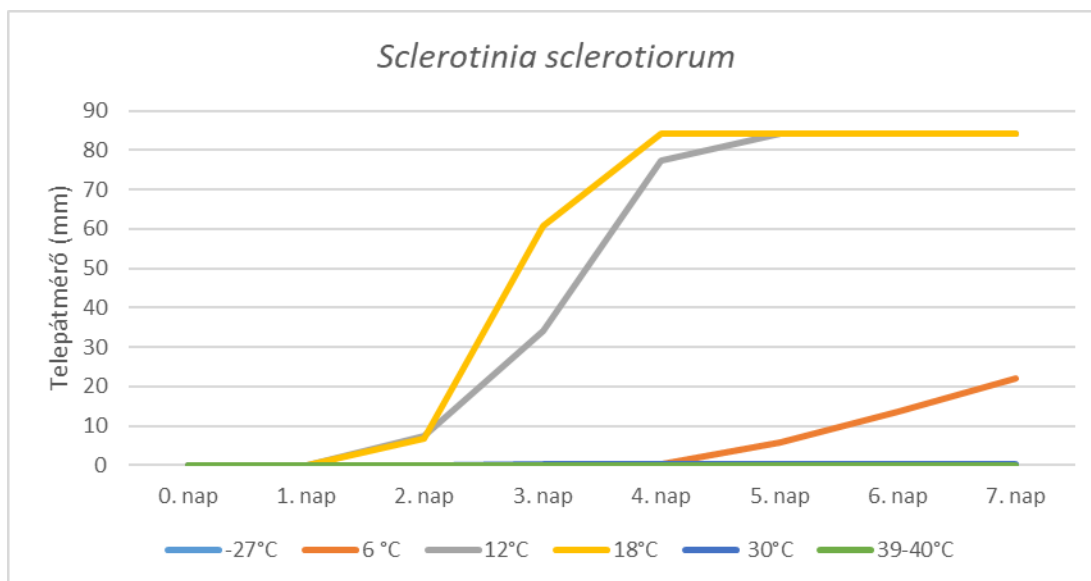
A vizsgálathoz a három termékből (Tigra, Trifender Pro, Contans WG) hígítási sort készítettem, melyeket agarba helyezve engedélyokirat szerinti 1X-es, 0,1X-es és 0,01X-es dózisban szuszpendáltam. Kiszámoltuk a szükséges Petri-csészék számát és a hígításonként felhasználandó PDA táptalaj mennyiségét. A hiperparazita gombák konídium-szuszpenziójának előállításához 7 napos ferdeagar tenyészetből mostuk ki steril desztvízzel a konídiumokat és töménységet úgy állítottuk be, hogy 9:1 arányú PDA és konídium-szuszpenzió kiadja az engedélyokirat szerinti töménységnek megfelelő értéket. Az alacsonyabb töménységű szuszpenzióknál hasonló módon jártam el. A konídium-szuszpenziók mindig kézmeleg, de még könnyen folyó PDA táptalajhoz került hozzáadásra. A kiöntött és megdermedt fertőzött agar közepére steril szkleróciumokat helyeztem (kivéve a kontroll agarlemezeket). A Petri-csészéket 23°C-ra helyeztem 7 napig, ez idő alatt vizsgáltam, hogy a különböző koncentrációk hogyan hatnak a szkleróciumokra. A hetedik

nap után még 28 napig tároltam őket a laboratóriumban, változást figyelve. A kísérlet végeztével fotódokumentációkat végeztem (Aponyiné et al., 2004).

