

## Oros Gyula<sup>491</sup> - Naár Zoltán<sup>492</sup>: *Trichoderma* törzsek szelektív érzékenysége agromikrobicidok és szennyező anyagok iránt

**Absztrakt:** Megvizsgáltuk 30 *Trichoderma* törzs viselkedését fejlődésük különböző szakaszaiban (konídiumcsírázás, hifanövekedés, konídiumképzés) 15 antibiotikum, 36 fungicid és 40 ásványi só iránt agar diffúziós eljárással. A különböző törzsek konídiumai 13-29 órás lag-fázist követően csíráztak ki, a hifanövekedés üteme 8-39 mm/nap között váltakozott, azonban a konídiumképzés minden esetben megindult a leoltást követő három napon belül. A törzsek mérgező vegyületek irányú érzékenységében jelentős, az életciklus során is megnyilvánuló különbségek mutatkoztak. A konídiumképzés bizonyult a legérzékenyebb életszakasznak. A törzsek érzékenysége és rendszertani helyzetük között nem volt összefüggés; az eubiotikus készítményekben leggyakrabban használt *T. harzianum* törzsek e vonatkozásban a más fajokhoz tartozó törzsekével hasonló mértékben különböztek egymástól. Összességében véve azonban a *Pachibasium* szekcióba sorolt fajok fokozottabban tolerálták a vizsgált vegyületeket, mint a *Longibrahium* és a *Trichoderma* szekció tagjai.

### Előzmények

A növénytermesztés többezeréves története egyben a termést veszélyeztető tényezőkkel szembeni védekezés története is. Az alkalmazott eszközök koronként, az adott társadalom mindenkori műszaki fejlettségének függvényében változtak, azonban rendszerint a rendelkezésre álló leghatékonyabb eszközök voltak. Fontos megjegyezni, hogy a növények védelmében alkalmazott eszköztárt nem a termés mennyiségének a növelésére, hanem a betakarítás biztonságának a fokozására használjuk. A cél nem az élő szervezetek irtása, hanem a károsítók tevékenységének gazdasági szempontból elhanyagolható szintre történő visszaszorítása. Napjainkban a különféle vegyszerek használata a leghatékonyabb növényvédelmi eljárás. Széleskörű alkalmazásuk az elmúlt évszázad műszaki/tudományos fejlődésének és a társadalmi szerkezet átalakulásának a következménye. Alkalmazásuknak azonban gátat szabnak a nemkívánatos mellékhatások, így a megvédendő növényt kísérő hasznos élőlények pusztulása, a felhasználás területéről történő elsodródás, továbbá a célszervezetek populációiban fellépő ellenállóság, mely utóbbi egy egy, nagy költségekkel kifejlesztett vegyület teljes hatásvesztéséhez vezet [1]. Az antagonista mikroorganizmusok felhasználásának lehetősége a növényeket megbetegítő kórokozók okozta termésvesztés leküzdésére mintegy száz éves múltra tekint vissza [2]. Közöttük a talajlakó, kozmopolita *Trichoderma* nemzetség tagjai kerültek a figyelem középpontjába [3,4], azonban ezen eubiotikus készítmények piaci értékét csökkentik, hogy csak szűk körben használhatók, mivel megtelepedésüket vagy kölcsönhatásukat más szervezetekkel a művelési eljárások során használt különféle vegyületek gátolják [5-7]. Ezért megvizsgáltuk 30 különböző rendszertani helyzetű és eltérő forrásból izolált *Trichoderma* törzs viselkedését fejlődésük három szakaszában (konídiumcsírázás, micélium növekedés és konídiumképzés) 15 antibiotikum, 36 fungicid, és 39 ásványi só iránt agar diffúziós eljárással [8].

### Anyagok és módszerek

#### Anyagok

A hatásvizsgálatokhoz használt vegyületeket hatásmódjuk szerint választottuk ki és kereskedelmi forgalomból származnak:

*antibiotikumok:* a01 – Kasugamycin [CAS RN 19408-46-9], a02 - Streptomycin [3810-74-0], a03 - Blastidicin [2079-00-7], a04 - Polyoxin AL [19396-06-6], a05 - Validamycin A [37270-94-3], a06 - Trichotecin [6379-69-7], a07 - Griseofulvin [126-07-8], a08 - Cycloheximide [66-81-9], a09 - Nystatin [1400-61-9], Amoxicillin [26787-78-8], Cefalexin [15686-71-2], Gentamicin [1403-66-3], Kanamycin [59-01-8], Nalidixic Acid [389-08-2], Rifampicin

<sup>491</sup> MTA Növényvédelmi Kutatóintézete, 1022 Budapest II. Herman Ottó út 15. gyulaoros@gmail.com

<sup>492</sup> Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Élelmiszertudományi Kutatóintézet, 1022 Budapest II. Herman Ottó út 15. z.naar@cfri.hu