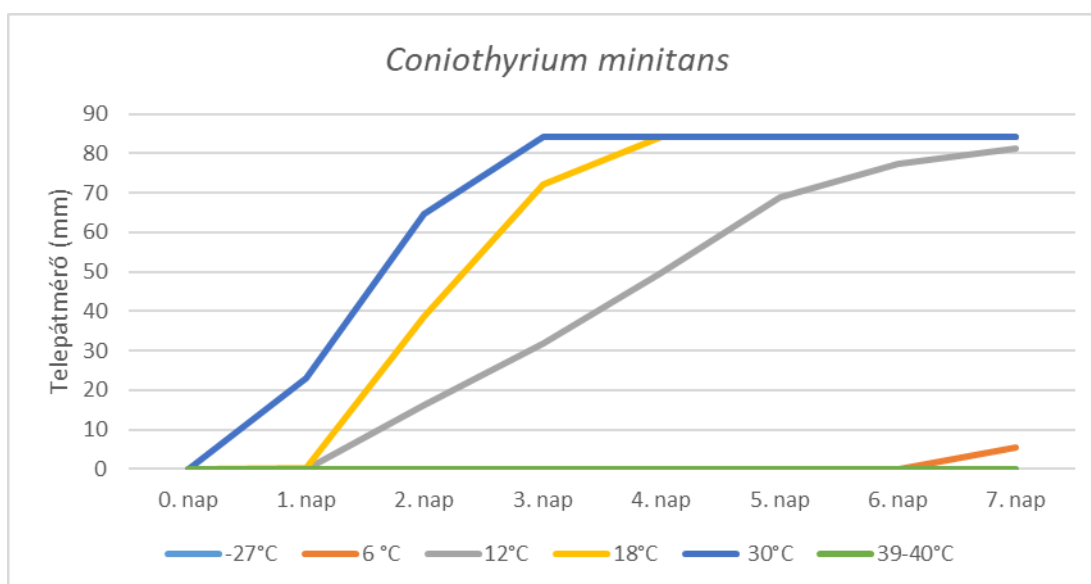
4. Eredmények

4.1. Hőmérséklet-kísérlet diagramok

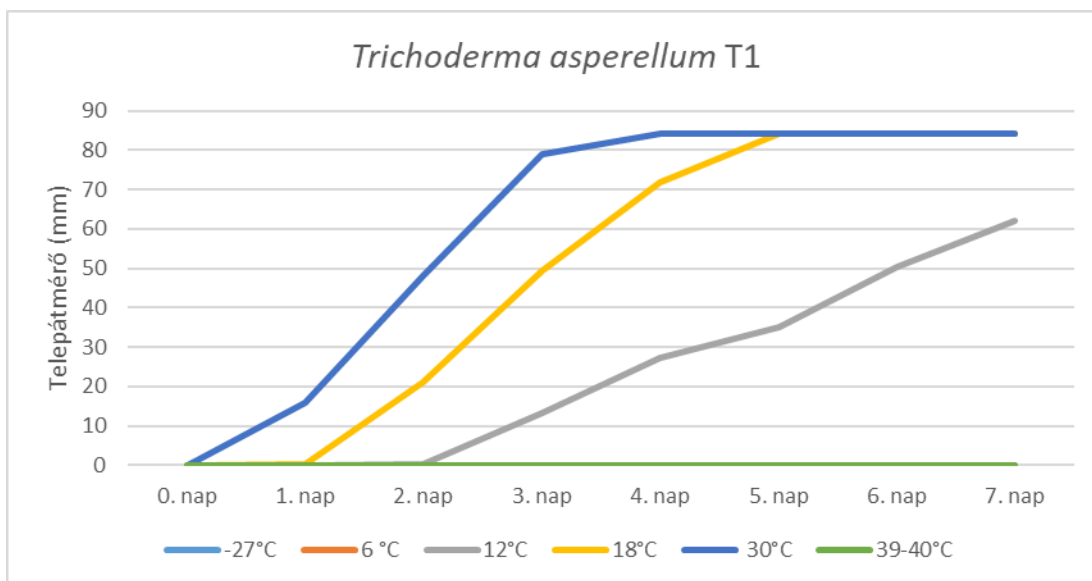
A különböző hőmérsékleten inkubált micélium korongokból történő növekedés a következőképpen alakult a *Sclerotinia sclerotiorum* (1. ábra), a *Coniothyrium minitans* (2. ábra), a *Trichoderma asperellum* T1 (3. ábra), valamint a *Trichoderma asperellum* T34 (4. ábra) esetében, 7 napra vonatkoztatva:



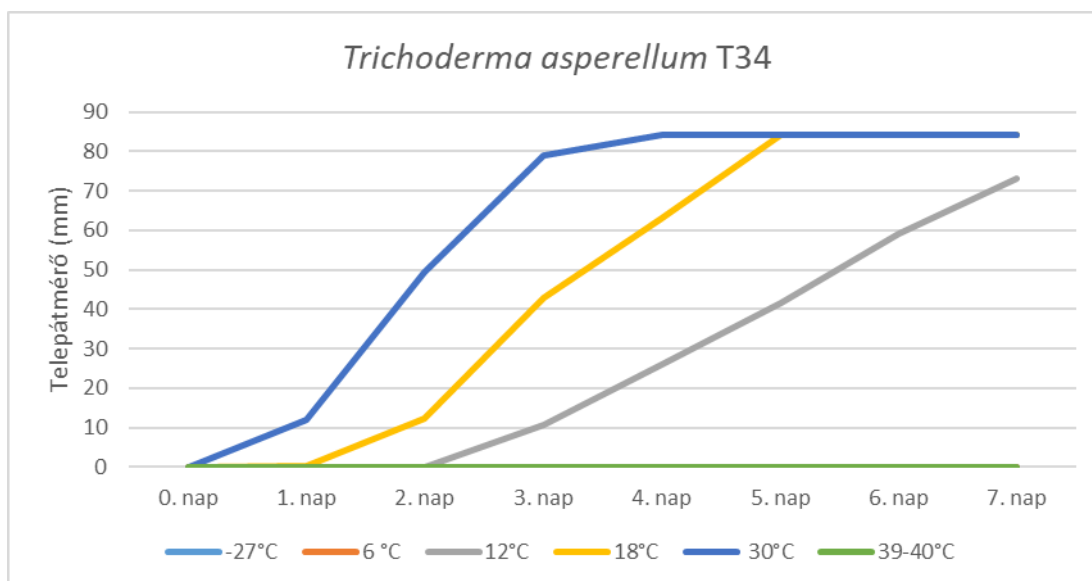
1. ábra: *Sclerotinia sclerotiorum* telepátmérő változása különböző hőmérsékleteken



2. ábra: *Coniothyrium minitans* telepátmérő változása különböző hőmérsékleteken



3. ábra: *Trichoderma asperellum* T1 telepátmérő változása különböző hőmérsékleteken