[13292-46-1]; azol fungicidok: d01 - Prokloráz [67747-09-5], d02 - Penkonazol [66246-88-6], d03 - Triadimefon [43121-43-3], d04 - Triadimenol [55219-65-3], d05 - Myclobutanil [88671-89-0], d06 - Ketokonazol [65277-42-1], d07 - Metkonazol [125116-23-6]; morfolin származékok: d08 - Tridemorf [24602-86-6], d09 - Fenpropimorf [67306-03-0]; benzimidazol származékok: b01 - Karbendazim [10605-21-7], b02 - Dietofenkarb [87130-20-9], b03 - MCPD [33560-48-4]; guanidinek: g01 - Dodin [2439-10-3], g02 - Klórhexidin [55-56-1]; carboxamidok: c01 - Carboxin [5234-68-4]; halogénezett aromás vegyületek: f01 - PCP [87-86-5], f02 - Triklózán [3380-34-5], f03 - Kloranifometán [20856-57-9], Kloroneb [2675-77-6], Triforin [948595-12-8]; szerves foszfor vegyületek: 01 - Iprobenfosz [26087-47-8]; nitro fungicidok: n01 - Bronopol [52-51-7], n02 - Fenitropán [65934-95-4], n03 - DNRB [1594-56-5], n04 - CDNB [97-00-7], n05 - Dinokap [39300-45-3]; fenilamid származékok: Benalaxil [71626-11-4], Ciprofurám [69581-33-5], Metalaxil [57837-19-1], Ofurace [58810-48-3], Oxadixyl [77732-09-3]; thiol fungicidok: s01 - Thiomersal [54-64-8], s02 - TMTD [137-26-8], s03 - NaDDC [128-04-1], s04 - NaPDC [25769-03-3], s05 - Ziram [137-30-4]; ásványi sók: m01 -  $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [10060-12-5], m02 -  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  [7785-87-7], m03 -  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [7791-13-1], m04 -  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [13748-00-7], m05 -  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  [7758-99-8], m06 -  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  [7446-20-0], m07 -  $\text{SeO}_2$  [7446-08-4], m08 -  $\text{CdCl}_2$  [10108-64-2], m09 -  $\text{HgCl}_2$  [7487-94-7], m10 -  $\text{Ti}(\text{CH}_3\text{COO})$  [563-68-8], m11 -  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  [6080-56-4], m12 -  $\text{U}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [13520-83-7], LiCl [7447-41-8], NaCl [7647-14-5], KCl [7447-40-7], RbCl [77911-11-9], CsCl [7647-17-8],  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  [10034-99-8],  $\text{CaCl}_2$  [10043-52-4],  $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$  [10042-76-9],  $\text{BaCl}_2$  [10361-37-2],  $\text{ScCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [20662-14-0],  $\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [10023-94-2],  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [10277-43-7],  $\text{NdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [13477-89-9],  $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [13759-92-7],  $\text{DyCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [15059-52-6],  $\text{HoCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [14914-84-2],  $\text{ErCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [10025-75-9],  $\text{TmCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  [1331-74-4],  $\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [10035-01-5],  $\text{WO}_3$  [1314-35-8],  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [7783-85-9],  $\text{RhCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  [20765-98-4],  $\text{Pd}(\text{NO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  [10102-05-3],  $\text{H}_2\text{Cl}_6\text{Pt} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  [18497-13-7],  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  [17927-65-0],  $\text{GaCl}_3$  [13450-90-3],  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  [10025-82-8],  $\text{ThNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  [1328-29-5].

Táblázat 1: A *Trichoderma* törzsek tulajdonsága

Szekció <sup>a</sup>	Trichoderma fajok	Kód <sup>b</sup>	Eredet <sup>c</sup>	Növ. <sup>d</sup>	LF
H01	<i>T. aureoviride</i> Rifai	318	K, H	34 <sup>def</sup>	22
L01	<i>T. citrinoviride</i> Bisset	311	T, U	34 <sup>def</sup>	20
L02	<i>T. longibrachiatum</i> Rifai	313	T, H	30 <sup>def</sup>	20
L03	<i>T. pseudokoningii</i> Rifai	312	T, H	29 <sup>def</sup>	16
L04	<i>Hypocrea jecorina</i> Berk. & Broome	301	K, F	26 <sup>bde</sup>	13
L05	<i>T. reesei</i> Simmons	314	ind., U	34 <sup>def</sup>	23
L06	<i>T. ghanense</i> Doi Abe et Sugiyama	305	T, G	24 <sup>abc</sup>	19
L07	<i>T. parceramosum</i> Bisset	328	Dr, H	37 <sup>def</sup>	20
L08	<i>T. parceramosum</i> Bisset	315	ind., U	38 <sup>ef</sup>	22
L09	<i>T. saturnisporum</i> Hammil	316	T, A	24 <sup>abc</sup>	24
P01	<i>T. piluliferum</i> Webster & Rifai	306	T, P	15 <sup>ab</sup>	24
P02	<i>T. polysporum</i> (Link ex Pers.) Rifai	307	T, H	13 <sup>a</sup>	18
P03	<i>T. hamatum</i> (Bonorden) Bainier	308	T, H	26 <sup>bde</sup>	15
P04	<i>T. harzianum</i> Rifai	309	T, H	25 <sup>bcd</sup>	17
P05	<i>T. harzianum</i> Rifai	075	K, H	34 <sup>def</sup>	22
P06	<i>T. harzianum</i> Rifai	325	Ra, H	28 <sup>def</sup>	17
P07	<i>T. harzianum</i> Rifai	317	Rs, H	29 <sup>def</sup>	18
P08	<i>T. longipile</i> Bisset	338	K, H	29 <sup>def</sup>	22
P09	<i>T. minutisporum</i> Bisset	339	K, H	37 <sup>def</sup>	29
P10	<i>T. strictipile</i> Bisset	332	K, H	34 <sup>def</sup>	22
P11	<i>T. tomentosum</i> Bisset	331	K, H	33 <sup>def</sup>	21
P12	<i>T. virens</i> von Arx	310	T, H	32 <sup>def</sup>	21
T01	<i>T. atroviride</i> Karsten	320	T, H	33 <sup>def</sup>	19
T03	<i>T. koningii</i> Oudemans	322	T, H	34 <sup>def</sup>	23
T04	<i>T. strigosum</i> Bisset	340	T, H	34 <sup>def</sup>	20
T05	<i>T. viride</i> Persoon ex Gray	319	T, H	32 <sup>def</sup>	16
T06	<i>H. muroiana</i> Hino et Katsumoto	302	Le, J	37 <sup>def</sup>	20
T07	<i>H. muroiana</i> Hino et Katsumoto	303	Am, J	30 <sup>def</sup>	20
T08	<i>H. muroiana</i> Hino et Katsumoto	304	Le, J	37 <sup>def</sup>	22
NO1	<i>T. spirale</i> Bisset	333	T, H	36 <sup>def</sup>	25