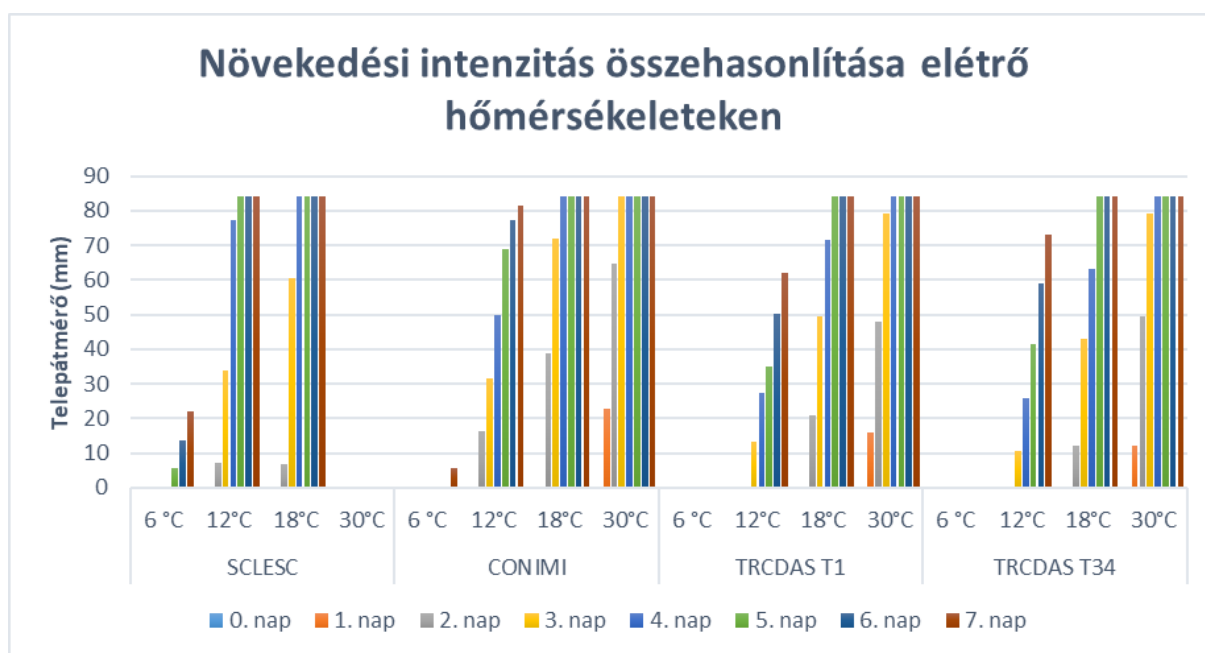


4. ábra: *Trichoderma asperellum* T34 telepátmérő változása különböző hőmérsékleteken

A következő diagram áttekinthetőségéhez az alábbi táblázatban (1. táblázat) található a fajokhoz tartozó EPPO-kód (URL⁸):

Faj neve	EPPO-kód
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	SCLESC
<i>Coniothyrium minitans</i>	CONIMI
<i>Trichoderma asperellum</i> (T1)	TRCDAS (T1)
<i>Trichoderma asperellum</i> (T34)	TRCDAS (T34)

A növekedési intenzitás egymás mellé illesztve a következő diagram szemlélteti (5. ábra):



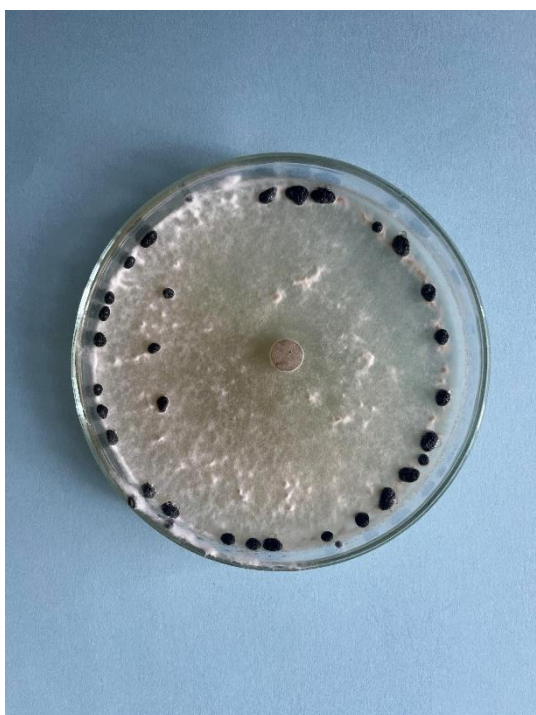
1. ábra: A kórokozó és a hiperparazita gombák telepátmérő változásai különböző hőmérsékleten

4.2. Hőmérséklet-kísérlet kiértékelése

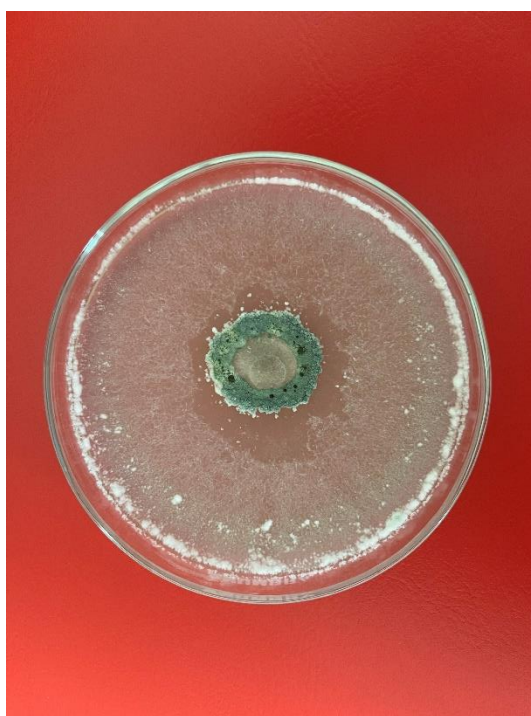
A *Sclerotinia sclerotiorum* esetében megfigyelhető, hogy a többi fajhoz képest alacsonyabb (6 °C és 12 °C) hőmérsékleten intenzívebb növekedést mutatott. A hiperparazita szervezetek közül csak a *Coniothyrium minitans* produkált látható terjedést a Petri-csészében 6 °C-on, valamint 12 °C-on is jobb eredményeket mutatott. A két *Trichoderma asperellum* törzs közel azonos intenzitással növekedett mindegyik hőmérsékleten 30 °C -kal bezárólag. 39-40 °C-on egyik gomba sem mutatott érdemi növekedést.

4.2.1. Hőmérséklet-kísérlet képei

A következőkben a 18 °C-ra inkubált *S. sclerotiorum* (6. ábra), *C. minitans* (7. ábra), *T. asperellum* T1 (8. ábra) és *T. asperellum* T34 (9. ábra) telepeit mutatom be képeken.



6. ábra: *Sclerotinia sclerotiorum*



7. ábra: *Coniothyrium minitans*



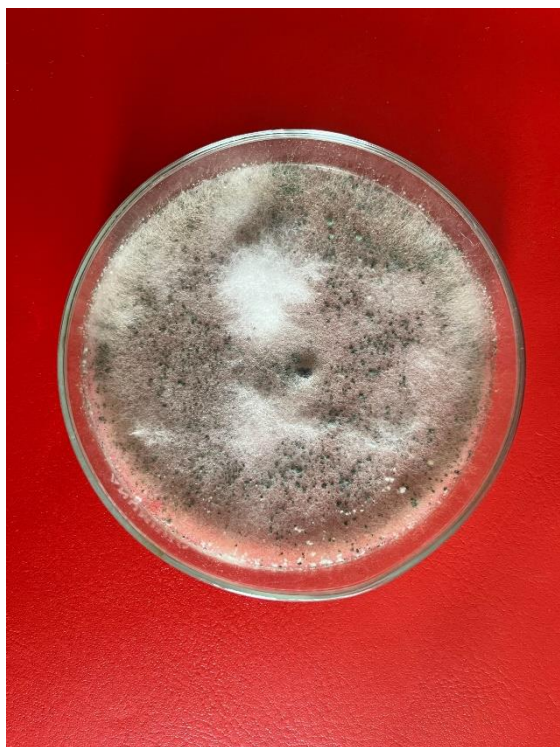
8. ábra: *Trichoderma asperellum* T1



9. ábra: *Trichoderma asperellum* T34

4.3. Koncentrációs-kísérlet fertőzött agar lemezen kiértékelés

A kísérlet során az 1X-es dózisban alkalmazott *Coniothyrium minitans* 23°C-on már a második napon egyöntetű telepet képzett, valamint benőtte az agar lemezen található szkleróciumot. A 0,1X-es dózis esetében szintén benőtte a szkleróciumot, viszont a telepek enyhén fragmentáltak voltak. 50-60%-ban nőtt be a Petri-csészét a hiperparazita gomba 0,01X-es dózis alkalmazásával, a második napon. Ekkor még úgy tűnt, hogy utóbbi hígítás mellett a szkleróciumból is elindultak a hifák. A napok elteltével egyre világosabbá vált, hogy a *C. minitans* benőtte a szkleróciumokat mindegyik dózis esetében, s nem engedte, hogy elterjedjen. A kísérlet végeztével 28 nap múlva sem történt változás, ekkor fotódokumentációt készítettem az 1X-es (10. ábra), a 0,1X-es (12. ábra) és a 0,01X-es (14. ábra) dózisú, nem terjedő szkleróciumot tartalmazó telepekről, valamint a hozzájuk tartozó kontrollokról (11. ábra), (13. ábra), (15. ábra).