<sup>a</sup>Szekció: H=Hypocreanum, L= Longibrachiatum, P= Pachybasium, T= Trichoderma, N= nincs. <sup>b</sup>A kód szám megfelel a Mycology Collection (WDCM824) B sorozat számnak. <sup>c</sup>Forrás és lelőhely: K= kéreg, T= talaj, ind.= ipari törzs, Dr= Diplocarpon rosae F.A. Wolf sztróma, Ra= Rhytisma acerium (Pers.) Fr. sztróma, Rs= Rhizoctonia solani Kühn pseudoszlekrócium, Cl= Fusarium oxysporum Schltdl. fertőzött Chionodoxa lucillae Boiss. hagyma, Le= Lentinula edodes (Berk.) Pegler, Am= Armillaria mella (Vahl) P. Kumm. rhizomorfa, H=Magyarország, F= Francia Guyana, U= USA, G= Ghana, A= Ausztrália, P= Papua Új Guinea, J= Japán. <sup>d</sup>Növekedés (mm/day) Burgonya Glükóz Agaron. Az azonos betűvel jelölt értékek nem különböznek szignifikánsan  $p_{0.05}$  szinten (LSD<sub>05</sub>= 11; F=9.47). <sup>e</sup>A lag fázis a növekedés/idő függvényével közelített érték (óra).

A vegyületek toxicitására és fizikai tulajdonságai vonatkozó adatok a gyártók által nyilvánosságra hozott biztonsági adatlapokon közölt értékek. A hatóanyagokból a megfelelő oldószerben 0.2 M-os törzsoldatokat készítettünk.

### Teszt gombák

Az 1.táblázatban felsorolt *Trichoderma* törzsek a MTA Növényvédelmi Kutató Intézetének törzsgyűjteményében (Mycology Collection, WDCM824) található, többségük magyarországi lelőhelyekről származik. A törzseket burgonya-glükóz agaron (PDA, CM0139B, Oxoid, Basingstoke) tartottuk fenn (22±1°C). Tulajdonságaikat (konídiumcsírázáshoz és a konídiumképzéshez szükséges lag-fázis, hifa növekedés sebessége) szintén ezen a táptalajon állapítottuk meg (1. táblázat).

A törzseket 22– 25°C-on öt napig tenyésztetük keményítővel (10 gL<sup>-1</sup>), kazeinnel (2 gL<sup>-1</sup> casein digest (Difco, Detroit, USA) és vitaminokkal (pyridoxin HCl, thiamin HCl, riboflavin és nicotinamid - 1, 10, 1 és 20 mgL<sup>-1</sup>, megfelelőképpen) kiegészített glükóz-minerál agaron (12 gL<sup>-1</sup> agar-agar No.1., Oxoid; 10 gL<sup>-1</sup> glükóz és KCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O at 10, 12, 0.5, 0.5, 0.5 és 0.5 gL<sup>-1</sup> megfelelőképpen). Az analitikai minőségű glükózt, keményítőt ásványi sókat a Reanal-tól (Budapest) a vitaminokat pedig a CHINOIN-tól (Budapest) vásároltuk. A konídiumokat 0,05 % Tween 20 (Reanal) tartalmú steril desztillált vízzel mostuk le, és a 10<sup>6</sup> sejtmL<sup>-1</sup> sűrűsége állítottuk be desztillált vízzel.

### Hatásvizsgálat

A törzsek érzékenységét agar diffúziós eljárással mértük meg [8]. A vizsgálatokhoz 5 gL<sup>-1</sup> malátával (Fluka, Milwaukee, WI, USA), 2 gL<sup>-1</sup> szójapeptonnal (L44, Oxoid) és vitaminokkal (lásd fentebb) kiegészített 11 gL<sup>-1</sup> agar-aggal merevített, hagyományos módon készített [9] burgonyalevest használtunk. A standard konídiumszuszpenzióval beoltott tápagart (45-50°C) 5 mm vastagságban (~10<sup>5</sup> sejt) Petri csészébe öntöttük, és megszilárdulást követően helyeztük el centrálisan a vizsgálandó anyagot 1 gM tömegben tartalmazó 5 mm átmérőjű papírkorongot. A táplemezeket 21±1 °C-on inkubáltuk, majd 24 óra múlva megmértük a kialakult gátlási zóna átmérőjét (A), illetve 72 óra múltán a konídiumképzést gátló zóna átmérőjét (B). Minden mérést három ismétlésben végeztünk el. Azon eseteket, ahol a gomba felülnötte a papírkorongot, hatástalannal tekintetük (1. ábra).

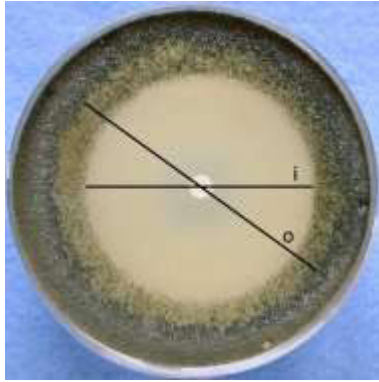
### Adatfeldolgozás

Az egyes változatok közötti különbség szignifikáns voltát Fisher próbával állapítottuk meg [10]. A mérési eredményeket (törzs×vegyület) mátrixokba rendeztük (belső átmérő =A mátrix, külső átmérő = B mátrix), majd probit értékekre transzformáltuk, és ezen transzformált adatokat elemeztük többváltozós statisztikai módszerekkel. A vegyületek hatékonyságát, illetve a törzsek érzékenységét Potency Mapping eljárással számítottuk ki [11], csoportosításukhoz Spectral Component Analysis többváltozós módszert használtunk [11]. A számításokhoz a Microsoft Excel97 matematikai rutinjait, illetve a Statistica 5. programcsomagot használtuk fel.