10. ábra: *C. minitans* (1X) – *S. sclerotiorum*



11. ábra: *C. minitans* (1X)



12. ábra: *C. minitans* (0,1X) – *S. sclerotiorum*



13. ábra: *C. minitans* (0,1X)



14. ábra: *C. minitans* (0,01X) – *S. sclerotiorum*



15. ábra: *C. minitans* (0,01X)

A *Trichoderma asperellum* T1-es törzse a második napon sem mutatott érdemi növekedést, ellenben a szkleróciumból elindult a micélium képződés. Az ezt követő napokban a hiperparazita gomba is növekedésnek indult és még időben benőtte a szkleróciumot mindegyik dózis esetében. Habár a növekedés nem volt egyöntetű és még 28 nap után is fragmentált telepeket lehetett csak látni, a *S. sclerotiorum* növekedése megállt. Továbbiakban láthatók az 1X-es (16. ábra), 0,1X-es (18. ábra), 0,01X-es (20. ábra) dózisú, nem terjedő szkleróciumot tartalmazó telepekről, valamint a hozzájuk tartozó kontrollokról (17. ábra, 19. ábra, 21. ábra) fotók.



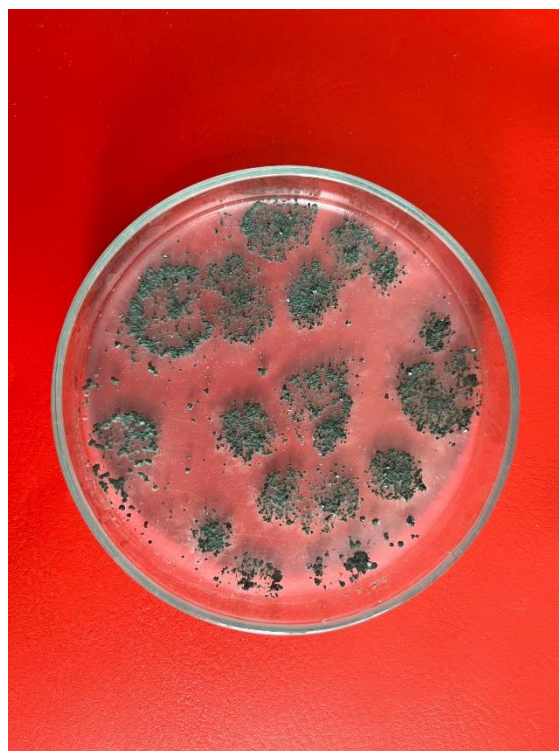
16. ábra: *Trichoderma asperellum* T1 (1X)
- SCLESC



17. ábra: *Trichoderma asperellum* T1 (1X)



18. ábra: *Trichoderma asperellum* T1
(0,1X) – SCLESC



19. ábra: *Trichoderma asperellum* T1
(0,1X)



20. ábra: *Trichoderma asperellum* T1
(0,01X) - SCLESC



21. ábra: *Trichoderma asperellum* T1
(0,01X)

A *Trichoderma asperellum* T34-es törzse esetében az agar lemez felülete micéliummal átszőtt volt már a második napon 1X-es dózis esetében. Ezen a napon a 0,1X-es változatnál foltokban elindult a hiperparazita micélium képződése, emellett a szkleróciumból is megkezdődött a növekedés. A 0,01X-es dózis esetében a *T. asperellum* csak kisebb foltokban jelent meg, a *S. sclerotiorum* ezzel egy menetben szintén növekedni kezdett. Az utána lévő napokban a hiperparazita micéliálisan benőtte az agart és ezzel együtt a szkleróciumot is. Ez az állapot 28 nap elteltével a kísérlet után sem változott. Az 1X-es (22. ábra), 0,1X-es (24. ábra), 0,01X-es (26. ábra) dózisú, nem terjedő szkleróciumot tartalmazó telepekről, valamint a hozzájuk tartozó kontrollokról (23. ábra, 25. ábra, 27. ábra).