### Eredmények és megvitatásuk

#### A törzsek tulajdonságai

A *Trichoderma* törzsek növekedési erélye 13 és 38 mm/nap között váltakozott, közöttük a *T. polysporum* a leglassabban míg a *T. parceramosum* a leggyorsabban növekedett (1. táblázat). A probit/idő függvény korrelációs együtthatója minden esetben meghaladta 0,92 értéket (P < 5%). A lag fázis 13 és 29 óra között változott törzstől függően, de két esetet kivéve (P09 és NO1) 24 órán belül a növekedés szemmel láthatóan (~1 mm) megindult. A konídiumképzés négy napon belül az összes esetben elkezdődött, és a kiegészítésként a táptalajhoz hozzáadott szója pepton és kazein jelenlétében már a 48 óra múltán elkezdődött. E törzsek közül csak a *T. virens* (P12) fejlesztett jelentős légmicélumot. Mindebből arra a következtetésre jutottunk, hogy a gátlási zónák megjelenése megbízhatóan értékelhető leoltást követő 24 illetve 72 múltán.



*T. ghanense* (L06) - prokloráz



*H. muroiana* (T08)

1. ábra: Gátlási zónák kialakulása

(*i*=belső zóna, teljes gátlás, a konídiumok nem csíráztak ki, *o*=a konídiumépzés gátolt. A Cd és Tl esetében a papírkorongokon micéliumnövekedés és konídiumképzés is megfigyelhető.)

### A törzsek érzékenysége

Az ismételt mérések variációs koefficiense 0 és 7% között váltakozott összefüggésben a vizsgált törzssel és vegyülettel. A legmagasabb értékeket *T. virens*, illetve a polioxin antibiotikum esetében tapasztaltuk, azonban az ismétlések közötti eltérés F-értéke nem volt szignifikáns ( $F_{\text{cak}} = 0.34$ ,  $F_{10\%} = 2.71$ ), ami a mérések megbízhatóságát bizonyítja. A *Trichoderma* törzsek érzékenységét vegyületenként nem közöljük az adatmátrixok terjedelmes volta miatt. Potenciális érzékenységet az egyes vegyület csoportok iránt a 2. és 3. táblázatban foglaltuk össze.

Táblázat 2: A *Trichoderma* törzsek potenciális érzékenysége<sup>a</sup> különböző szerkezetű vegyületek iránt

Kód	Fajok	Vegyületcsoportok									
		antibiotik.		ásványi só		thiol-vegy.		nitro-vegy.		halogen-	
		B	K	B	K	B	K	B	K	B	K
H01	aureovir.	28,1	38,1	8,1	11,3	29,7	41,4	18,0	24,3	21,5	22,8
L01	citrinovir.	23,6	30,8	8,7	11,5	37,0	44,3	27,0	34,7	22,1	24,2
L02	longibrach.	23,0	33,0	13,6	20,7	34,5	46,2	20,7	23,6	22,8	24,2
L03	pseudokon.	23,9	34,7	10,1	13,0	35,2	42,8	28,3	37,0	22,2	23,4
L04	<i>H. jecorina</i>	18,5	27,1	5,8	9,7	33,1	39,8	17,7	20,6	22,6	26,4
L05	reesei	26,3	34,4	4,2	5,1	38,5	43,7	25,8	32,4	22,6	23,9
L06	ghanense	17,2	29,1	16,1	23,5	33,6	45,3	23,2	33,1	24,6	26,1
L07	parceram.	15,7	18,1	7,5	9,8	28,6	37,1	25,4	31,2	20,7	26,0
L08	parceram.	18,3	27,3	6,2	8,2	34,1	44,1	25,7	31,0	22,2	23,9
L09	saturnisp.	26,7	37,6	8,9	12,8	35,0	44,4	28,3	33,3	22,6	24,9
P01	piluliferum	16,0	19,6	9,1	10,9	33,8	43,5	21,5	24,4	21,3	23,3
P02	polysporum	29,0	42,1	4,7	5,9	34,6	54,2	27,7	33,9	21,0	23,8
P03	hamatum	19,9	45,7	4,1	5,3	30,0	38,8	18,7	24,6	21,2	24,4
P04	harzianum	23,8	30,9	11,5	17,3	31,8	44,3	23,9	28,2	22,2	23,5
P05	harzianum	12,6	16,4	9,2	13,2	26,4	32,4	18,7	21,5	29,6	39,0
P06	harzianum	15,7	18,1	9,8	14,9	26,7	33,3	27,3	30,2	20,1	26,0
P07	harzianum	18,4	25,4	15,7	20,9	28,7	36,5	19,0	20,7	29,2	38,2
P08	longipilis	14,0	17,1	8,9	10,4	27,3	31,0	21,2	23,7	20,8	26,4
P09	minutisp.	17,6	22,7	9,8	13,7	31,9	34,6	27,1	30,2	21,2	27,7
P10	strictipilis	9,5	11,4	8,2	10,2	27,6	32,7	27,9	30,6	21,2	27,5
P11	tomentos.	26,3	37,7	6,2	7,6	29,3	41,6	20,3	22,5	20,0	24,8
P12	virens	19,5	35,1	6,6	8,2	30,5	40,3	20,6	24,2	20,1	22,3
T01	atroviride	23,3	33,5	8,7	12,0	33,8	42,5	21,6	24,2	22,2	23,5
T03	koningii	25,7	36,7	10,2	13,0	26,9	42,1	21,9	24,1	21,5	24,1
T04	strigosum	13,6	17,5	11,5	14,6	32,5	41,2	27,5	32,3	21,4	24,5
T05	viride	26,1	39,8	12,0	17,5	33,4	42,5	30,1	30,4	21,7	24,9
T06	<i>H. muroiana</i>	10,7	14,2	11,3	14,3	27,8	33,4	24,6	34,0	21,7	25,8
T07	<i>H. muroiana</i>	15,0	18,9	11,8	13,2	30,1	36,8	26,3	30,0	20,0	25,2
T08	<i>H. muroiana</i>	14,4	17,5	12,4	13,7	29,3	36,6	26,3	30,7	19,8	23,3
NO1	spirale	13,6	24,2	9,7	13,5	32,5	39,2	25,5	31,5	20,7	29,2
Pot. hatékonyság		20,4	26,6	22,1	26,7	19,5	27,8	9,3	12,5	31,5	40,2

<sup>a</sup> Az alapadat mátrixokból (B=belső átmérő, K=külső átmérő) Potency Mapping eljárással [11] leválasztott potenciális érzékenység értékek vegyület csoportonként.

Egyetlen törzs sem mutatkozott toleránsnak az összes vizsgált vegyület iránt, a *T. ghanense* bizonyult a legérzékenyebbnek és a *T. strictipilis* a legtoleránsabbnak. Azonban jelentős különbség nyilvánult meg az egyes törzsek érzékenységében, ami különösen a konidiogenezis érzékenységében nyilvánult meg. Ez utóbbi vonatkozásban a *T. ghanense*, *T. polysporum* és *T. hamatum* törzsek különültek el (2. ábra). A gátlási zónák kialakulást követően az oltást követő 7 nap múlva sem figyeltünk meg micélium növekedést a belső zónán a központ irányába. Ennek alapján feltételezzük, hogy sem vegetatív adaptáció (szektoriális ellenállóság), sem a vegyületek olyan mértékű bomlása vagy bontása nem ment végbe, ami hatásukat az adott körülmények között befolyásolta volna.

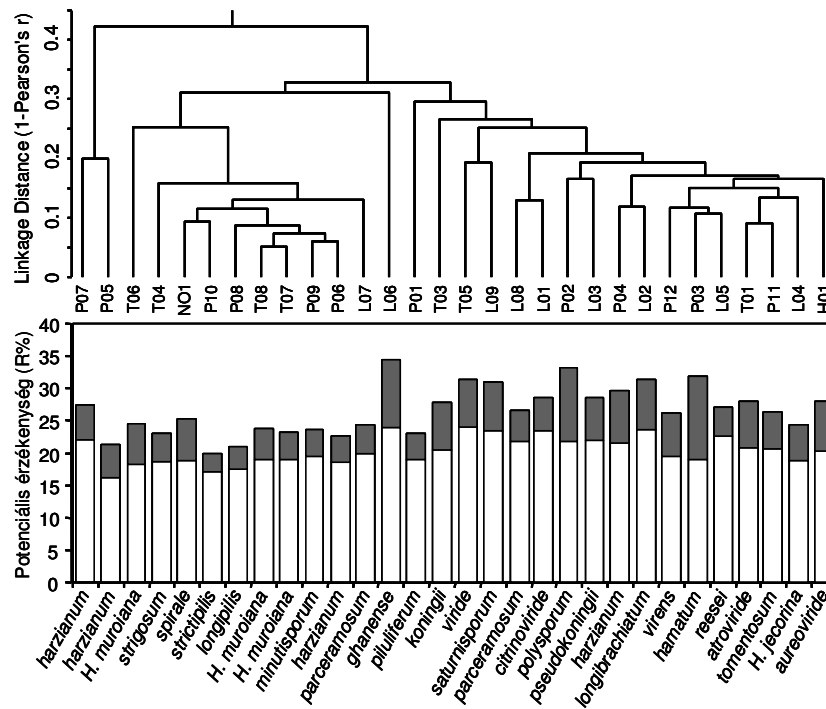
Táblázat 3: A *Trichoderma* törzsek potenciális érzékenysége<sup>a</sup> szerves gombaölőszerek iránt

Kód	Faj	Vegyületcsoportok									
		foszfo-		karboxin		guanidin		benzimidaz.		azol-szárm.	
		B	K	B	K	B	K	B	K	B	K
H01	aureovir.	24,9	24,9	23,9	23,9	29,4	33,2	14,5	16,2	23,4	37,0
L01	citrinovir.	26,2	26,2	36,7	36,7	30,5	33,1	14,2	15,6	33,0	38,9
L02	longibrach.	32,1	32,1	37,5	37,5	30,1	31,7	22,0	25,6	30,2	42,7
L03	pseudokon.	28,4	28,4	30,1	30,1	27,3	32,1	14,5	15,6	24,2	34,4
L04	H. jecorina	24,9	24,9	22,7	22,7	28,0	29,7	10,6	17,0	27,3	34,5
L05	reesei	23,9	23,9	41,2	41,2	40,7	34,6	14,5	15,6	30,2	38,4
L06	ghanense	24,2	24,2	22,7	22,7	29,0	41,8	22,0	31,6	35,5	47,8
L07	parceram.	0,0	0,0	27,4	27,4	30,3	32,5	21,1	26,3	31,1	37,1
L08	parceram.	24,8	24,8	35,9	35,9	30,7	31,8	14,1	16,3	35,8	39,5
L09	saturisp.	26,2	26,2	37,9	37,9	31,5	37,5	14,2	14,7	30,2	43,1
P01	piluliferum	0,0	0,0	22,7	22,7	30,8	32,0	0,0	0,0	30,2	38,6
P02	polysporum	22,7	22,7	0,0	0,0	33,2	34,1	22,1	31,1	26,3	55,7
P03	hamatum	24,9	24,9	24,9	24,9	28,6	32,7	22,7	29,5	26,2	55,3
P04	harzianum	23,9	23,9	26,2	26,2	28,2	33,6	15,0	19,7	25,9	41,7
P05	harzianum	0,0	0,0	0,0	0,0	27,6	30,4	7,6	21,6	21,5	27,7
P06	harzianum	0,0	0,0	30,9	30,9	28,2	30,4	12,9	14,8	24,1	28,4
P07	harzianum	0,0	0,0	23,9	23,9	30,0	34,1	13,5	14,5	33,8	38,7
P08	longipilis	0,0	0,0	22,7	22,7	27,3	29,8	12,6	13,6	24,4	31,3
P09	minutisp.	0,0	0,0	23,9	23,9	30,6	31,9	12,7	13,2	23,8	30,0
P10	strictipilis	0,0	0,0	32,6	32,6	29,1	30,6	12,6	14,3	22,9	26,2
P11	tomentos.	23,9	23,9	22,7	22,7	26,2	26,7	14,2	16,0	29,8	35,5
P12	virens	24,9	24,9	29,0	29,0	29,4	32,4	13,9	16,3	27,5	34,5
T01	atroviride	22,7	22,7	32,6	32,6	28,8	33,5	14,6	16,9	25,1	40,5
T03	koningii	22,7	22,7	22,7	22,7	28,3	31,5	22,0	29,8	21,6	31,6
T04	strigosum	0,0	0,0	24,9	24,9	28,0	30,7	19,5	24,2	18,3	24,1
T05	viride	23,9	23,9	54,0	54,0	29,7	34,6	22,1	30,2	25,9	36,5
T06	H.muroiana	27,4	27,4	22,7	22,7	27,8	34,6	13,5	15,6	23,6	35,9
T07	H.muroiana	22,7	22,7	24,9	24,9	27,6	30,4	12,2	13,9	21,5	29,1
T08	H.muroiana	24,9	24,9	22,7	22,7	28,9	30,7	12,9	14,6	21,6	31,9
NO1	spirale	0,0	0,0	33,4	33,4	27,3	33,1	20,0	23,0	22,8	30,1
Pot. hatékonyság		20,4	23,9	28,4	22,0	25,8	16,7	16,7	27,1	27,1	29,4