22. ábra: *Trichoderma asperellum* T34
(1X) - SCLESC



23. ábra: *Trichoderma asperellum* T34
(1X)



24. ábra: *Trichoderma asperellum* T34
(0,1X) - SCLESC



25. ábra: *Trichoderma asperellum* T34
(0,1X)



26. ábra: *Trichoderma asperellum* T34
(0,01X)



27. ábra: *Trichoderma asperellum* T34
(0,01X)

Mindhárom hiperparazita gomba már a 7 napos kísérlet alatt elkezdett sporulálni, s ez a 28. napig is kitartott. Az összehasonlításhoz a *S. sclerotiorum* kitartóképletéből is készítettem kontrollt. (28. ábra) Időközben - egy befertőződés miatt - steril fülke alatt dugófúróval kivettem belőle két baktérium telepet, hogy esetlegesen ne akadályozza a gomba növekedését.



28. ábra: *Sclerotinia sclerotiorum*

5. Következtetések, javaslatok

A hőmérséklet-kísérlet eredményeire alapozva, megállapítható, hogy alacsonyabb hőmérsékleten a *Sclerotinia sclerotiorum* nagyobb növekedési potenciállal rendelkezik, mint az általam vizsgált hiperparazita szervezetek. Habár a *Coniothyrium minitans* - mely Contans WG néven tényleges gombaölő szerként van forgalomban - hasonló értékeket mutatott, kérdéses, hogy bizonyos esetekben (például napraforgó esetében) vetéssel egy menetben alkalmazva el tud-e terjedni olyan mértékben, hogy a *S. sclerotiorum* ellen fel tudja venni a harcot.

A *Trichoderma asperellum* törzsek inkább 20°C feletti hőmérsékleten mutatnak intenzívebb növekedést, tehát abban az esetben, ha esetleg *S. sclerotiorum* ellen akarnánk hasznát venni, figyelembe kell venni, hogy ha alacsony a talajhőmérséklet, akkor nem biztos, hogy a hiperparazita szervezetünk a várt eredményt hozza.

A koncentráció különbségek azt mutatják, hogy laboratóriumi körülmények között, 23°C hőmérsékleten az ajánlott dózisonál alacsonyabbat alkalmazva is hatékonyan parazitálja a szkleróciumokat mind a *C. minitans*, mind pedig a *Trichoderma* törzsek.

A tényleges konklúzió levonásához tenyészedényes, illetve szántóföldi vizsgálatokat szükséges végezni úgy, hogy figyelembe vesszük a hőmérsékletet, a haszonnövény vetési idejét, valamint a kijuttatott hiperparazita szuszpenzió mennyiségét, koncentrációját.

6. Felhasznált irodalmak jegyzéke:

- Abou-Hadid AF, Abed EL, Moneim ML, Tia MMM, Aly AZ, Tohamy MRA* (2003): Biological control of some cucumber diseases under organic agriculture. *Acta Horti* 608:227–236
- Aponyiné G. I. - Kis Gy. - Magyarné Lőrincz N. (szerk.)* (2004): Mérgezett agar-lemezes módszer fungicidek vizsgálatához - Fungicid és baktericid vizsgálati módszertan - Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium Növény- és Talajvédelmi Főosztály, Budapest, p. 53-60
- Darvas B. - Polgár A. L. - Schwarczinger I. - Turóczy Gy.* (1999): A biológiai növényvédelem és helyzete Magyarországon - MTA Növényvédelmi Kutatóintézet, Budapest, p. 127-133
- Érsek T. – Németh L.* (2014): Növénykórtan, Mosonmagyaróvár, p. 88, 167, 172, 197
- Fischl G.* (1995): Napraforgó. In: *Horvát J. (szerk.): A szántóföldi növények betegségei, Mezőgazda kiadó, Budapest, pp. 107-125*
- Fischl G. (szerk.)* (2008): A növénykórtan alapjai - Kari jegyzet - Pannon Egyetem Georgikon Kar, Keszthely, p. 94-95
- Glits M. – Horváth J. – Kuroli G. – Petróczi I. (szerk.)* (1997): Növényvédelem – Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 157, 213, 226, 227
- Grendene A. - Minardi P. Giacomini A. - Squartini A. - Marciano P.* (2002): Characterization of the mycoparasite *Coniothyrium minitans*: comparison between morpho-physiological and molecular analyses. *Mycol. Res.* 106 (7): 796–807
- Gribek D.* (2020): Sok csapadék, primer fertőzés, jelentős termés kiesés a napraforgóban - *Agrofórum* 31: 76-77
- Horváth J. (szerk.)* (1993): Részletes növénykórtan - Egyetemi jegyzet - Pannon Agrártudományi Egyetem Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar, Keszthely, p. 117-118.
- Kristó I. - Erdei K. - Máté I.* (2011): Mikrobiológiai készítmények alkalmazás a napraforgó növényvédelmében. *Agrártudományi Közlemények* 2011/43. különszám, p. 36-40
- Sun H.- Wu L. – Hao Y. - Liu C.- Pan L.- Zhu Z.* (2020): Tolerance mechanism of *Trichoderma asperellum* to Pb²⁺: response changes of related active ingredients under Pb²⁺ stress In: *The Royal Society of Chemistry*, 10, p. 5202-5210