<sup>a</sup> Az alapadat mátrixokból (B=belső átmérő, K =külső átmérő) Potency Mapping eljárással [11] leválasztott potenciális érzékenység értékek vegyület csoportonként.

Az egyes szekciókba sorolt törzsek átlagos érzékenysége kismértékben tért el egymástól, általában véve azonban a *Trichoderma*- és a *Pachibasium*-szekció tagjai toleránsabban voltak, mint a *Longibrachiatum* fajok. A törzsek potenciális érzékenységének leválasztását követően előállt, érzékenységi körüket jellemző spektrál komponenseket (SCMap) tartalmazó mátrixot cluster analízissel elemezve a törzsek három csoportot alkottak (2. ábra). Két *T. harzianum* törzs (P5 és P7) határozottan elkülönült a többiektől, minek oka a glutation konjugációs rendszeren keresztül érvényesülő ellenállóságuk lehet. A triadimenollal szembeni rezisztencia meglepő módon egy kivétellel (miklobutanil vs P5) nem terjedt ki a többi azol-származéokra. A másik két csoportba tartozó törzsek elkülönülésének okai további vizsgálatokat igényelnek. Azon tulajdonságok genetikai háttere, melyek alapján szekciókba sorolják őket, valószínűleg nincs kapcsolatban a vegyületek iránti spektrális érzékenységükkel, mivel a csoportokat eltérő helyzetű rendszertani törzsek alkotják. Ugyanez vonatkozik a származási helyre illetve forrásra is, tehát a környezeti adaptáció sem befolyásolja érdemben a hatáshelyek meglétét vagy

hiányát. A probit értékeket tartalmazó adatmátrixok (A és B), illetve az SCM elemzése főkomponens analízissel hasonló eredményre vezetett a törzsek csoportosulását illetően.



2. ábra: *Trichoderma* hasonlósága mérgező anyagok iránti érzékenyséjük szerint.

A hisztogram az alapadat mátrixokból (A mátrix=belső átmérő, fehér oszlop; B mátrix=külső átmérő, sötét oszlop) Potency Mapping eljárással [11] leválasztott potenciális érzékenység értékeket (50 vegyület törzsenként) tükrözi. A törzsfán a törzsek (kódszámuk megegyezik a 1. táblázatban találhatóival) közötti távolságok és kapcsolódási pontok kiszámításához összevontuk az A és B mátrix spektrális komponenseit.

### A vegyületek hatása

A vizsgált vegyületek közül 6 antibiotikum (Amoxicillin, Cefalexin, Gentamicin, Kanamycin, Nalidixic Acid, Rifampicin), 5 fenilamid származék (Benalaxil, Ciprofurám, Metalaxil, Ofurace, Oxadixyl) és 17 ásványi só (LiCl, NaCl, KCl, RbCl, CsCl,  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ ,  $\text{ErCl}_3$ ,  $\text{TmCl}_3$ ,  $\text{YbCl}_3$ ,  $\text{RhCl}_3$ ,  $\text{Pd}(\text{NO}_4)$ ,  $\text{H}_2\text{Cl}_6\text{Pt}$ ,  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)\text{Cl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{GaCl}_3$ ,  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$ ,  $\text{ThNO}_3$ ,  $\text{WO}_3$ ) szemmel láthatóan nem hatott a *Trichoderma* törzsek növekedésére az adott körülmények között. A többi vegyület konídiumcsírázást illetve konidiogenezist gátló hatása esetenként jelentősen különbözött egymástól. Például a validamicin a *T. spirale* (NO1), a griseofulvin a *T. hamatum* (P03), a bronopol a *T. reesei* (L04), a kadmium a *T. viride* (T05) konídiumainak a csírázását nem, képzésüket viszont jelentős mértékben gátolta. Általában véve az antibiotikumok és az azol származékok a konidiogenezist jelentősen nagyobb mértékben gátolták, mint a konídiumok csírázását (3. ábra). Néhány esetben a két átmérő különbsége alig haladta meg a mérhető 1 mm-t.

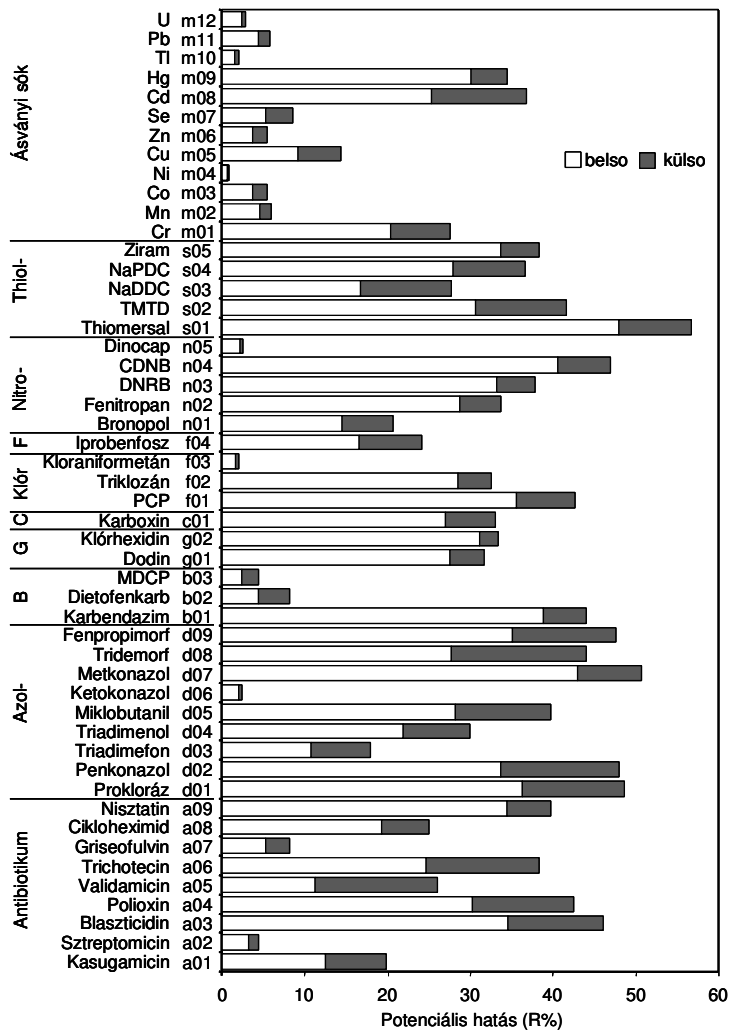
Táblázat 4: Antibiotikumok és ásványi sók potenciális<sup>a</sup> *Trichoderma* gátló hatása<sup>b</sup>

Vegyület	<i>Trichoderma</i> genus szekcióira gyakorolt hatás <sup>b</sup>									
	Hb	Hk	Lb	Lk	Pb	Pk	Tb	Tk	Nb	Nk
Kasugamycin	22,7	39,5	15,7	23,2	11,7	18,7	9,9	17,5	0	0
Streptomycin	22,7	25,0	3,0	4,8	0	0	6,5	9,6	0	0
Blasticidin	36,2	40,0	34,6	46,1	34,0	46,2	36,6	47,8	24,8	38,5
Polyoxin AL	32,1	45,7	28,2	43,7	33,2	45,2	26,6	36,0	40,5	42,9
Validamycin	22,7	32,0	15,1	27,2	9,4	26,1	9,7	20,1	0	51,7

Trichotecin	24,9	41,8	27,2	39,2	24,1	40,0	22,2	32,4	23,9	49,7
Griseofulvin	22,7	34,0	7,6	10,9	5,9	9,7	0	0	0	0
Cycloheximid	33,8	41,5	28,1	37,4	13,9	15,8	18,5	26,0	0	0
Nystatin	35,0	43,6	33,7	39,7	34,5	39,8	35,5	39,6	33,6	34,7
Cr	0,0	0,0	13,4	19,2	23,1	31,1	27,4	35,3	23,9	34,0
Mn	22,7	22,8	7,9	11,5	1,9	2,6	3,2	3,3	0	0
Co	0	0	5,0	8,3	1,9	2,6	6,8	8,6	0	0
Ni	0	0	0	0	1,9	2,3	0	0	0	0
Cu	22,7	38,5	13,0	20,8	7,9	11,7	6,5	9,1	0	0
Zn	0	0	7,6	11,0	1,9	2,7	3,2	4,4	0	0
Se	0	0	2,5	3,4	3,8	8,6	9,7	11,5	22,7	45,8
Cd	22,7	44,3	22,8	35,5	26,1	37,0	27,2	36,7	32,6	41,5
Hg	28,8	30,3	28,2	32,4	31,6	35,0	29,7	35,6	37,4	40,6
Tl	0	0	0	0	1,9	2,4	3,2	4,4	0	0
Pb	0	0	5,0	7,1	1,9	2,4	9,7	11,4	0	0
U	0	0	2,5	3,1	0	0	7,0	8,2	0	0

<sup>a</sup>A gátlási zónák probit értékeibe konvertált területéből Potency Mapping eljárással számított értékek. <sup>b</sup>Az egyes szekcióba tartozó törzsek elleni potenciális hatás: H=Hypocrea, L=Longibrachiatum, P=Pachybasium, N=nem besorolható, b= belső zóna (konídiumcsírázás gátlása), k= külső zóna (konidiogenezis gátlása).

A vegyületek hatása szekciónként kismértékben különbözött. Az ásványi sók közül a Hg és Cd sók bizonyultak a legmérgezőbbnek, és hatásuk szelektivitása csekély volt (4. táblázat). A Mn, Zn és Cu sók a Pachybasium és a Tri-



3. ábra: *Trichoderma* törzsek növekedését gátló zónák aránya

A hisztogram a 30 törzs elleni potenciális hatást mutatja be. A szintetikus vegyületcsoportok: Azol-, B=benzimidazol-, G=guanidin- C=karboxamid származékok, Klór=halogénezett, Nitro- és Tiol-csoporttal szubsztitutiált vegyületek.

Táblázat 5: Agromikrobicidok és szennyező anyagok potenciális<sup>a</sup> *Trichoderma* gátló hatása