Südiné F. A. - Erdős E. – Tóthné B. F. – Turóczy Gy. – Tóth F. (2019): *Metarhizium anisopliae* és *Trichoderma asperellum* kölcsönhatásának vizsgálata laboratóriumi és szabadföldi körülmények között. Növényvédelem 80 [N. S. 55] 7: 295-301

Szepessy I. (1977): Növénybetegségek - Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, p. 266-267, 328-329

T Prameela Devi, N. Prabhakaran, Deeba Kamil (2017): Development of Species Specific Markers for the identification of *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma harzianum* - Vegetos- An International Journal of Plant Research p. 94

Tóthová M. et al. (2011): Fehér penész - szklerotíniás szár- és tányérrothadás - Zöld Növényvédelem-Mobil tanulás az ökológiai gazdálkodásban - Agroinform, Budapest, p. 86-89

URL¹: https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal/agriculture-and-green-deal_en

URL²: <https://agromedium.com/hu-hu/>

URL³: Xilon
Engedélyokirat: https://kwizda.hu/AGRO_HU/products/x/Xilon/Product%20Management/Registration%20Report/Xilon%20Okirat.pdf

URL⁴: Gomba gombának farkasa: Trichoderma-alapú mikofungicidek a biológiai védekezésben: <https://www.biokontroll.hu/gomba-gombanak-farkasa-trichoderma-alapu-mikofungicidek-a-biologiai-vedekezésben/>

URL⁵: Trifender Pro Engedélyokirat: <https://agromedium.com/wp-content/uploads/2020/09/trifenderpro2018.pdf>

URL⁶: Tigra Engedélyokirat: <https://agromedium.com/wp-content/uploads/2020/09/tigra.pdf>

URL⁷: Kórokozók elleni biológiai védekezés: http://trebag.hu/docs/2012_10_29/hu/776korokozok_elleni_vedekezés.pdf

URL⁸: <https://gd.eppo.int/>

Vajna L. (szerk.) (1987): *Coniothyrium minitans* Campbell - Növénypatogén gombák - Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, p. 213-214, 270-271

Vörös J. (1969): *Coniothyrium minitans* Campbell, a new hyperparasitic fungus in Hungary - Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung. 4: 221-227

Waghunde R. R. - Shelakeand M. R. - Sabalpara N. A. (2016): *Trichoderma*: A significant fungus for agriculture and environment. Academic Journals 11(22): 1953

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni a kutatásom során nyújtott segítséget és a sok támogatást konzulensemnek Dr. Kerekes Gábornak, Sülyné Máté Anitának, akik mindig rendelkezésemre álltak, ha elakadtam, vagy ha tanácsért fordultam hozzájuk. Köszönet illeti még a Széchenyi István Egyetem Albert Kázmér Mosonmagyaróvári Kar Növénytudományi Tanszéknek, ahol vizsgálataim folytak.

Hálás vagyok a sok türelemért és támogatásért melyet a családomtól és barátaimtól kaptam mindvégig.

A dolgozat elkészítéséhez az ELKH TKI (projektszám: 3200107) által támogatott ELKH-SZE PhatoPlant-Lab kutatócsoport valamint, az EFOP-3.6.1-16-2016-00017 / EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projekt járult hozzá.