Vegyület	<i>Trichoderma</i> genus szekcióira gyakorolt hatás <sup>b</sup>									
	Hb	Hk	Lb	Lk	Pb	Pk	Tb	Tk	Nb	Nk
Prochloraz	29,8	58,8	40,6	50,8	36,5	48,5	31,6	44,7	37,9	47,6
Penconazole	32,6	48,2	39,4	49,3	33,9	50,4	26,1	40,9	35,4	58,0
Triadimefon	0	0	18,7	30,0	8,7	16,3	7,3	10,2	0	0
Triadimenol	22,7	41,4	35,6	43,5	18,1	25,7	14,2	22,6	0	0
Myclobutanil	30,9	44,8	37,4	45,2	26,3	37,2	20,1	37,2	24,9	33,0
Ketoconazole	0	0	0	0	5,3	5,9	0	0	0	0
Metconazole	41,8	55,3	43,4	51,5	43,2	49,8	42,7	51,3	41,6	45,7
Tridemorph	22,7	25,9	28,5	46,5	27,7	43,4	27,6	44,7	27,4	43,0
Fenpropimorf	30,3	58,4	33,9	39,5	37,6	55,5	33,0	43,5	38,3	43,9
Carbendazim	43,5	48,6	41,4	46,5	36,2	41,2	40,2	45,8	36,3	40,7
Diethofencarb	0	0	5,0	8,9	3,8	7,1	6,5	11,6	0	0
MDCP	0	0	2,7	4,1	0,0	2,9	3,4	4,8	23,9	28,4
Dodine	26,2	29,7	26,8	32,2	28,3	30,5	27,7	32,3	29,8	37,2
Klórhexidin	32,6	36,7	35,0	35,5	29,9	32,6	29,2	32,3	24,8	29,0
Carboxin	23,9	36,0	32,4	38,4	21,6	27,9	29,2	34,4	33,4	36,8
PCP	35,4	38,0	37,4	41,4	34,8	44,5	34,9	40,8	34,6	50,8
Irgasan	29,0	30,3	30,0	32,9	27,6	32,2	28,6	32,6	27,4	36,7
Imugan	0	0	0	0	4,5	5,1	0	0	0	0
Iprobenfos	24,9	39,5	23,4	32,5	10,0	15,5	20,6	29,5	0	0
Bronopol	0	0	17,5	29,1	9,6	11,7	19,2	24,9	30,3	47,7
Fenitropan	29,8	41,5	30,4	35,2	26,5	31,6	30,8	35,0	24,8	30,3
DNRB	24,9	34,7	31,9	38,8	33,5	37,6	36,3	38,2	32,9	35,8
CDNB	35,4	45,2	40,9	47,9	40,7	45,9	41,1	48,8	39,5	43,6
Dinocap	0	0	2,7	2,8	3,8	4,3	0	0	0	0
Thiomersal	47,3	49,7	48,6	55,6	49,3	59,0	44,8	55,2	49,2	56,6
TMTD	23,9	40,3	28,6	42,7	32,0	40,4	31,7	43,1	36,7	37,8
NaDDC	22,7	38,7	26,3	37,6	10,7	21,5	13,4	23,3	23,9	36,0
NaPDC	23,9	37,9	29,6	38,4	27,3	36,1	28,2	36,0	25,4	31,2
Ziram	30,9	40,7	39,1	41,2	30,1	36,1	34,5	39,0	27,4	34,6

<sup>a</sup>A gátlási zónák probit értékeibe konvertált területéből Potency Mapping eljárással számított értékek. <sup>b</sup>Az egyes szekcióba tartozó törzsek elleni potenciális hatás: H=Hypocrea, L=Longibrachiatum, P=Pachybasium, N=nem besorolható, .b= belső zóna (konidiumcsírázás gátlása), k= külső zóna (konidiogenezis gátlása).

A *Trichoderma* szekció törzseit kevésbé gátolták, mint a *Longibrachiatum* szekció tagjait, míg a Cr, Tl és Se sókat utóbbiak jobban tolerálták. Az antibiotikumok közül a *Trichoderma* szekció törzseit a griseofulvin nem gátolta. Figyelemre méltó azonban a mikrogombák izolálására szolgáló szelektív táptalajokban gyakran használt sztreptomycin *Trichoderma* gátló hatása. A vegyületek hatása és szerkezete között nem sikerült összefüggést kimutatni.

**Következtetések**

A *Trichoderma* törzsek néhány esetben toleránsnak bizonyultak egyes kereskedelmi forgalomba hozott hatóanyagok iránt, azonban ez tulajdonság nem terjedt ki a rokonvegyületekre, tehát nem állt fenn a keresztrezisztencia jelensége. Ebből arra következtethetünk, hogy a *Trichoderma* alapú eubiotikus készítmények beilleszthetőségét egy adott növényvédelmi technológiai rendszerbe egyedi alapon meg kell vizsgálni.



**Referenciák**

- [1] Oros Gy. (2002): Fitofarmakológia, egy új tudományág születése. Lehetőségek és szükségességek a növényvédelemben. *A Magyar Tudományos Akadémia Szabolcs-Szatmár-Bereg megyei Tudományos Testülete 10 éves jubileumi Tudományos Ülésének Előadásai*, 2002. szeptember 20-29. Nyíregyháza, 2. Kötet pp. 410-415.
- [2] Herrera-Estrella A. and Chet I. (2004): The biological control agent *Trichoderma* - from fundamentals to applications. In: *Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications* (Ed. Arora D. K.), Marcel Dekker, New York, pp. 147–156.
- [3] Papavizas G. C. (1985): *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 23:23-54
- [4] Naár Z. (2007): ): Ecological evaluation of factors influencing the soil colonization of antagonistic *Trichoderma* species, PhD Thesis, Hungarian Academy of Sciences
- [5] Vajna L. and Oros G. (1993): The optimum phenotypical characters of *Trichoderma* strains proposed for controlling of *Cytospora* cancer of fruit trees. *German Phytomedical Society Series*, 4:297-304.
- [6] Naár Z. and Kecskés M. (1998): Antagonism of *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma viride* strains against *Sclerotinia minor* as influenced by mancozeb, benomyl and vinclozolin. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 33:132-130.
- [7] Naár Z. and Dobos A. (2006): Redundancy analysis of the influence of metal content and other edaphic parameters on the coexistence of *Trichoderma* species. *Applied Ecology and Environmental Research*, 4(2):113-123
- [8] Hewitt W. and Vincent S. (1989): *Theory and Application of Microbiological Assay*, Academic Press, London
- [9] Ubrizsy G. és Vörös J. (1968): *Mezőgazdasági mikológia*, Akadémiai Kiadó, Budapest, pp.
- [10] Sváb, J. (1979): *Többváltozós módszerek a biometriában*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- [11] Lewi P.J. (1976): Spectral mapping, a technique for classifying biological activity profiles of chemical compounds. *Anzneimittel-Forschung*, 26:1295-1300.